

ANALGESIC ACTIVITY STUDY OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Callicarpa longifolia* Lamk. IN MICE

UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEREHAU (*Callicarpa longifolia* Lamk.) PADA MENCIT PUTIH

Eka Siswanto Syamsul, Fitriya Andani, Yulistia Budianti Soemarie

Akademi Farmasi Samarinda, Jl. A.Wahab Sjahranie No.226 Samarinda, East Kalimantan

ABSTRACT

Pain is a sensory and emotional feelings associated with tissue damage. Leaves kerehau recognized by people Dayak and Kutai as postpartum pain medication. Kerehau leaf has long been known by the public because many have efficacy in medicine. This research to determine the analgesic activity of ethanolic extract of leaves kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) on male white mice (*Mus musculus*). This is experimental research, randomized complete unidirectional pattern. The animals test were divided into 5 groups with each treatment of 5 mice. Group I (Na CMC 0.5% negative control), Group II (ibuprofen as a positive control), group III - V the ethanol extract of leaves kerehau dose of 150 mg , 300 mg and 600 mg/ Kg BW). Inductor pain acetic acid 0.5 % (ip). Observed number of writhing in mice for 1 hour and calculated percent analgesic . The results obtained in this study has efficacy as an analgesic with Strength of power dose I: 51.65 %, dose II: 65.40 %, and dose III: 75.98 %

Keyword: analgetic, *Callicarpa longifolia* leaf, analgetic effect, asetic acid

ABSTRAK

Nyeri merupakan perasaan sensoris dan emosional yang berkaitan dengan adanya kerusakan jaringan. Daun kerehau dikenal oleh masyarakat suku dayak dan kutai sebagai obat nyeri pasca persalinan. Daun kerehau telah lama dikenal oleh masyarakat karena banyak memiliki khasiat pada pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daya analgetik ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) pada mencit putih jantan (*Mus Musculus*). Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, dengan metode acak lengkap pola sear06ah. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing perlakuan 5 ekor mencit. Kelompok I (Na CMC 0,5% kontrol negative), Kelompok II (ibuprofen sebagai kontrol positif), Kelompok III-V (ekstrak etanol daun kerehau dosis 150 mg, 300 mg dan 600 mg/ Kg BB). Induktor nyeri yaitu asam asetat 0,5%. Diamati jumlah geliat mencit selama 1 jam dan dihitung persen analgetik. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini memiliki khasiat sebagai analgetik dengan daya analgetik dosis I: 51,65%, dosis II: 65,40%, dan dosis III: 75,98%.

Kata kunci: *Callicarpa longifolia*, persen daya analgetika, asam asetat

PENDAHULUAN

Setiap orang pasti pernah merasakan nyeri, dimana nyeri biasanya disebabkan oleh trauma mekanik, fisika, kimia, ataupun trauma lain yang mengakibatkan rangsangan pada reseptor nyeri. Nyeri adalah perasaan sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan dan yang berkaitan dengan kerusakan jaringan (Tjay dan Rahardja, 2007).

Obat yang digunakan dalam penanganan nyeri adalah analgetik misalnya ibuprofen. Obat nyeri atau obat antiinflamasi non steroid jika digunakan dalam jangka panjang dapat merugikan kesehatan, dari efek samping seperti sakit kepala,

mual, muntah sampai kerusakan hati dan ginjal. Tanaman Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) dikenal oleh masyarakat suku kutai dan dayak mempunyai khasiat sebagai obat bengkak, obat nyeri pasca persalinan dan biasanya dijadikan bedak dingin untuk mengobati jerawat (Semiawan dkk., 2015). Daun tua digunakan untuk obat paska persalinan, daun direbus dan kemudian air hasil rebusan diminum sedangkan daun muda digunakan masyarakat sebagai bahan tambahan untuk pembuatan pupuk atau bedak dingin.

Daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder seperti tannin, saponin, dan flavonoid (Semiawan dkk,2015) flavonoid berkhasiat sebagai analgetik yang mekanisme kerjanya menghambat kerja

Corresponding Author : Eka Siswanto Syamsul
Email : eka8382@gmail.com

enzim siklooksigenase (Suryanto, 2012). Penghambatan enzim siklooksigenase akan mengurangi produksi prostaglandin sehingga mengurangi rasa nyeri (Gunawan dan Mulyani, 2004). Khasiat dari daun kerehau belum di buktikan secara ilmiah dan masih bersifat empiris, terutama pada pengujian analgetik. Penting untuk melakukan penelitian aktivitas analgetik ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) menggunakan hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*). Tujuan penelitian ini untuk melihat potensi analgetik terhadap mencit putih jantan, adapun luaran penelitian ini dalam bentuk publikasi ilmiah.

METODOLOGI

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu percobaan yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu. Penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi dan besaran daya analgetik ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) dengan beberapa tingkatan dosis yang telah ditentukan pada hewan uji yang dalam keadaan sehat dengan berat badan 20-30g.

Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan adalah daun kerehau yang didapat di Jalan Abdul Wahab Syahrani Samarinda. Teknik sampling yang di gunakan adalah *Purposive Sampling* yaitu pengambilan sampel secara sengaja sesuai dengan pertimbangan tertentu dari peneliti.

Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang dipakai adalah mencit jantan yang sehat dengan berat badan 20-30g. Berperilaku normal, berbulu halus, tidak mengalami penyusutan berat badan setiap harinya. Mencit yang dipakai adalah 25 ekor dimana dalam setiap perlakuan digunakan 5 ekor mencit.

Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk), ibuprofen, asam asetat 0,5%, Na CMC 0,5%, aquadest, etanol 70%. Alat - alat yang digunakan adalah panci kaca, neraca analitik, blender, stopwatch, nampan, saringan, kaca arloji, sarung tangan, mortir, stamper, sonde, atau kanula, spuit ukuran 1mL, batang pengaduk kaca dan alat-alat gelas lain nya.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kerehau

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut

etanol 70%. Tahapan pembuatannya adalah serbuk daun kerehau 200 gram dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% dan diaduk menggunakan maserator selama 3 jam dan didiamkan selama 3 hari. Bejana disimpan dan ditutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari. Setelah dididamkan, filtrat disaring dengan menggunakan kain putih dan sisa serbuk diremaserasi kembali. Filtrat diuapkan diatas penangas air sampai didapatkan ekstrak kental.

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kerehau

Uji Alkaloid (Depkes RI, 1989)

Serbuk simplisia ditimbang 0.5g kemudian ditambahkan 1mL asam klorida 2 N dan 9mL air suling di panaskan di atas tangas air selama 2 menit, dinginkan dan disaring. Filtrat digunakan untuk dicek dengan pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, dan pereaksi Dragendrof.

Uji Saponin (Depkes RI, 1989)

Sebanyak 0,5g ekstrak etanol daun kerehau dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas secukupnya, dikocok selama 15 menit. Terbentuk busa, ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N bila terbentuk busa permanen maka memberikan indikasi adanya saponin.

Uji Tanin (Depkes RI, 1989)

Sebanyak 0,5 g sampel disari dengan 10mL air suling, disaring lalu filtratnya diencerkan dengan air suling sampai tidak berwarna. Diambil 2mL larutan lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Bila terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman memberikan indikasi adanya tannin.

Uji Flavonoid

Sebanyak 1g ekstrak daun kerehau ditambahkan etanol 95%. Kemudian dipanaskan. Lapisan atas dipipet dan ditambahkan dengan HCl pekat dan serbuk Mg. Flavonoid: munculnya warna merah (Lumbessy dkk, 2013).

Pembuatan bahan-bahan uji

Pembuatan Suspensi Na CMC 0.5%

Serbuk Na CMC ditimbang sebanyak 500mg, kemudian dilarutkan dalam sebagian aquadest hangat, diaduk dan ditambah aquadest sambil terus diaduk. Setelah larut semua sisa aquadest ditambahkan sampai didapatkan volume larutan Na CMC 100 mL.

Pembuatan Suspensi Ibuprofen.

Ibuprofen ditimbang sesuai perhitungan kemudian disuspensi dengan larutan Na CMC 0,5% sedikit demi sedikit sambil dikocok dan diad kan sampai 96 mL.

