

UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN DARI DAUN JERUK SIAM (*Citrus nobilis* Lour) PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE *TAIL FLICK*.

ANALGETIC ACTIVITY TEST OF ETHANOL, ETHYL ACETATE AND N-HEXANE EXTRACTS FROM LEAVES OF SIAMESE CITRUS (*Citrus nobilis* Lour) ON WISTAR MALE WHITE RATS USING THE *TAIL FLICK* METHOD

Zena Wardha¹, Slamet Slamet², Siti Rofiqoh³

^{1,2,3}Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan (UMPP)

Email : Zenawardha@gmail.com

Submitte :

Reviewed:

Accepted:

Abstrak

Nyeri adalah rasa yang tidak menyenangkan, serta umumnya karena terdapat perlukaan dalam tubuh, serta nyeri disebut juga racun dalam tubuh, dikarenakan terdapat kerusakan jaringan ataupun saraf yang dapat mengeluarkan berbagai mediator. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas analgetik ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari daun jeruk siam (*Citrus nobilis* Lour) pada tikus putih jantan galur wistar dengan metode *tail flick*. Daun Jeruk Siam diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksan. Dua puluh lima tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri dari kelompok I kontrol positif (asam mefenamat), kelompok II kontrol negatif (Na-CMC), kelompok III, IV dan V diberikan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari daun jeruk siam pada dosis 100, 300 dan 500 mg. Pengukuran metode *tail flick* dengan cara mengukur waktu reaksi interval antara 15 sampai 120 menit. Prinsip metode ini merupakan radiasi thermal pada ekor hewan uji yang dapat menimbulkan penarikan ekor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan Daun Jeruk Siam dengan dosis 100, 300 dan 500 mg/Kg BB memiliki aktivitas analgetik dengan metode *tail flick*. Dosis 500 mg/Kg BB memiliki aktivitas analgetik yang paling efektif dengan menggunakan metode *tail flick* serta potensi ekstrak yang paling efektif yaitu ekstrak etanol Daun Jeruk Siam

Kata kunci : Nyeri, ekstrak etanol, etil asetat dan n- heksan daun jeruk siam, metode *tail flick*.

ABSTRACT

Pain is an inconvenience feeling. It is generally caused by an injury in the body. The pain is also called poison because there is tissue or nerve damage that can release various mediators. This study aimed to determine the analgesic activity of ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts from siam lime leaves (*Citrus nobilis* Lour) in male white Wistar rats using the tail flick method. The leaves of chayote were extracted using maceration method using ethanol 96%, ethyl acetate and n-hexane as solvents. Twenthy five male Wistar rats were divided into five groups consisting of group I positive control (mefenamic acid), group II negative control (Na-CMC), groups III, IV and V were given ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts from siam lime leaves at doses of 100, 300 and 500 mg. Measurement of the tail flick method used measuring reaction time intervals of 15 to 120 minutes. The principle of this method was thermal radiation on the tail of the test animal which can cause tail withdrawal. The results showed that the ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts of Siam Orange Leaves with doses of 100, 300 and 500 mg /Kg BW had analgesic activity with the tail flick method. The dose of 500 mg / Kg BW had the most effective analgesic activity using the tail flick method and the most effective potential extract was the ethanol extract of Siam Orange Leaves.

Keywords: Pain, ethanol extract, ethyl acetate and n-hexane of lime leaves, tail flick method

Pendahuluan

Nyeri adalah rasa yang tidak menyenangkan, serta umumnya karena terdapat perlukaan dalam tubuh, serta nyeri disebut juga racun dalam tubuh, dikarenakan terdapat kerusakan jaringan ataupun saraf yang dapat mengeluarkan berbagai mediator seperti: H^+ , K^+ , ATP, Prostaglandin, bradikinin, serotonin, substansi P, histamine serta sitokain. Mediator kimia yang dapat menyebabkan rasa tidak nyaman serta mediator – mediator ini dengan sebagai mediator nyeri (Suwondo, B.S., Lucas, M., & Sudadi, 2017). Angka prevalensi nyeri yang terjadi pada dunia ini dikatakan cukup tinggi. Hasil penelitian menyatakan bahwa populasi nyeri di Indonesia berkisar antara 23,6% sampai 31,3% dengan jumlah rata-rata mengalami nyeri. Secara keseluruhan kejadian kasus nyeri telah mencapai 40% pada manusia dewasa dengan waktu sehari serta 89% merasakan reaksi nyeri minimal sebulan sekali (Agrensa, 2013). Untuk dapat mengurangi rasa nyeri yang muncul, maka pasien biasanya menggunakan obat-obat kimia yang memiliki sifat dapat meringankan rasa nyeri atau analgetik.

