

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman duwet (*Syzygium cumini*)

1. Hasil determinasi tanaman duwet

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci identifikasi. Determinasi tanaman duwet dilakukan di Universitas Setia Budi dengan berpedoman pada buku C.A. Backer & R.C.B. Brink (1965). Hasil determinasi tanaman duwet sebagai berikut : 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 15a. Golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156a – 157a – 158a. Familia 94. Myrtaceae 1b – 2b. *Eugenia*, Sinonim : *Syzygium*, 1a – 2a. *Eugenia cumini* Druse; sinonim: *Syzygium cumini* (L.). *Skeels*. Hasil dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengumpulan tanaman dan pengeringan daun duwet

Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun duwet yang diperoleh dari daerah madiun, Jawa Timur pada bulan Februari 2019. Daun diambil dalam kondisi segar, tidak busuk dan berwarna hijau. Daun duwet yang diperoleh dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran- kotoran yang melekat dan ditiriskan. Daun dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C untuk mengurangi kadar air serta mencegah terjadinya perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu dan untuk menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri. Hasil rendemen daun duwet kering terhadap daun basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen daun kering terhadap daun basah

Bobot daun basah (g)	Bobot daun kering (g)	Rendemen (%)b/b
6000	3000	50

3. Pembuatan serbuk daun duwet

Pembuatan serbuk pada simplisia bertujuan agar saat proses maserasi dapat menarik senyawa kimia lebih maksimal karena semakin luas permukaan kontak langsung dengan pelarut. Pembuatan serbuk daun duwet dilakukan dengan menggunakan mesin penggiling kemudian dihaluskan menggunakan blender. Serbuk yang didapat diayak menggunakan ayakan no 40 untuk menghasilkan partikel yang dapat kontak dengan pelarut lebih besar. Hasil rendemen serbuk simplisia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen serbuk terhadap daun kering

Bobot daun kering (g)	Bobot serbuk (g)	Rendemen (%)b/b
3000	1600	53,33

4. Penetapan kandungan lembab serbuk

Penetapan kandungan lembab bertujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000). Alat yang digunakan yaitu *moisture balance* dengan suhu 105°C. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun duwet dapat dilihat pada tabel 3..

Tabel 3. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk dan ekstrak daun duwet

No.	Berat basah (g)	Kandungan lembab (%)
1.	2	10
2.	2	9
3.	2	9
Rata-rata ± SD		9,3 ± 0,57

Berdasarkan tabel 3 hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun duwet dilakukan 3 kali replikasi. Dari data hasil penetapan kandungan lembab menunjukkan senyawa yang hilang pada proses pengeringan rata-rata 9,3 %.

5. Penetapan kadar air serbuk daun duwet

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan alat *sterling-Bidwell* dengan pelarut toluene. Hasil penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun duwet

No.	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,7	8,5
2	20	1,7	8,5
3	20	1,4	7
Rata-rata ± SD			8 ± 0,86

Berdasarkan tabel 4 hasil perhitungan kadar air daun duwet dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan presentase rata-rata kadar air yaitu 8 %. Kadar air tidak boleh melebihi 10%, karena kadar air yang tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Air merupakan media pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Berdasarkan dari hasil penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat disimpulkan bahwa serbuk daun duwet masih memenuhi syarat karena presentase kadar air serbuk daun duwet tidak lebih dari 10%. Perhitungan penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat dilihat pada lampiran 7.

B. Ekstraksi dan Fraksinasi

1. Pembuatan ekstrak etanol daun duwet

Pembuatan ekstrak etanol daun duwet dilakukan dengan metode maserasi yang dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Metode maserasi dipilih karena metode ini cocok untuk senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan dan biasa digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif mudah larut dalam pelarut dan tidak mudah mengembang dalam cairan penyari (Voight 1995). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk daun duwet menggunakan botol coklat dalam keadaan tertutup dan beberapa kali dilakukan pengocokan pada temperature ruang. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar.

Serbuk daun duwet yang digunakan pada pembuatan ekstrak etanol 96% sebanyak 1000 gram dengan pelarut etanol 96% 10 L. Maserat yang diperoleh

dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil ekstrak kental yang diperoleh 201 gram dengan rendemen sebesar 20,1% dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rendemen ekstrak etanol daun duwet

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%) b/b
1000	201	20,1

2. Penetapan kandungan lembab ekstrak daun duwet

Penetapan kandungan lembab bertujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000). Alat yang digunakan yaitu *moisture balance* dengan suhu 105°C. Hasil penetapan kandungan lembab ekstrak daun duwet dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk dan ekstrak daun duwet

No.	Berat basah (g)	Kandungan lembab (%)
1.	2	8,1
2.	2	7,5
3.	2	7,5
Rata-rata ± SD		7,7 ± 0,34

Berdasarkan tabel 6 hasil penetapan kandungan lembab ekstrak daun duwet dilakukan 3 kali replikasi. Dari data hasil penetapan kandungan lembab menunjukkan senyawa yang hilang pada proses pengeringan rata-rata 7,7 %.

