

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi daun singkong (*Manihot utilissima*)

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong yang diperoleh di daerah Wonorejo, Kecamatan Gondang, Kabupaten Sragen, Provinsi Jawa Tengah pada Bulan Desember 2018. Tanaman singkong terlebih dahulu dideterminasi untuk menetapkan kebenaran bahan tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian dan menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan, serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi tanaman singkong dilakukan di laboratorium Biologi Universitas Setia Budi Surakarta adalah sebagai berikut : No. 326/DET/UPT-LAB/20/III/2019

Berdasarkan Steenis: FLORA 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a.

Golongan 8. 109b-119b-120a-121b-124b-125b.

Familia 67. Euphorbiaceae. 1b-3a-4b-5b-6b-7a-8a. (*Manihot esculenta cranz*).

Sinonim: (*Manihot utilissima*). Dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah singkong (bagian daun) (*Manihot utilissima*).

2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk daun singkong

Daun singkong yang diperoleh dari daerah Wonorejo, Kecamatan Gondang, Kabupaten Sragen, Provinsi Jawa Tengah yaitu daun singkong (*Manihot utilissima*) yang segar, tidak terkena hama, tidak busuk.

Daun singkong langsung disortir, kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran pada daun singkong, kemudian tiriskan. Proses selanjutnya adalah pengeringan daun singkong, pengeringan menggunakan oven pada suhu 45°C selama 2 hari tujuan dilakukan pengeringan adalah mencegah pertumbuhan jamur atau mikroorganisme atau juga penguraian senyawa aktif oleh reaksi enzimatik dan proses hidrolisis karena kandungan air yang tinggi sehingga simplisia dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama.

Daun singkong yang sudah kering kemudian di giling dengan menggunakan blender hingga halus, lalu diayak dengan ayakan nomor 40 yang berfungsi untuk memperoleh serbuk yang seragam, hasil serbuk yang diperoleh lalu disimpan dalam wadah yang aman, kering, dan rapat.

3. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk daun singkong

Penetapan kelembaban air pada serbuk simplisia yang berlebihan akan mempercepat pertumbuhan bakteri dan akan menyebabkan munculnya kontaminan.

Tabel 1. Hasil penetapan kelembaban serbuk

Serbuk Daun Singkong (gram)	Kelembaban %
2,0	4,4
2,0	7,1
2,0	5,9
Rata-rata persentase	5,8
SD±	1,352

Pengukuran kelembaban serbuk dengan menggunakan alat *Moisture balance* dilakukan dengan cara serbuk daun singkong ditimbang 2,0 gram sebanyak 3 kali replikasi kemudian diukur kelembaban dimana dari 3 replikasi tersebut

diperoleh hasil kelembaban sebesar 4,4 %; 7,1 %; 5,9 %; dan diperoleh hasil persentase rata-rata 5,8 % hasil tersebut memenuhi syarat baku mutu serbuk simplisia karena batas kadar yang baik tidak lebih dari 10%.

4. Organoleptis serbuk daun singkong

Uji organoleptis serbuk daun singkong meliputi: bentuk, warna, bau, dan rasa.

Tabel 2. Hasil uji organoleptis serbuk daun singkong

Serbuk	Uji organoleptis			
	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
Daun singkong	Serbuk	Hijau tua	Bau khas	Tidak berasa

5. Pembuatan ekstrak

Pada penelitian ini digunakan ekstrak kental daun singkong (*Manihot utilissima*) yang diperoleh dari proses penarikan senyawa yang terdapat pada simplisia dengan cara perendaman serbuk daun singkong dalam bejana maserasi sebanyak 300 gram dengan pelarut etanol 70 % sebanyak 3000 ml ditutup dan disimpan pada suhu ruangan selama 5 hari kemudian disaring.

Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental daun singkong. Pemekatan dilanjutkan dengan menguapkan ekstrak dalam oven sampai didapatkan kepekatan yang diinginkan yang selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen ekstrak.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun singkong

Berat simplisia	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen %
300	420	474	54	18

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat}}{\text{bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\% \\
 &= \frac{54 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 18 \%
 \end{aligned}$$

Perhitungan rendemen ekstrak daun singkong diperoleh hasil sebesar 18 %.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia daun singkong

Identifikasi kandungan kimia yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun singkong diperoleh hasil yang sesuai dengan pustaka yang ada dan dapat dilihat pada tabel 5. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol daun singkong mengandung flavonoid dan saponin. Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada nyeri akan menurun (Harbone, 1996b)