Obat analgetik merupakan obat yang dapat digunakan untuk mengurangi rasa nyeri tanpa perlu menghilangkan kesadaran. Nyeri perlu dihilangkan apabila telah mengganggu aktivitas tubuh. Terapi kimia yang biasanya digunakan untuk mengobati rasa nyeri berupa *derivate antranilat* yaitu asam mefenamat. Namun pengobatan kimia turunan atau *derivate antranilat* tersebut sering menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan berupa gangguan lambung dan usus, kerusakan pada darah, hati, ginjal serta dapat menimbulkan reaksi alergi. (WHO, 2012). Efek yang akan timbul dari penggunaan obat analgetik dalam jangka panjang menjadi dorongan bagi peneliti untuk mengembangkan terkait pengobatan analgetik alternatif dengan efektivitas lebih baik dan efek samping yang lebih rendah. Penelitian dengan menggunakan bahan alam telah banyak diteliti dengan mengembangkan analgetika dengan aktivitas yang sama serta efek samping yang lebih rendah.

Saat ini minat pada masyarakat terkait dalam pemanfaatan kembali tumbuh-tumbuhan sebagai obat semakin meningkat. Berbagai macam tumbuhan digunakan pada masyarakat untuk sumber bahan obat alam berupa pengobatan tradisional. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat tradisional berupa tanaman Jeruk Siam. Secara empiris tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan analgetik berupa daun Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour), namun masih belum banyak masyarakat yang dapat memanfaatkan disebabkan belum ada informasi ilmiah serta masih kurangnya bukti yang menunjang dari khasiat tanaman tersebut. Dalam hal ini belum ditemukan hasil penelitian terkait senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman Jeruk Siam, namun secara umum kandungan senyawa pada daun Jeruk Siam terdiri atas flavonoid, saponin dan terpenoid (Adrianto et al; 2014). Senyawa yang telah diketahui memiliki aktivitas analgetik adalah senyawa flavonoid yaitu hesperidine yang terkandung dalam tanaman genus citrus (Vabeiryurcilai, et al, 2015). Mekanisme kerja flavonoid berupa dapat menghambat kinerja enzim siklooksigenase yang mampu menurunkan sintesis prostaglandin sehingga dapat mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah serta aliran darah lokal sehingga dapat terjadi migrasi sel radang pada bagian radang akan menurun (Pandey et al. 2013). Efek analgetik dapat ditentukan dengan jumlah zat aktif itu sendiri dan kelarutan dari zat aktif itu yang terkandung dalam tanaman ini sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Maka dalam penelitian ini menggunakan tiga pelarut dengan sifat kepolaran yang berbeda yaitu etanol, etil asetat dan n-heksan. Beberapa penelitian menunjukkan terkait penggunaan pelarut yang berbeda dapat memberikan hasil yang berbeda terutama untuk efek sebagai analgetik (Lukmandaru, Vembrianto and Gazidy, 2012).

Salah satu metode uji analgetik berupa metode *tail flick*, parameter yang digunakan dalam pengujian ini berupa waktu reaksi untuk memungkinkan munculnya rasa nyeri pada ekor tikus. Pada pengujian dengan metode ini hewan coba diberikan induksi nyeri berupa rangsangan panas pada suhu sekitar $50 \pm 2^\circ C$. Suhu diatas $48^\circ C$ dapat mengakibatkan rangsangan kuat pada reseptor nyeri sehingga akan menghasilkan sensasi nyeri yang tinggi (Nair dan Pate, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti ingin mengetahui aktivitas analgetik ekstrak etanol, etil asetat dan n- heksan daun Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour) terhadap tikus putih jantan galur Wistar dengan metode *tail flick*.

Metodelogi Penelitian

Alat dan bahan

Alat :Timbangan analitik (OHAUS), blender (ISOLAB), cawan penguap, alat rotaryevaporator (HEIDOLPH), alumunium foil, Erlenmeyer (PYREX), beaker gelas (PYREX), gelas ukur (PYREX), corong pisah (PYREX), oven, mikro pipet (LAMBDA Plus), tabung reaksi, moisture balance (MB 25), Analgesiometer (*Tail flick*), kain hitam, kain flannel, neraca tikus, sonde dan bak penampung tikus.