Tabel I. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun kerehau

| Uji Senyawa | Pereaksi | Pustaka | Hasil | Ket |
|-------------|--|---|--|------|
| Alkaloid | Mayer | Endapan putih atau kuning | Tidak ada endapan | (-) |
| | Bouchardat | Endapan coklat sampai hitam | Tidak ada endapan | (-) |
| | Dragendrof | Endapan jingga sampai merah coklat | Endapan merah coklat | (+)* |
| Flavonoid | Serbuk Mg + HCL pekat + Amil alcohol + 1-2 tetes | Terbentuk pada kuning, jingga, atau merah pada lapisan amil alkohol | Warna jingga pada lapisan amil alcohol | (+) |
| Tanin | pereaksi FeCl ₃ 1% | Terbentuk warna biru atau hijau kehitaman | Warna hijau kehitaman | (+) |
| Saponin | Air panas, dikocok + HCL 2 N | Terbentuk busa permanen | Busa permanen | (+) |

Keterangan: (+) positif, (+)* positif palsu, (-) negatif

Pembuatan Larutan asam Asetat 0,5%

Asam asetat dipipet sebanyak 0,5mL kemudian diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga volume 100mL.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun kerehau

Dilakukan nya orientasi dosis. Dalam orientasi ini ada 3 peringkat dosis, yaitu dosis 150 mg dosis 300mg dan dosis 600 mg. Pada semua tingkat dosis, digunakan volume pemberian 0,5 ml/40 g BB. Suspensi ekstrak etanol daun kerehau dibuat dengan cara ekstrak etanol daun kerehau kental ditimbang sesuai dengan perhitungan, kemudian disuspensikan dengan Na CMC 0,5% (sebagai pembawa) dan diaduk sampai homogen.

Uji Analgetik

Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok 5 ekor hewan uji, kemudian hewan uji dipuasakan selama 18 jam. Setiap kelompok diberikan perlakuan secara per oral dengan tingkatan dosis yang ditentukan.

Kelompok I : kontrol negatif Na CMC 0,5%; Kelompok II : kontrol positif suspensi ibuprofen; Kelompok III : suspensi ekstrak etanol daun kerehau dosis I; Kelompok IV : suspensi ekstrak etanol daun kerehau dosis II; Kelompok V : suspensi ekstrak etanol daun kerehau dosis III. Setelah mencit diberi perlakuan sesuai kelompok perlakuan, 30 menit kemudian mencit di beri induktor nyeri yaitu asam asetat 0,5% secara intra peritoneal. Geliat mencit yang terjadi diamati selama 1 jam .

Perhitungan daya analgetik

Perhitungan besar kecilnya daya analgetik pada masing masing kelompok dapat ditentukan setelah didapat jumlah kumulatif geliat mencit

selama 1 jam dengan menghitung presentase daya analgetiknya masing kelompok dengan rumus :

% daya analgetik = $100\% - (p/k \times 100\%)$.

P= Jumlah kumulatif geliat mencit kelompok perlakuan; K= Jumlah kumulatif geliat mencit kelompok kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.)

Berdasarkan determinasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar daun kerehau dengan nama latin (*Callicarpa longifolia* Lamk.) dan famili Lamiaceae.

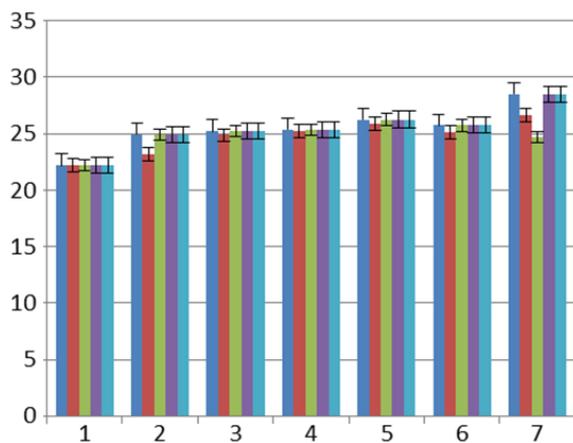
Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.)

Hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol daun kerehau uji flavonoid, saponin dan tannin menunjukkan hasil yang positif, sedangkan pada uji alkaloid menunjukkan hasil yang negatif (Tabel I).