Tabel 4. Data hasil identifikasi kandungan ekstrak dan serbuk daun singkong

Kandungan kimia	test	hasil	pustaka	interpretasi
flavonoid	0,1 gram ekstrak atau serbuk + 10 ml air panas lalu saring, masukkan filtrat dalam tabung reaksi + 0,5 gram serbuk Mg + 1 ml amil alkohol dan kocok kuat	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harbone, 1987)	+
Saponin	1 ml ekstrak atau serbuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dibiarkan mendingin, setelah itu dikocok kuat-kuat selama 10 detik.	Terbentuk buih atau busa yang stabil.	akan terbentuk busa atau buih yang stabil (Depkes RI, 1980).	+

7. Hasil penetapan dosis ekstrak daun singkong

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun singkong (*Manihot utilissima*) terhadap kadar gula darah mencit dan efektif dari daun singkong yaitu 12,8 mg/kg BB; 25, 6 mg/kg BB; dan 51, 3 mg/kg BB. Dalam dosis penelitian tersebut dihitung untuk mencari variasi dosis penelitian uji efek analgetik ekstrak etanol daun singkong, perhitungan dikalikan 3 kali dosisnya, 2 kali dosisnya, dan ½ kali dosis nya. Maka diperoleh variasi dosis 38,4 mg/kg BB; 51,2 mg/kg BB; dan 25, 65 mg/kg BB.

Variasi dosis yang digunakan berdasarkan perhitungan bertingkat di atas didapatkan dosis sebagai berikut:

- a. Pertama : Ekstrak daun singkong 0,513 mg/20 g BB mencit
- b. Kedua : Ekstrak daun singkong 0, 768 mg/20 g BB mencit
- c. Ketiga : Ekstrak daun singkong 1, 024 mg/20 g BB mencit

8. Hasil uji analgetik

Uji analgetik pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *Sigmund* yaitu dengan adanya respon gerakan geliat pada mencit, ditandai dengan abdomen mencit menyentuh permukaan atau dasar tempat berpijak dan kedua kaki ditarik ke belakang. Sebelum perlakuan masing-masing mencit dipuasakan terlebih dahulu agar kondisi hewan uji tidak terpengaruhi oleh makanan ataupun minuman lainnya yang mempengaruhi kandungan yang berkhasiat pada ekstrak daun singkong, selain itu untuk memudahkan selama pemberian ekstrak etanol daun singkong secara oral pada mencit. Selanjutnya hewan uji diinduksi dengan asam asetat 1% sebagai perangsang terbentuknya prostaglandin yang dapat menimbulkan rasa nyeri pada hewan uji.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan karena kondisi lebih stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus. Hewan uji yang digunakan mempunyai keseragaman berat badan antara 20-30 gram dan umur 2-3 bulan, hal ini bertujuan untuk memperkecil variabilitas biologis antara hewan uji yang digunakan sehingga dapat memberikan respon geliat mencit yang lebih seragam terhadap rangsangan kimia yang diberikan.

Sebagai pembanding digunakan aspirin dengan tujuan untuk menentukan efektivitas ekstrak daun singkong dari beberapa variasi dosis. Aspirin digunakan sebagai pembanding karena Pada umumnya mekanisme kerja obat aspirin sama dengan obat-obat analgesik lainnya, yaitu menghambat sintesis prostaglandin.

Prostaglandin itu sendiri merupakan mediator nyeri dan inflamasi/peradangan yang berada dalam tubuh.

Penelitian ini pemberian sediaan dilakukan 30 menit sebelum diberi induksi asam asetat 1%. Pemberian 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 dan biosintesis prostaglandin.