Bahan :. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan daun Jeruk Siam, Tikus putih jantan galur Wistar, asam asetat, CMC–Na, asam mefenamat, aquadest, Mg, alcohol, asam klorida pekat, FeCl₃, HCL 2N, kloroform, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, H₂SO₄ dan asam asetat anhidrat

Jalannya Penelitian

Sebelum hewan uji diberikan larutan uji, hewan uji terlebih dahulu dihitung waktu awal (t_0) kemudian hewan uji berupa tikus putih diberikan larutan uji sesuai kelompoknya. Selanjutnya tikus tersebut didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya setiap kelompok hewan uji dilakukan pengujian aktivitas analgetik menggunakan alat *analgesy-meter* kemudian alat tersebut dinyalakan, ekor hewan uji ini diletakkan dibawah *phototransistor* sampai memberikan respon dengan mengibaskan ekor tikus. Selanjutnya dicatat waktu tikus putih ini mulai menarik ekornya untuk setiap perlakuan dalam kelompok. Pengujian ini dilakukan pada menit ke– 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 dan 120. Perlakuan ini dapat diulangi untuk ekstrak daun jeruk siam pada pelarut lainnya yaitu etil asetat dan n- heksan dengan interval sekitar 1 minggu dengan jenis tikus putih yang sama.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah pengujian ini berupa waktu reaksi (detik) sehingga akan diperoleh harga rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) waktu reaksi setiap kelompok pengujian baik kontrol positif, negatif maupun kelompok uji sampel dengan variasi dosis

Setelah didapat data kemudian dihitung dan dicari % hambatan nyeri dengan

$$\% \text{ PHN} = \frac{T-K}{C-K} \times 100\%$$

Keterangan :

T : Waktu respon setelah diberi suspensi ekstrak daun jeruk siam

K: Waktu respon kelompok kontrol negatif

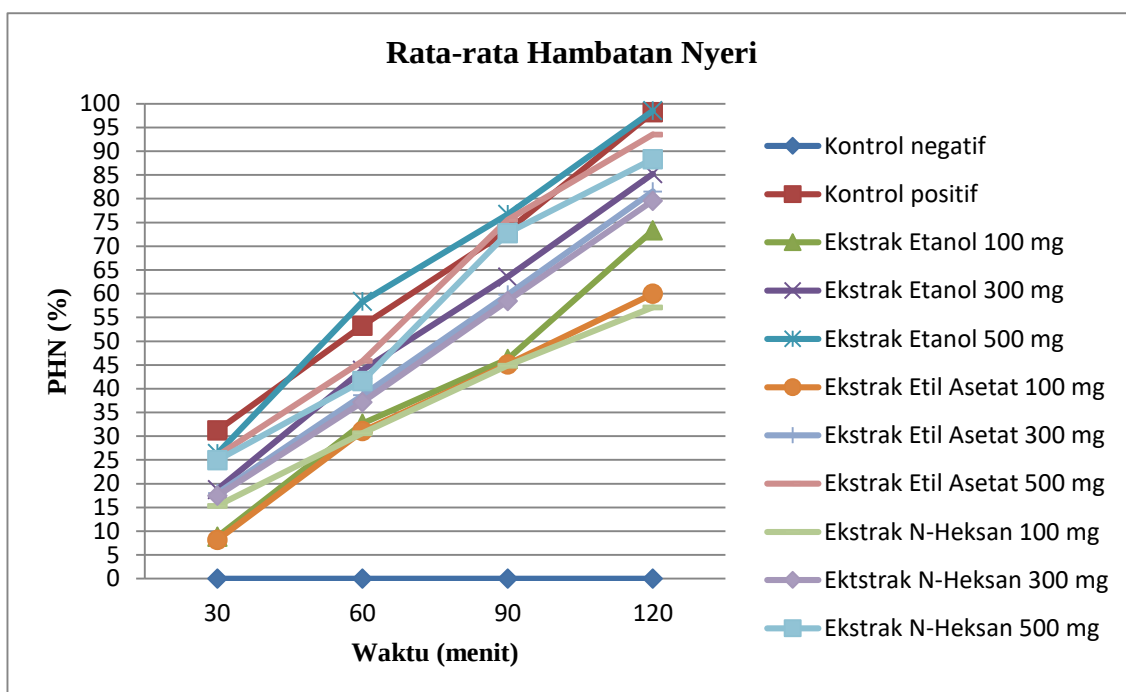
C: Waktu *cut-off* (10 detik)

Data yang diperoleh diolah dan di analisis dengan menggunakan system computer.Uji statistik yang digunakan yaitu *One Way ANOVA*.