Adaptasi Hewan Uji dan Orientasi Dosis

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan alasan bahwa kondisi biologis mencit jantan lebih stabil dibandingkan dengan mencit putih betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi oleh siklus haid. Disamping keseragaman jenis kelamin, hewan uji yang digunakan juga mempunyai keseragaman berat badan antara 20-30g dan berumur 2-3 bulan. Hal ini bertujuan untuk memperkecil perbedaan respon yang ditunjukkan oleh hewan uji (Muhammad dkk, 2012).

Hewan uji diadaptasikan dikandang selama 2 minggu, dari gambar 1 terlihat kenaikan berat badan selama 7 hari, sebelum pengujian dilakukan. Mencit ditimbang setiap harinya dengan tujuan untuk memastikan bahwa hewan uji benar-benar sehat yang ditandai dengan kenaikan berat badan setiap harinya dan aktifitas yang dilakukannya normal. Orientasi dosis dilakukan untuk menentukan variasi dosis yang digunakan dalam pengujian analgetik. Dari hasil orientasi dosis didapatkan dosis yaitu 150mg/kgBB, 300mg/kgBB, dan 600mg/kgBB.



Gambar 1. Grafik berat badan mencit putih jantan

Pengujian Analgetik

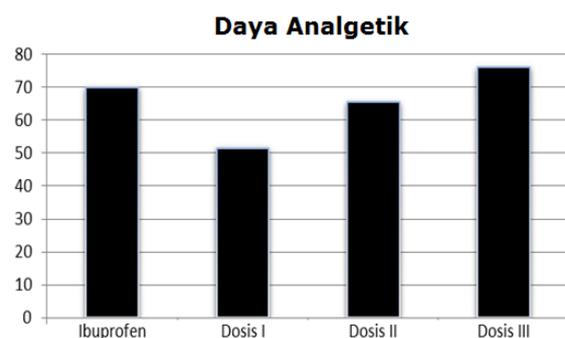
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya efek analgetik dari ekstrak daun kerehau yang diberikan kepada hewan uji mencit putih jantan dengan tingkatan dosis yang telah ditentukan. Pada pengujian analgetik ini metode yang dipilih adalah metode *sigmund* (metode geliat) karena metode ini cukup peka dalam menilai rangsang nyeri yang diberikan. Asam asetat dipilih karena dapat memberikan rangsangan nyeri yang cukup baik terhadap hewan uji dengan cara memicu respon inflamasi lokal hasil pelepasan asam arakidonat bebas dari jaringan fosfolipid melalui siklooksigenase (COX), dan biosintesis prostaglandin, peningkatan kadar prostaglandin dari induksi asam asetat meningkatkan nyeri inflamasi dengan meningkatkan permeabilitas kapiler dalam rongga peritoneum. Respon nyeri yang diberikan ditandai dengan geliat kedua pasang kaki kedepan dan kebelakang serta perut yang menempel pada lantai. (Mohan dkk, 2012)

Dalam pengujian ini digunakan kontrol negatif Na-CMC untuk membandingkan ada tidaknya daya analgetik terhadap kontrol positif dan sampel daun kerehau, kontrol positif

ibuprofen 200 mg dipilih karena lebih cepat diabsorpsi dan dikenal oleh masyarakat sebagai obat yang mampu mengobati nyeri dengan baik. Ibuprofen diketahui merupakan obat yang memiliki kemampuan analgetik. Ibuprofen bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga pembentukan asam arakidonat menjadi terganggu. Ibuprofen menghambat COX-1 dan COX-2 dan membatasi produksi prostaglandin yang berhubungan dengan rusaknya jaringan seperti analgetik dan inflamasi (Muhammad, 2012)

Pengujian analgetik dilakukan dengan cara mengelompokkan hewan uji menjadi 5 kelompok dengan masing-masing 1 kelompok terdapat 5 ekor hewan uji. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak, hal ini dimaksudkan agar setiap anggota dari masing-masing kelompok mendapat kesempatan yang sama untuk dijadikan sampel. Kelompok kontrol negatif diberi Na CMC 0,5 % dan kontrol positif diberi pembandingan Ibuprofen secara per oral. Kemudian pada kelompok dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB diberi ekstrak etanol daun kerehau secara per oral.

Pengamatan geliat pada hewan uji ini dilakukan selama 1 jam setelah hewan uji disuntikan asam asetat 0,5% secara intraperitoneal. Persentase geliat dihitung sesuai data jumlah geliat yang terbentuk pada setiap 5 menit selama 1 jam. Dari gambar 2 menunjukkan adanya perbedaan daya analgetik terhadap tiap tingkatan dosisnya.