3. Penetapan kadar air ekstrak etanol daun duwet

Penetapan kadar air dilakukan dengan alat *sterling-Bidwell* menggunakan pelarut toluene. Hasil penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun duwet

No.	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air (%)
1	20	1	5
2	20	0,8	4
3	20	1	5
Rata-rata ± SD			4,66 ± 0,57

Berdasarkan tabel 7 hasil perhitungan kadar air daun duwet dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan rata-rata presentase kadar air 4,66 %. Kadar air tidak boleh melebihi 10%, karena kadar air yang tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Air merupakan

media pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Berdasarkan dari hasil penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat disimpulkan bahwa serbuk daun duwet masih memenuhi syarat karena presentase kadar air serbuk daun duwet tidak lebih dari 10%. Perhitungan penetapan kadar air serbuk daun duwet dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Penetapan bobot jenis ekstrak etanol daun duwet

Penetapan bobot jenis ekstrak dilakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang (Depkes RI 2000). Alat yang digunakan untuk penetapan bobot jenis yaitu dengan *piknometer*. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 8. Hasil penetapan berat jenis ekstrak etanol daun duwet

No.	Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
1	49,3797	50,3073	0,981
2	48,3795	50,4073	0,959
3	50,3796	51,0068	0,987
Rata-Rata ± SD			0,975 ± 0,014

Berdasarkan tabel 8 hasil penetapan bobot jenis ekstrak daun duwet dilakukan 3 kali replikasi. Dari data hasil penetapan bobot jenis rata-rata ekstrak etanol daun duwet diperoleh sebesar 0,975 g/ml. Penetapan bobot jenis ekstrak etanol seharusnya lebih dari 1 g/ ml. Hal ini dikarenakan ekstrak yang digunakan dalam penetapan bobot jenis bukan ekstrak murni melainkan ekstrak yang sudah mengalami proses pengenceran. Perhitungan penetapan bobot jenis ekstrak daun duwet dapat dilihat pada lampiran 9.

5. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun duwet

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Hasil rendemen fraksinasi dari urutan yang paling banyak yaitu fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan. Hasil fraksinasi daun duwet dapat dilihat pada tabel 9 dan lampiran 10.

Tabel 9. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun duwet

Berat ekstrak (g)	Nama fraksi	Berat fraksi(g)	Rendemen (%)
30	N heksan	0,5516	1,83
	Etil asetat	10,409	34,69
	Air	11,997	39,99
Total Rendemen			76,51

Berdasarkan tabel 9 hasil fraksinasi daun duwet dilakukan 3 kali replikasi dengan satu kali replikasi berat ekstrak yang digunakan 10 gram. Fraksi n heksan memperoleh rata-rata rendemen 1,83%, fraksi etil asetat memperoleh rata-rata rendemen 34,69% dan fraksi air memperoleh rata-rata rendemen 39,99%.

6. Hasil Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi secara KLT

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun duwet bertujuan untuk mengetahui senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan triterpenoid atau steroid yang ada pada ekstrak etanol dan fraksi daun duwet dengan metode KLT. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan fraksi –fraksi daun duwet dapat dilihat pada tabel 10 dan lampiran 14.

Tabel 10. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi-fraksi daun duwet secara KLT

Kandungan kimia	Ekstrak etanol	Fraksi n-heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
Alkaloid	+	+	+	-
Flavonoid	+	-	+	-
Tanin	+	-	+	-
Terpenoid	+	+	+	-
Steroid	-	+	-	-

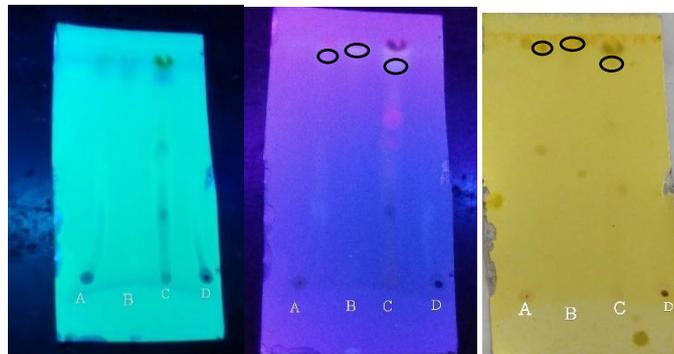
Keterangan :