HASIL DAN PEMABAHASAN

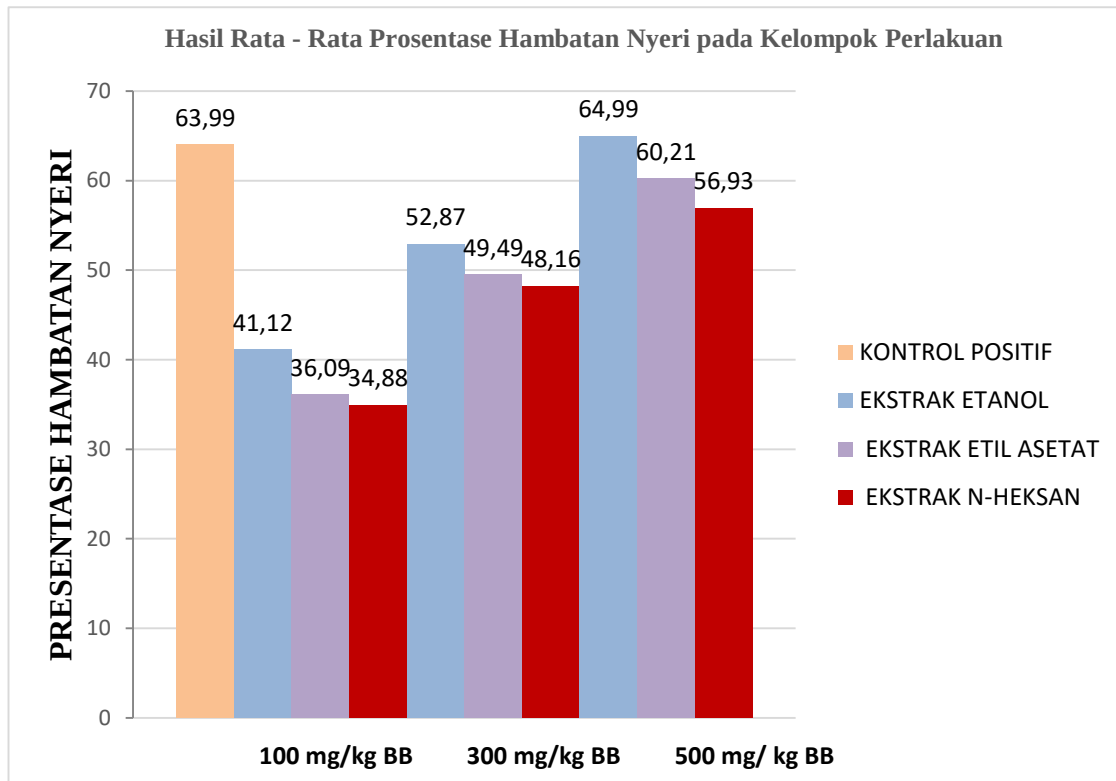
Parameter yang digunakan dalam pengamatan ini adalah waktu ketahanan tikus terhadap stimulasi panas yang dihasilkan. Nyeri yang dihasilkan berupa nyeri somatic karena jika dilihat dari tempat terjadinya merupakan nyeri permukaan karena pemanasan itu terletak pada ekor tikus. Stimulus yang merangsang nyeri akan mengeluarkan mediator nyeri yang dapat memicu pelepasan mediator nyeri seperti bradkinin serta prostaglandin yang mengaktifasi reseptor nyeri antara lain mengakibatkan reaksi berupa rasa nyeri, dalam hal ini respon yang dihasilkan berupa ekor yang mengibas. Parameter yang digunakan berupa latensi waktu 2-10 detik (Milind & Yadav, 2013)

Hewan uji yang digunakan berupa tikus putih jantan dengan tujuan bahwa kondisi biologis, dimana kondisi hormonal pada tikus jantan lebih stabil daripada tikus betina sehingga akan mencegah biasanya hasil pengamatan akibat pengaruh kondisi hormonal yang berfluktuasi pada tikus kelamin betina (Muhtadi, 2014).



