

UJI EFEK ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN INDUKSI NYERI ASAM ASETAT

Submitted : 1 Oktober 2016

Edited : 18 November 2016

Accepted : 30 November 2016

Triswanto Sentat, Susiyanto Pangestu

Akademi Farmasi Samarinda

Email : acuan3s@gmail.com

ABSTRACT

Kersen leaf (Muntingia calabura L.) contains tannins, flavonoids and polyphenol compounds allegedly have analgesic effect. The objective was to determine the analgesic effect of ethanol extract of kersen leaves and to determine the most effective analgesic dose. This study was an experimental research. Leaves were extracted with ethanol 70% and the analgesic effect test was divided into 5 groups: negative control treatment (distilled water), positive control (mefenamic acid 2.6mg/kg), kersen leaf ethanol extract first dose (100mg/kg), second dose (200mg/kg) and third dose (400mg/kg). Giving treatments by oral, after 30 minutes, the mice were given a pain inductor with 0.5% acetic acid by intra peritoneal administration. Analgesic power was calculated by counting the number of writhing in mice for 1 hour. The results showed that the ethanol extract of cherry leaf has analgesic effect. From the calculation of the first dose analgesic power (42.9%), second dose (59.4%) and the third dose 69.9%. Statistical test results kruskal wallis value of $p=0.011$ ($p<0.05$) showed a significant difference between all analgesic treatment groups. The conclusion of this study is all of the ethanol extract had analgesic effects on male white mice, whereas a dose of 400mg/kg is the most effective analgesic dose.

Keywords : *Muntingia calabura L., Analgesic, Mus musculus, Acetic Acid Induced, number of Writhing*

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dibandingkan obat modern, hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern. Efek samping obat tradisional relatif kecil jika digunakan secara tepat⁽¹⁾.

Secara empiris daun kersen merupakan tanaman obat tradisional yang telah lama digunakan masyarakat untuk berbagai tujuan pengobatan antara lain sebagai obat batuk, penyakit kuning, dan asam urat. Menurut Danugroho dan Widyaningrum, ekstrak infusa daun kersen

memiliki aktivitas sebagai analgesik, setelah diujikan pada mencit jantan Ras Swiss⁽²⁾. Daun kersen mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid dan tannin⁽³⁾. Penggunaan pelarut etanol 70% pada proses ekstraksi di penelitian ini diharapkan dapat menarik kandungan metabolit sekunder yang lebih besar dibandingkan dengan infusa daun kersen yang menggunakan pelarut air.

Oleh karena itu, berdasarkan uraian tersebut peneliti ingin mengetahui efek analgesik ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada mencit putih jantan dengan induksi nyeri asam asetat

serta untuk mengetahui dosis ekstrak paling efektif yang dapat digunakan sebagai agen analgesik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilaksanakan di Laboratorium Terpadu III Akademi Farmasi Samarinda. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kersen. Daun kersen diekstraksi dengan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi. Objek penelitian yaitu 15 ekor mencit putih jantan (*mus musculus*) yang dipilih secara *purposive sampling*⁽⁴⁾. Uji efek analgesik yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok perlakuan kontrol negatif (aquadest), kontrol positif (asam mefenamat 65 mg/kgBB), ekstrak etanol daun kersen dosis I (100 mg/kgBB), dosis II (200 mg/kgBB) dan dosis III (400 mg/kgBB).

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu daun kersen, asam mefenamat, asam asetat 0,5%, Na-CMC 0,5%, aquadest, etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendrof, FeCl₃ 1%, larutan gelatin, dan amil alkohol.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) berjenis kelamin jantan dengan berat badan antara 20-30 gram, berumur 2-3 bulan dalam kondisi sehat.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan adalah alat maserasi (*Kika Labortechnik*®), alat-alat gelas, blender, kandang mencit, mortir, stamper, sonde oral, spuit injeksi 1 ml, timbangan analitik dan *stop watch*, toples kaca, cawan porselin, penangas air, *corong buchner* dan *rotary evaporator*.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Tanaman kersen yang akan digunakan dalam penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Jurusan Biologi Universitas Mulawarman Samarinda. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran jenis tumbuhan kersen.

Pengumpulan dan Pengolahan Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Simplisia dipilih dari daun kersen yang tua dan segar, kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir. Pengeringan dilakukan dengan di angin-anginkan sampai kering di udara terbuka dan ditutupi dengan kain hitam tipis agar terlindung dari cahaya matahari langsung. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan blender untuk memperkecil luas permukaan simplisia sehingga luas permukaan kontak dengan pelarut penyari lebih besar. Permukaan daun kersen berbulu menyebabkan partikel-partikel serbuk daun kersen dapat saling berikatan dan menggumpal sehingga proses pengayakan tidak dapat dilakukan.

Ekstraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Proses pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Serbuk kering daun kersen ditimbang sebanyak 200 gram dimasukkan ke dalam wadah kaca lalu ditambahkan dengan 2,8 liter pelarut etanol 70%, direndam selama 5 jam dengan diaduk dengan menggunakan maserator. Hasil ekstraksi disaring menggunakan *corong buchner*, kemudian dilakukan remaserasi dengan 2,5 liter etanol 70% dan dilakukan pengadukan kembali selama 3 jam. Dilakukan penyaringan kembali, kemudian

hasil filtrat maserasi pertama disatukan dengan hasil filtrat remaserasi. Hasil filtrat yang diperoleh dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40°C, ekstrak cair yang diperoleh diuapkan menggunakan alat penangas air. Setelah dipekatkan dengan cara diuapkan kemudian diperoleh ekstrak kental.

Identifikasi Fitokimia Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Identifikasi senyawa kimia dilakukan pada ekstrak daun kersen dengan prosedur sesuai Materi Medika Indonesia, sebagai berikut⁽⁵⁾:

Uji Alkaloid

Sepuluh tetes ekstrak etanol daun kersen dimasukkan ke dalam tabung ditambahkan 1ml HCl 2 N lalu ditambahkan 9 ml air suling, dipanaskan selama 2 menit setelah dipanaskan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga didapat ekstrak dari daun kersen. Filtrat yang didapat selanjutnya digunakan untuk percobaan berikut : Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer menghasilkan endapan kuning/putih. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bourchardat menghasilkan endapan coklat-hitam. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf menghasilkan endapan merah bata. Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan di atas.

Uji Tanin

Sepuluh tetes ekstrak etanol daun kersen dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 sampai 2 tetes larutan FeCl₃ 1%. Bila terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman memberikan indikasi adanya tannin atau sepuluh tetes ekstrak etanol daun kersen dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 1 sampai 2 tetes larutan gelatin.

Bila menimbulkan endapan memberikan indikasi adanya tanin.

Uji Flavonoid

Sepuluh tetes ekstrak etanol daun kersen dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml HCl pekat 0,1 gram serbuk Mg dan 2 ml amil alkohol kemudian dikocok. Bila terbentuk warna merah, jingga, atau kuning indikasi adanya flavonoid.

Uji Saponin

Sepuluh tetes ekstrak etanol daun kersen dimasukkan kedalam tabung ditambahkan 10 ml air panas dan dikocok selama 15 menit lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes HCl 2 N. Jika terbentuk busa permanen memberikan indikasi adanya saponin.

Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Lima belas ekor mencit putih jantan dipuaskan terlebih dahulu selama 18 jam dan tetap diberi air minum. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing 3 ekor mencit.. Kelompok kontrol negatif diberi aquadest dalam suspensi Na-CMC. Kelompok kontrol positif diberi suspensi asam mefenamat 65 mg/kgBB. Kelompok perlakuan pada mencit putih jantan masing-masing diberi suspensi ekstrak etanol daun kersen dengan dosis 100, 200 dan 400mg/kgBB. Tiga puluh menit kemudian seluruh kelompok hewan yang telah mendapatkan perlakuan diberi induktor nyeri secara intra peritoneal menggunakan asam asetat 0,5% berdasarkan dosis yang telah ditetapkan. Geliat mencit yang terjadi diamati selama 1 jam.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji efek analgesik dianalisis secara statistika menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov* dengan program SPSS (*Statistical Product Solution*

Service) dan dilanjutkan dengan uji *Kruskall Wallis*.

Perhitungan Persentase Daya Analgesik :

$$\% \text{ Daya Analgesik} = \left(100 - \frac{\text{Jumlah Kumulatif Kelompok Perlakuan}}{\text{Jumlah Kumulatif Kelompok Kontrol}} \times 100\% \right)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tumbuhan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran dari sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dari genus *Muntingia* dan famili *Elaeocarpaceae*.

Daun segar yang digunakan sebanyak 3570 gram kemudian dilakukan pengeringan dengan cara di angin-anginkan dan didapatkan simplisia kering sebesar 1000 gram, sehingga didapatkan susut pengeringan 28,02%. Pengayakan tidak dapat dilakukan karena permukaan daun berbulu sehingga daun kersen setelah dijadikan serbuk dapat saling mengikat.