Gambar 2. Grafik daya analgetik ekstrak etanol daun kerehau.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas varian menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($0,078 > 0,05$) dan memiliki varian data yang homogen ($0,235 > 0,05$). Hasil uji ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan, hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikan yaitu $0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan

rata-rata jumlah geliat mencit. Hasil uji LSD geliat mencit antar kelompok mempunyai persen daya analgetik yang berbeda bermakna dengan nilai signifikan ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan ibuprofen, dosis I, dosis II dan dosis III memiliki kemampuan sebagai analgetik.

Persentase daya analgetik yang didapat kontrol positif: 69,82%, dosis I: 51,65%, dosis II: 65,40%, dan dosis III: 75,98%, yang lebih besar dari daya analgetik kontrol positif ibuprofen. Kemampuan daun kerehau dalam mengatasi rasa nyeri dikarenakan adanya kandungan flavonoid yang mekanisme kerjanya adalah menghambat kerja enzim siklooksigenase sehingga pembentukan prostaglandin terhambat, dengan demikian akan mengurangi rasa nyeri. (Mohan dkk, 2012). Menurut Fazrianur (2015) ekstrak etanol daun kerehau juga mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 63,02 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Hal ini juga disebabkan oleh senyawa flavonoid.

Flavonoid juga menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan (Mohan dkk, 2012). Dalam pengujian ini kenaikan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan daya analgetik. Semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar daya analgetik yang diperoleh. Harapannya dapat dikembangkan formulasi ekstrak daun kerehau sebagai obat alternatif untuk analgetika.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kerehau memiliki potensi analgetik terhadap mencit putih jantan. Berdasarkan hasil uji analgetik, persentase daya analgetik yang didapatkan dosis I: 51,65%, dosis II: 65,40%, dan dosis III: 75,98%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Akademi Farmasi Samarinda atas bantuan fasilitas dan pembiayaan hibah Penelitian Dosen tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materia Medika Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Fazriannur, 2015 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) Dengan Metode Penangkal Radikal DPPH (2,2- Difenil 1-Pikrihidrazil). *Karya Tulis Ilmiah*. Samarinda : Akademi Farmasi
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jakarta : Penebar Swadaya.
- Keth N.T., J. Gleye. Lavergne de Cervol, E. Stanisla, 1977, *Flavonoides de Phyllanthus niruri L. P. urinaria L., P. orbiculatus LC. Rich*, Tome XI, Plants Medicinales et Phytotherapie.
- Lumbessy, M., Abidjulu, J., Paendong, J.E. 2013. Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Kecamatan Mangoi Timur Kabupaten Kepulauan Sula Maluku Utara. *JURNALI FMIPA UNSTRA*.
- Mohan, N., Gulecha, V.S., Aurangbadkar, V.M., Balaraman, R., Austin, A. & Thirugananasampathan, S. (2009). *Analgesic And Anti-Inflammatory Activity of a Polyherbal Formulation (PHF-AROGH). Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 9 (3), 232-237.
- Muhammad, N., Saeed, M. & Khan, H. (2012). *Antypyretic, Analgesic And AntiInflammatory Activity of Viola betonicifolia* Whole Plant. BMC
- Semiawan, F., Ahmad, I., Masruhimi, M. A. 2015. Aktivitas AntiInflamasi Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) Jurnal Sains dan Kesehatan. (2015). Vol 1.No. 1. P-ISSN: 2303-0627, e-ISSN: 2407-608. Samarinda: Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman.
- Siregar, K., 1984. "Biostatistik Untuk Ilmu-Ilmu Kesehatan", FKM Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Donatus, I.A., Drajad, M., Wibowo, S., dan Ngatidjan, 2006, *Tumbuhan Obat I*, Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Suryanto, E. 2013, Potensi Ekstrak Fenolik Buah Pisang Goro (*Musa Spp.*) Terhadap Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *Chem. Prog.*, 6 (1), 6-10
- Tjay, T.H. dan Rahardja, K. 2007. *Obat-obat penting*. Edisi VI. Jakarta: PT. Elek Media Komputindo Kelompok Gramedia.