. Gambar 5.1 Kurva Rata-Rata Prosentase Hambatan Nyeri

Berdasarkan data yang diperoleh dari prosentase hambatan nyeri pada peningkatan waktu menunjukkan adanya penambahan prosentase hambatan nyeri, kecuali dalam kontrol negatif tidak menunjukkan adanya pengaruh pada prosentase hambatan nyeri. Sedangkan pada kontrol positif (Asam mefenamat) menunjukkan peningkatan yang signifikan sebagai hambatan nyeri. Hasil pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan metode *tail flick* menunjukkan bahwa tidak semua pemberian pada ketiga jenis ekstrak tersebut menghasilkan rata-rata prosentase hambatan nyeri yang sama. Hal ini disebabkan karena komponen senyawa kimia yang terkandung dalam suatu ekstrak pada ketiga jenis pelarut tersebut berbeda dan komponen senyawa kimia yang terkandung tidak tunggal melainkan terdiri dari berbagai macam senyawa kimia sehingga memungkinkan komponen-komponen tersebut saling berinteraksi untuk menimbulkan efek. Namun dengan peningkatan dosis, jumlah senyawa kimia yang terkandung semakin banyak sehingga terjadi interaksi yang dapat menurunkan efek (Pasaribu, 2012).



Gambar 5.2 Hasil rata-rata prosentase hambatan nyeri pada kelompok perlakuan

Data diagram batang antara kelompok dosis dengan kontrol positif dan data hasil rata - rata prosentase hambatan nyeri pada kelompok perlakuan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari Daun Jeruk Siam menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan pada hewan uji dapat memberikan prosentase hambatan nyeri yang cukup tinggi. Hal ini dapat membuktikan adanya aktivitas analgetik yang dapat diberikan ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan Daun Jeruk Siam semakin besar sehingga akan didapatkan adanya hubungan antara dosis dengan efek analgetik.

Perbedaan prosentase hambatan nyeri pada ketiga jenis ekstrak yaitu ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari Daun Jeruk Siam mungkin disebabkan adanya respon alami pada tubuh ketika mengalami nyeri pada setiap tikus berbeda. Tubuh akan mengalami adaptasi dengan adanya stimulus nyeri, karena seharusnya tubuh memiliki analgetik alami berupa morfin endogen atau endorphin. Dalam hal ini mengakibatkan tubuh akan mengalami peningkatan kekuatan dalam menahan respon nyeri (Goodman & Gilman, 2012).

Kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam Daun Jeruk Siam ini terdapat aktivitas analgetik yang dihasilkan diduga merupakan aktivitas dari senyawa kimia yang terkandung dalam daun jeruk siam seperti flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, terpenoid , saponin dan minyak atsiri. Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin (Pandey et al. 2013). Minyak atsiri dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator nyeri (Kasim 2013). Flavonoid dan tannin yang menimbulkan aktivitas analgetik Alkaloid bekerja dalam memberikan efek analgetik terhadap reseptor opioid khas di SSP, hingga persepsi nyeri dan respon terhadap emosional terhadap nyeri berkurang (Safitri 2013)

Tabel I uji ANOVA

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Ekstrak Etanol	Between Groups	1127.111	3	375.704	521.195	.000
	Within Groups	5.767	8	.721		
	Total	1132.878	11			
Ekstrak Etil Asetat	Between Groups	1409.691	3	469.897	3.469E3	.000
	Within Groups	1.084	8	.135		
	Total	1410.775	11			
Ekstrak N-Heksan	Between Groups	1414.914	3	471.638	1.033E3	.000
	Within Groups	3.653	8	.457		
	Total	1418.567	11			