Proses ekstraksi dengan jumlah simplisia sebanyak 200 g dan pelarut etanol 70% sebanyak 2,8 liter lalu dilakukan maserasi menggunakan alat maserator selama 5 jam. Kemudian dilakukan

penyaringan menggunakan alat *corong buchner*, Setelah didapatkan filtrat, kemudian dilakukan remaserasi kembali terhadap residu dengan menggunakan 2,5 liter etanol 70% dan dilakukan pengadukan kembali selama 3 jam. Dilakukan penyaringan kembali, kemudian hasil filtrat maserasi pertama disatukan dengan hasil filtrat remaserasi kemudian filtrat yang diperoleh dikentalkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 30-40 °C suhu rendah digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung pada ekstrak. Setelah didapatkan ekstrak yang pekat dilanjutkan dengan penangasan ekstrak sampai menjadi ekstrak kental, ekstrak kental yang diperoleh yaitu sebesar 43,57 g, sehingga rendemen yang diperoleh dari 200 g simplisia adalah 21,78%.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen

Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder yang ada pada ekstrak etanol daun kersen, dapat dilihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

| Uji | Hasil | Keterangan |
|------------------|--|------------|
| Alkaloid | 1. Bening kekuningan (Uji Mayer) | (-) |
| | 2. Bening kecoklatan (Uji Bouchardat) | (-) |
| | 3. Endapan merah kecoklatan (Uji Dragendorf) | (+) |
| Flavonoid | Lapisan orange pada amil alkohol | (+) |
| Tannin | Warna hijau kehitaman | (+) |
| Saponin | Terdapat busa permanen pada lapisan atas | (+) |

Hasil uji alkaloid pada ekstrak daun kersen dinyatakan negatif karena dari 3 uji yang dilakukan untuk golongan alkaloid, 2 pengujian (uji Mayer dan Bouchardat) dinyatakan negatif. Hasil positif terdapat pada flavonoid, tanin dan saponin dari ekstrak etanol daun kersen dipengaruhi oleh kelarutan golongan metabolit sekunder tersebut pada pelarut selama ekstraksi. Ketiga metabolit sekunder tersebut larut dalam pelarut polar. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% sehingga metabolit sekunder tersebut tersari dalam ekstrak dan teridentifikasi saat skrining fitokimia. Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder pada penelitian ini mempunyai hasil yang sama dengan pustaka⁽³⁾.

Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen

Pada penelitian uji efek analgesik ekstrak etanol daun kersen ini menggunakan penginduksi asam asetat, yang disebut dengan asam etanoat, atau asam cuka yaitu senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan pengaroma pada makanan. Pemilihan asam asetat sebagai induksi nyeri, karena nyeri yang dihasilkan berasal dari reaksi inflamasi akut lokal, inflamasi terjadi karena peningkatan protein pada cairan peritoneal setelah terjadi iritasi oleh asam asetat⁽⁶⁾.

Asam mefenamat digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini pada uji analgesia asam mefenamat memiliki khasiat anti radang, antipiretik dan analgesic, dan merupakan satu-satunya fenamat yang menunjukkan kerja pusat dan juga kerja perifer. Mekanisme kerja asam mefenamat adalah dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase berbeda dengan obat-obat golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) yang lain⁽⁷⁾⁽⁸⁾.

Pengamatan geliat pada hewan uji dilakukan selama 1 jam setelah hewan uji disuntikkan asam asetat 0,5% secara intraperitoneal. Presentase daya analgesik dihitung sesuai data jumlah geliat mencit selama 1 jam dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif. Geliat pada mencit diamati sebagai torsi pada satu sisi, menarik kaki ke belakang, penarikan kembali abdomen, kejang tetani dengan membengkokkan kepala dan kaki ke belakang serta adanya penurunan aktivitas motorik. Pada tabel 2 berikut dapat dilihat hasil rata-rata jumlah geliat mencit selama 1 jam dan hasil perhitungan persentase daya analgesik ini data dosis I (100 mg/kgBB), dosis II (200 mg/kgBB) dan dosis III (400 mg/kgBB).