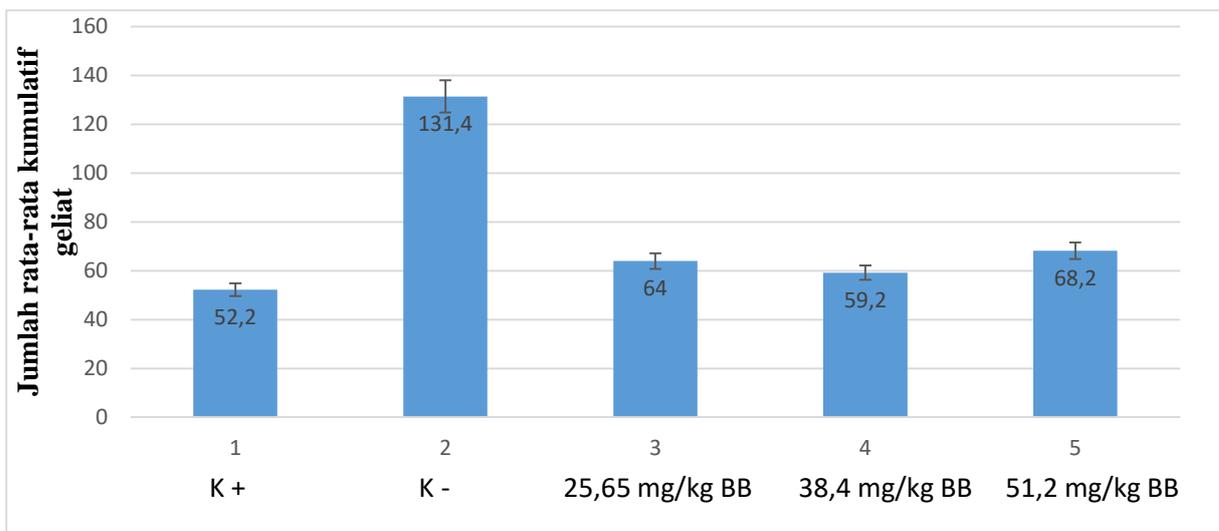
Peningkatan kadar prostaglandin dari induksi asam asetat meningkatkan nyeri inflamasi dengan meningkatkan permeabilitas kapiler dalam rongga peritonium. Respon nyeri yang diberikan hewan uji ditandai dengan geliat kedua pasang kaki ke depan dan ke belakang serta perut yang menempel pada lantai (Syamsul *et al.*, 2016).

Data jumlah geliat pada mencit selama 60 menit pada masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 5. Jumlah rata-rata geliat mencit pada kelompok perlakuan selama 60 menit

Kelompok perlakuan	Waktu Pengamatan (Menit)						Total jumlah rata-rata geliat selama 60 menit
	10'	20'	30'	40'	50'	60'	
Kontrol +	7	8	10,6	10,6	8,8	7,2	52,2
Kontrol -	20	22,6	28	23	21,6	16,2	131,4
Dosis 25,65 mg/kg BB	9,6	12,2	12,2	10,4	9,4	10,2	64
Dosis 38,4 mg/kg BB	11,2	8,2	10,4	9,4	11	9	59,2
Dosis 51,2 mg/kg BB	11,8	10,6	11,8	11,4	10,8	11,8	68,2

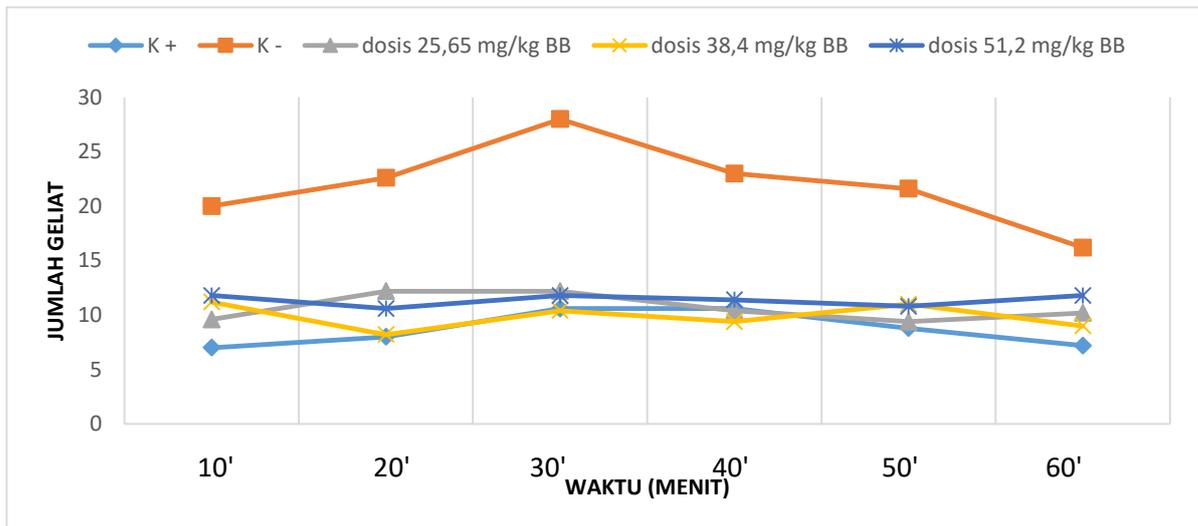
Pada tabel 6 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif total jumlah geliat selama 60 menit sebanyak 52,2; pada kontrol negatif sebanyak 131,4; pada dosis pertama yaitu 25,65 mg/kg BB sebanyak 64; pada dosis kedua 38,4 mg/kg BB sebanyak 59,2; dan pada dosis ketiga yaitu 51,2 mg/kg BB sebanyak 68,2.