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

6.1 Alkaloid. Alkaloid dapat diamati pada UV 254 nm, UV 366 nm dan secara visual. Pengamatan yang dilakukan pada UV 254 nm sampel akan mengalami peredaman dan UV 366 nm sampel akan berwarna biru, biru kehijauan dan ungu. Sampel positif mengandung alkaloid apabila bercak yang dihasilkan berwarna coklat atau jingga (Titis *et al.* 2013). Pengujian ekstrak dan fraksi daun duwet dilakukan dengan menggunakan eluen Etil asetat : metanol : air (90: 9: 1).

Berdasarkan pengujian alkaloid di dapatkan hasil bahwa ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid dengan bercak berwarna coklat.



Keterangan :

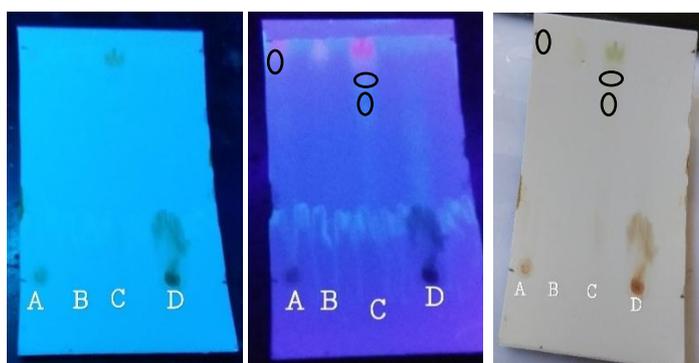
A: Ekstrak

B: n heksan

C: Etil asetat

D: Air

6.2 Flavonoid. Pengamatan flavonoid dapat dilakukan dibawah UV 254 nm, UV 366 nm dan secara visual. Sampel positif mengandung flavonoid jika bercak pada pengamatan secara visual berwarna kuning (Yuda *et al.* 2017). Warna kuning pada flavonoid dapat timbul karena adanya pereaksi Sitroborat. Eluen yang digunakan pada flavonoid yaitu Asam asetat : butanol : air (1:4 :5). Pada pengamatan secara visual bercak sampel berwarna kuning dihasilkan oleh ekstrak dan fraksi etil asetat.

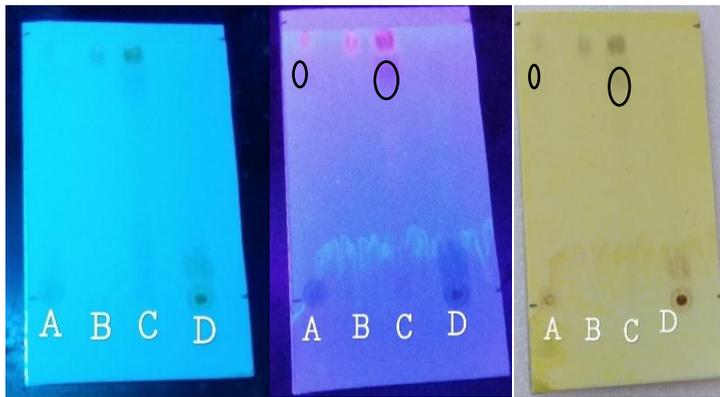


B: n heksan

C: Etil asetat

D: Air

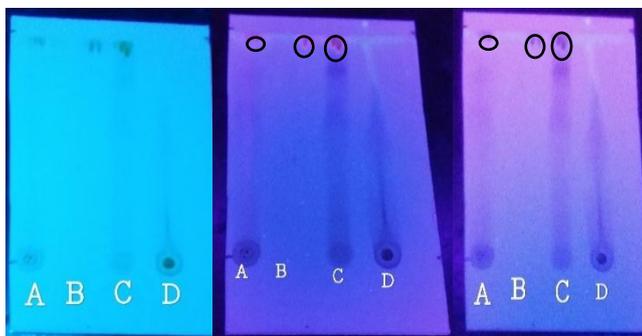
6.3 Tanin. Sampel positif mengandung tanin apabila bercak yang dihasilkan pada pengamatan visual berwarna hitam (Yuda *et al.* 2017). Warna ini timbul akibat adanya pereaksi bercak FeCl_3 . Fase gerak yang digunakan untuk identifikasi tanin yaitu N butanol : asam asetat : air (4:1:5). Hasil pengamatan secara visual diperoleh bahwa ekstrak dan fraksi etil asetat memberikan bercak warna hijau tua kehitaman sehingga positif mengandung tanin.