Tabel 2. Rataan Jumlah Geliat Mencit dan % Daya Analgesik

| | Kelompok Perlakuan (jumlah geliat) | | | | |
|-------------------------|------------------------------------|------------|-----------|--------|------------|
| | I | II | III | IV | V |
| Rataan±SD | 155,3 ± 2,9 | 52,6 ± 4,5 | 88,6 ± 11 | 63 ± 3 | 46,6 ± 7,5 |
| % Daya Analgesik | - | 66,1% | 42,9% | 59,4% | 69,9% |

Keterangan Tabel Kelompok Perlakuan :

- I : Kontrol negatif (Aquadest)
- II : Kontrol positif (Asam mefenamat 65 mg/kgBB)
- III : Ekstrak etanol daun kersen Dosis I (100 mg/kgBB)
- IV : Ekstrak etanol daun kersen Dosis II (200 mg/kgBB)
- V : Ekstrak etanol daun kersen Dosis III (400 mg/kgBB)

Data dari tabel 2 menunjukkan data rata-rata jumlah geliat mencit setiap kelompok perlakuan, dan perhitungan persen daya analgesik. Kelompok III yang menggunakan ekstrak etanol daun kersen dosis I (100mg/kgBB) memberikan daya analgesik yang paling lemah yaitu 42,9% daya analgesik, sedangkan kelompok V yang menggunakan ekstrak etanol daun kersen dosis III(400mg/kgBB) memberikan daya analgesik paling kuat dari semua perlakuan yaitu 69,9% daya analgesik. Kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun kersen berbanding lurus dengan daya analgesik. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar kemampuan dalam mengurangi nyeri. Berdasarkan penelitian Dewi (2013), ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 14,4873 μ g/ml, salah satu senyawa yang bersifat antioksidan dalam daun kersen adalah flavonoid⁽⁹⁾. Kemampuan daun kersen dalam mengatasi nyeri dapat dikarenakan adanya kandungan flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat kerja enzim siklooksigenase, dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga mengurangi rasa nyeri, selain itu flavonoid juga menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan⁽¹⁰⁾.

Hasil uji statistik *kolmogorov-Smirnov* didapatkan nilai $p=0,158$ ($p>0,05$) yang berarti bahwa data berdistribusi normal, namun dari uji analisis varian didapatkan nilai $p=0.002$ ($p<0.05$) yang berarti data jumlah geliat antar kelompok perlakuan tidak homogen ($0,02 < 0,05$). Sehingga uji statistik dilanjutkan dengan uji *Kruskall Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan bermakna beberapa sampel dari 5 kelompok perlakuan dan didapatkan hasil nilai $p=0,011$ ($p<0,05$)

yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol positif, dosis I, dosis II, dosis III terhadap kontrol negatif. Ekstrak etanol dosis III memiliki memberikan daya analgesik paling efektif dengan persentase 69,9% karena memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan yang lain

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun kersen memiliki efek daya analgesik pada mencit putih jantan dengan presentase 42,9% pada dosis I (100 mg/kgBB), 59,4% pada dosis II (200 mg/kgBB), dan 69,9% pada dosis III (400 mg/kgBB). Dosis yang paling efektif sebagai analgesik adalah dosis III (400 mg/kgBB).

DAFTAR PUSTAKA

1. Mursito, B., 2001. Ramuan Tradisional Untuk Kesehatan Anak. Jakarta: Penebar Swadaya.
2. Danugroho, E.S., dan Widyaningrum, N.R. 2014. Aktivitas Analgesik Infusa Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Pada Mencit Jantan Ras Swiss. Indonesian Journal On Medical Science. 1. (2): 59. Hal 56-57.
3. Zakaria, Z. A. 2007. Free Radical Scavenging Activity of Some Plants Available in Malaysia. Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics. 6: Hal 87-91.
4. Wahyuningsih. S. S dan Linda. W. 2015. Uji Efek Analgesik Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Pada Mencit Jantan Galur Swiss. Papua: Universitas Cendrawasih. Hal 66.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. Materia Medika Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Depkes RI.
6. Tomisawa S. dan Sato NL. 1973. Preventive and Curative Effects of

- Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on Experimental Peritoneal Inflammation in Mice. *Japan Journal Pharmacol.* 23, 453-458
7. Marlyne. R. 2012. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Bunga Mawar (*Rosa chinensis* Jacq). Pada Mencit Yang Diinduksi Asam Asetat. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia. Hal 22.
 8. Goodman, A., dan Gilman, H (2007). Dasar Farmakologi Terapi. Edisi 10. Volume 1. Jakarta: EGC. Hal. 687.
 9. Gunawan S.G., dan Nafrialdi, R.S., 2007, Farmakologi dan Terapi, Edisi 5, Balai Penerbit FKUI, Jakarta. Hal.239-240.
 10. Dewi, E.T. 2013 “Fraksinasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Secara Kolom Kromatografi”. Skripsi. Surabaya: Universitas katolik Widya Mandala. Hal i.