Gambar 1. Diagram rata-rata jumlah kumulatif geliat setiap kelompok perlakuan.

Pada gambar 4 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah geliat mencit setiap kelompok itu berbeda-beda. Rata-rata jumlah geliat yang paling tinggi diantara lima kelompok perlakuan uji adalah kontrol negatif, kemudian diikuti oleh kelompok uji

dengan dosis 51,2 mg/kg BB; dosis 25,65 mg/kg BB; dosis 38,4 mg/kg BB; dan yang paling sedikit adalah kelompok kontrol positif.



Gambar 2. Grafik jumlah geliat kelompok perlakuan ekstrak daun singkong dan aspirin.

Berdasarkan gambar 5 jumlah geliat kelompok kontrol negatif paling banyak jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Kelompok kontrol positif (aspirin) dan ekstrak etanol daun singkong memiliki jumlah geliat yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif. Dalam hal ini dapat diartikan bahwa kelompok positif yang diberikan aspirin secara oral dan kelompok ekstrak daun singkong mampu mengurangi rasa nyeri atau sakit yang disebabkan oleh asam asetat sebagai induksi nyeri. Jumlah rata-rata geliat kelompok kontrol negatif pada menit awal hingga ke menit 30 mengalami kenaikan karena pengaruh pemberian asam asetat. Puncak dari pengaruh asam asetat pada menit ke 30 yang mengalami kenaikan dikarenakan pada kelompok kontrol negatif yang diberikan asam asetat tidak diberikan perlakuan. Jumlah geliat pada kelompok positif (aspirin) menit ke 10 sampai ke menit 40 mengalami kenaikan hal ini dikarenakan efek dari pemberian

asam asetat sebelumnya, pada menit ke 40 sampai dengan menit ke 60 mengalami penurunan jumlah geliat hal ini dikarenakan efek analgetik dari aspirin sudah bekerja pada menit sebelumnya.

Data jumlah geliat mencit selama 60 menit kemudian diuji efek analgetiknya dilakukan analisa awal yaitu dengan uji normalitas dengan metode *kolmogorov smirnov* untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari jumlah geliat mencit sudah terdistribusi secara normal atau tidak. Data jika terdistribusi normal apabila signifikansi $> 0,05$. Hasil dari uji data *one sample kolmogorov-smirnov test* diperoleh hasil $0,052 > 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis varian (ANOVA).

Kemudian dilakukan uji *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai signifikansi $0,145 > 0,05$ (H_0) diterima dapat dikatakan bahwa dalam kelima kelompok perlakuan mempunyai varians yang sama (homogen).

Setelah data terdistribusi normal dan mempunyai varian yang sama kemudian dilanjut dengan analisa ANOVA satu arah. Hasil dari analisa ANOVA diperoleh signifikansi $0,000 < 0,05$. jika nilai signifikansi $< 0,05$ dapat dikatakan bahwa dalam kelompok perlakuan ekstrak daun singkong dengan beberapa variasi dosis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap respon geliat hewan percobaan.

Kemudian untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok lainnya dilakukan analisa *Post Hoc Test* dan di lanjut dengan Uji Duncan. Pada kontrol negatif diperoleh nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ pada semua

kelompok perlakuan, hasil tersebut dapat dikatakan bahwa pada kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan terhadap semua kelompok perlakuan lainnya. Berdasarkan nilai signifikansi dosis 25,65 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan nyata dengan kontrol positif dan memiliki perbedaan nyata dengan kontrol negatif. Dosis 38,4 mg/kg BB diperoleh hasil tidak memiliki perbedaan nyata dengan kontrol positif dan memiliki perbedaan nyata dengan kontrol negatif. Dosis 51,2 mg/kg BB diperoleh signifikansi adanya perbedaan nyata antara kontrol positif dan kontrol negatif.