Keterangan :

- A: Ekstrak
- B: N heksan
- C: Etil asetat
- D: Air

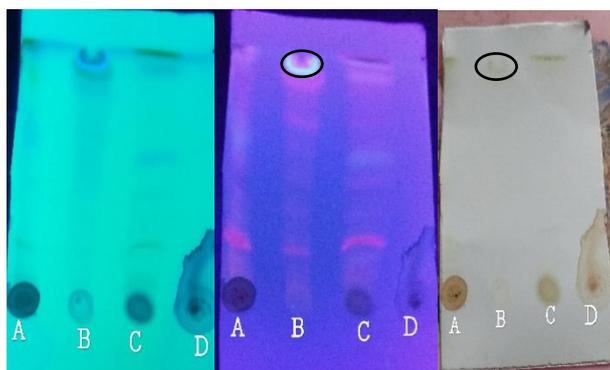
6.4 Terpenoid. Sampel positif mengandung terpenoid jika bercak yang dihasilkan berwarna ungu setelah dilakukan pemanasan dan setelah di semprot vanilin asam sulfat dan dilakukan pemanasan terbentuk warna merah muda atau ungu kecoklatan. Fase gerak yang digunakan dalam uji terpenoid adalah diklorometanol : metanol (7:3) (Alen *et al.* 2017). Pengujian terpenoid pada daun duwet diperoleh hasil bahwa pada ekstrak, n-heksan, etil asetat terbentuk warna ungu setelah pemanasan dan setelah di semprot vanilin asam sulfat terbentuk warna ungu kecoklatan.



Keterangan :

- A: Ekstrak
- B: N heksan
- C: Etil asetat
- D: Air

6.5 Steroid. Pengamatan steroid dapat dilakukan pada UV 254 nm, UV 366 nm dan secara visual. Sampel positif mengandung steroid apabila bercak yang dihasilkan pada pengamatan visual berwarna hijau biru (Yuda *et al.* 2017). Bercak yang dihasilkan dapat terjadi akibat adanya pereaksi Liebermand burchad. Fase gerak yang digunakan identifikasi steroid yaitu kloroform : metanol (9:1). Pengamatan secara visual terjadi bercak warna hijau biru pada fraksi n heksan.



Keterangan :

A: Ekstrak

B: N heksan

C: Etil asetat

D: Air

C. Uji efek Analgesik ekstrak, fraksi-fraksi daun duwet

1. Penetapan dosis efektif ekstrak

Pengujian dosis efektif ekstrak dilakukan dengan memberikan ekstrak etanol daun duwet pada hewan uji dengan 3 dosis yaitu 150 mg / kg BB, 300 mg / kg BB dan 600 mg / kg BB secara peroral. Dari tiga dosis yang digunakan untuk pengujian dipilih yang memberikan efek analgesik sebanding dengan kontrol positif. Penentuan dosis efektif dari ketiga dosis tersebut digunakan untuk menentukan dosis fraksi. Hasil penelitian yang digunakan berupa data saat tikus memberikan respon dengan menarik kakinya yang dilakukan selama 4 jam pada tiap-tiap dosis. Respon saat tikus menarik kakinya dalam waktu tertentu dinyatakan sebagai derajat nyeri yang dirasakan hewan uji. Hasil orientasi ekstrak daun duwet dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 11. Rata-rata daya tahan beban ekstrak etanol daun duwet

Kelompok perlakuan	Rata-rata daya tahan beban (gram) \pm SD				
	$\Delta T_1(T_{30}-T_0)$	$\Delta T_2(T_{60}-T_0)$	$\Delta T_3(T_{120}-T_0)$	$\Delta T_4(T_{180}-T_0)$	$\Delta T_5(T_{240}-T_0)$
I	66,6 \pm 2,8 ^b	51,6 \pm 5,7 ^b	41,6 \pm 5,7 ^b	21,6 \pm 5,7 ^b	15,0 \pm 5,0 ^b
II	75,0 \pm 5,0 ^a	108,3 \pm 2,8 ^a	140,0 \pm 5,0 ^a	126,6 \pm 2,8 ^a	85,0 \pm 5,0 ^a
III	75,0 \pm 2,8 ^{ab}	81,6 \pm 2,8 ^{ab}	100,0 \pm 2,8 ^{ab}	41,6 \pm 2,8 ^{ab}	35,0 \pm 5,0 ^{ab}
IV	80,0 \pm 5,0 ^a	123,3 \pm 2,8 ^{ab}	130,0 \pm 5,0 ^a	136,6 \pm 7,6 ^a	78,3 \pm 7,6 ^a
V	76,6 \pm 2,8 ^{ab}	108,3 \pm 2,8 ^a	123,0 \pm 2,8 ^{ab}	85,0 \pm 5,0 ^{ab}	38,3 \pm 2,8 ^{ab}