Tabel 5.3 menunjukkan hasil yang diperoleh dari pengujian anova menunjukkan hasil yang sesuai dikarenakan pada kelompok ekstrak etanol, etil asetat dan n heksan diperoleh hasil sig 0.000. Sedangkan syarat untuk Anova memiliki tingkat signifikan < 0.05 . Pada semua kelompok uji, hal ini menunjukkan pada masing-masing kelompok mempunyai perbedaan rata-rata prosentase hambatan nyeri pada setiap kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan Daun Jeruk Siam mempunyai aktivitas analgetik pada tikus putih jantan galur wistar yang diuji dengan menggunakan metode tail flick pada dosis 100, 300 dan 500 mg/Kg BB dapat memberikan prosentase hambatan nyeri pada ekstrak etanol Daun Jeruk Siam sebesar 41.12%, 52.87% dan 64.99%. Ekstrak etil asetat Daun Jeruk Siam sebesar 36.09%, 49.49% dan 60.21%. Ekstrak n-heksan Daun Jeruk Siam sebesar 34.88%, 48.16% dan 56.93%.
2. Ekstrak Daun Jeruk Siam dosis 500 mg memiliki aktivitas analgetik pada hewan uji tikus putih jantan galur Wistar yang paling efektif yang diuji dengan menggunakan metode *tail flick* pada masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n- heksan Daun Jeruk Siam sebesar 64.99%, 60.21% dan 56.93%.
3. Potensi ekstrak Daun Jeruk Siam yang paling efektif menimbulkan aktivitas analgetik adalah ekstrak etanol Daun Jeruk Siam bila dibandingkan dengan pembanding (Asam Mefenamat). Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan Daun Jeruk Siam memiliki memiliki nilai sig 0.000 dari data anova.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, H.S., Yotopranoto, Hamidah. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus Amblycarpa*) Dan Jeruk Bali (*Citrus Maxima*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. Aspirator. Vol.6 (1):1-6.
- Agrensa, R.S. 2013. Efek Analgetik Ekstrak Daun Kemenagi(*Ocimum Sanctum L*) Terhadap Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*).Skripsi. Surakarta: Fakultas MIPA , Universitas Sebelas Maret.
- Goodman & Gilman. (2012). *Dasar Farmakologiterapi Edisi 10 Vol. 1*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Kasim IP. (2013). Efek Analgetik Ekstrak Air Tempuyung (*Sonchus arvensis L*) pada Mencit dengan Metode Geliat. Naskah Publikasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Lukmandaru, G., Kristian V., & Anisa A.G.W. (2012). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Kayu *Mangifera Foetida Lour* Dan *Mangifera Odorata Griff*. Journal Ilmu Kehutanan. 6(1): 18-29 Doi: 10.22146/J9K.3306.
- Milind, Parle and Yadav Monu. (2013). Laboratory Models for Screening Analgesic. Pharmacology Divisison, Dept. Pharm. Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar, Haryana India. International Research Journal of Pharmacy. ISSN 2230-8407. 4 (1).
- Muhtadi, A. Suhendi, W. Nur cahyanti dan E.M. Sutrisna. (2014). Uji Praktikum Antihiperurisemia Secara In Vivo pada Mencit Putih Jantan Galur Balb-C dari Ekstrak Daun Salam (*Syzigium polyanthum Walp*) dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L*). Biomedika. 6(1):17-23.
- Nair, Muralithran dan Peatelan. (2015). *Dasar-Dasar Patofisiologi Terapan, Edisi Kedua*. Bumi Medika. Jakarta.
- Pandey PV. Bodhi W. Yudistira A. (2013). Uji Efek Analgetik Rumput Teki (*Cyperus rotundus L*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*). Jurnal Ilmiah Farmasi Universitas Sam Ratulangi. . 2(02): 2303-2493.
- Pasaribu, F., Panal, S., Saiful B. (2012). Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Penurunan pada Glukosa Darah. Journal of Pharmaceutics and Pharmacology. 1(1): 1-8.
- Safitri. (2013). Uji Efek Analgetik Infusa Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata (Lam) Pers*). Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss yang di Induksi dengan Asam Asetat. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran UniversitasTanjungpura. UniversitasTanjungpura. Hal:12.
- Suwondo, B.S., Lucas, M., & Sudadi. (2017). *Buku Ajar Nyeri*. Perkumpulan Nyeri Indonesia. Indonesian Pain Society
- Vabeiryurcilai, M., Lalrinzuali, K., & Jagetia,G.C. (2015). *Determination Of Anti -Inflammatory And Analgesic Activities Of A Citrus Bioflavonoid, Hesperidin in Mice*. Immunochem Immunophatol. 34, 3099-3106.

WHO. (2012). *Guidelines On The Pharmacological Treatment Of Persisting Pain In Children With Medical Illness*.WHO Library Cataloguing In – Publication Data. Hlm: 85.