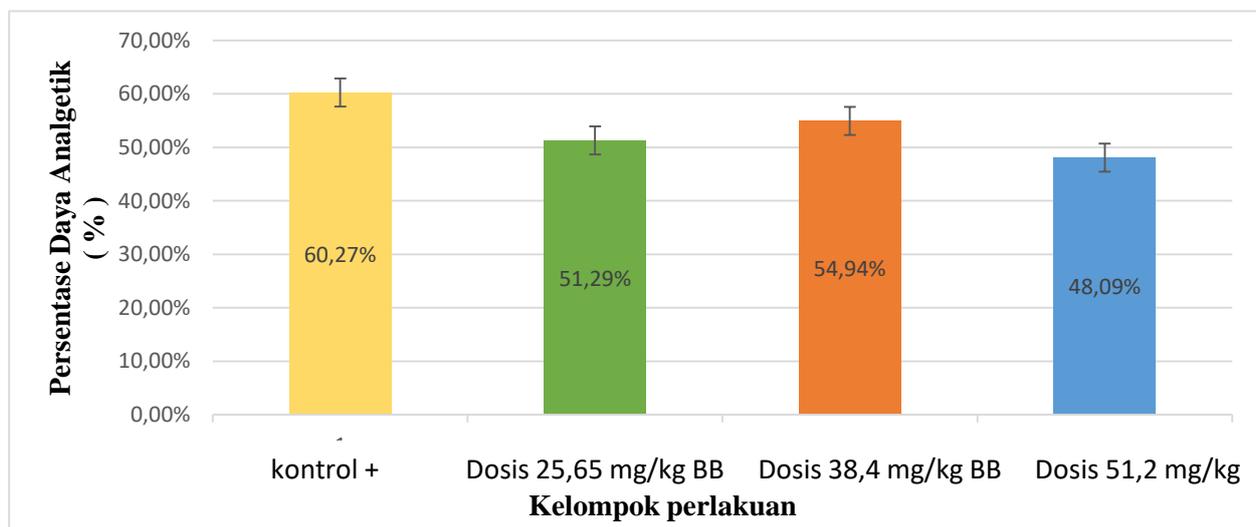
Berdasarkan hasil penelitian ini terlihat bahwa dosis ekstrak daun singkong mempunyai efek sebagai analgetik yang diberikan. Hal ini dikarenakan adanya kandungan kimia yang terdapat dalam daun singkong diantaranya yaitu senyawa flavonoid yang bekerja menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun dan dapat memberikan efek analgetik.

Data jumlah geliat mencit masing-masing kelompok perlakuan selanjutnya dihitung persentase daya analgetik, hasil dapat dilihat pada tabel 7 dimana setiap kelompok perlakuan menunjukkan aktivitas analgetik yang berbeda khususnya untuk kelompok dosis 25,65 mg/kg BB, dosis 38,4 mg/kg BB, dan dosis 51,2 mg/kg BB.

Tabel 6. Persentase daya analgetik kelompok kontrol positif (aspirin) dan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun singkong berdasarkan jumlah geliat mencit putih jantan selama 60 menit

Kelompok Perlakuan	Daya Analgetik (%)
Kontrol positif (aspirin)	60,27
Dosis ekstrak etanol daun singkong 25,65 mg/kg BB	51,29
Dosis ekstrak etanol daun singkong 38,4 mg/kg BB	54,94
Dosis ekstrak etanol daun singkong 51,2 mg/kg BB	48,09

Persentase daya analgetik pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun singkong dan kontrol positif (aspirin) berdasarkan jumlah geliat mencit putih jantan selama 60 menit yaitu pada kelompok positif (aspirin) diperoleh persentase daya analgetik sebesar 60,27 %; dosis 25,65 mg/kg BB diperoleh daya analgetik 51,29%; dosis 38,4 mg/kg BB diperoleh daya analgetik sebesar 54,94 %; dan pada dosis 51,2 mg/kg BB diperoleh persentase daya analgetik sebesar 48,09 %.



Gambar 3. Diagram perbandingan % daya analgetik ekstrak etanol daun singkong terhadap kontrol positif (aspirin).

Diagram pada gambar 6, menunjukkan bahwa daya analgetik kelompok positif (aspirin) memiliki persentase daya analgetik paling tinggi yaitu sebesar 60,27 %; lalu selanjutnya pada dosis 38,4 mg/kg BB dengan persentase daya analgetik sebesar 54,94 %; selanjutnya pada dosis 25,65 mg/kg BB sebesar 51,29 %; dan yang terakhir pada dosis 51,2 mg/kg BB yaitu sebesar 48,09 % memiliki persentase yang paling rendah.

Pada dosis 25,65 mg/kg BB dan dosis 38,4 mg/kg BB dapat dikatakan mempunyai daya analgetik dikarenakan persentase penghambat nyeri lebih dari 50%. Dari semua kelompok, dosis yang paling tinggi diantara perlakuan yaitu dosis 38,4 mg/kg BB. Sehingga peneliti menyarankan untuk menggunakan dosis 25,65 mg/kg BB atau 38,4 mg/kg BB sebagai dosis untuk pengurang rasa sakit (analgetik).