Keterangan :

I : Kontrol (-) CMC-Na 1%

II : Kontrol pembanding (Asam mefenamat dosis 9 mg / 200 gram BB tikus)

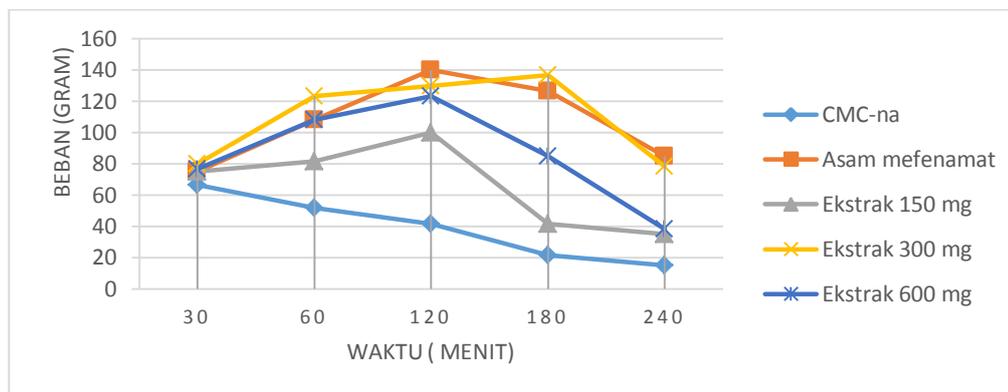
III : Ekstrak daun duwet dosis 150 mg / kg BB

IV : Ekstrak daun duwet dosis 300 mg / kg BB

V : Ekstrak daun duwet dosis 600 mg / kg BB

a : Berbeda bermakna dengan kontrol negative

b : Berbeda bermakna dengan kontrol positif



Gambar 8. Data rata-rata beban vs waktu pada ekstrak etanol daun duwet

Berdasarkan gambar 8 penetapan dosis efektif ekstrak etanol daun duwet diperoleh hasil bahwa pada CMC Na respon analgesik yang diberikan mengalami penurunan dari menit awal sampai menit akhir. Asam mefenamat sebagai kontrol positif memberikan respon analgesik pada menit ke 30 dan mengalami puncak analgesik pada menit ke 120. Ekstrak etanol dosis 150 mg/kg bb dan 600 mg/kg bb memiliki respon analgesik pada menit ke 30 dan mengalami puncak respon analgesik pada menit ke 120. Ekstrak etanol dosis 300 mg/kg bb memiliki respon analgesik pada menit ke 30 dan terjadi puncak respon analgesik pada menit ke 180.

Berdasarkan hasil penetapan dosis efektif ekstrak etanol daun duwet menunjukkan bahwa ketiga dosis ekstrak yang digunakan memiliki efek analgesik. Pada dosis 150 mg/kg bb memiliki respon analgesik yang lebih rendah dibanding dosis yang lain karena dosis yang diberikan ke hewan uji kecil. Pada dosis 300 mg/kg bb memiliki respon analgesik yang lebih baik dibanding dosis 600 mg/kg bb.

2. Pengujian aktivitas analgesik

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik ekstrak dan fraksi-fraksi daun duwet dengan mengukur kemampuan senyawa uji dalam mengatasi sensasi nyeri. Sensasi nyeri muncul akibat adanya tekanan yang diberikan dengan beban tertentu sampai menghasilkan respon nyeri yang ditandai dengan penarikan kaki tikus. Sensasi nyeri timbul apabila terjadi suatu rangsangan yang melampaui suatu nilai ambang tertentu sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Rangsangan yang dihasilkan akan disalurkan ke otak melalui sumsum tulang belakang hingga sampai di implus thalamus dan menghasilkan rasa nyeri (Tjay & Rahardja 2002). Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *analgesimeter* yang dirangsang untuk menjalankan uji obat – obat

analgesik secara cepat dan tepat pada telapak kaki tikus normal atau yang sudah mengalami peradangan.

Pada penelitian ini dosis ekstrak yang digunakan yaitu 300 mg / kg BB (60 mg / 200 gram BB tikus) yang didapatkan dari hasil orientasi dosis efektif, dosis fraksi n-heksan yaitu 1,435 mg / 200 gram BB tikus, dosis etil asetat 27,204 mg / 200 gram BB tikus, dosis air 31,360 mg / 200 gram BB tikus. Kontrol pembanding yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam mefenamat dengan dosis 9 mg/ 200 gram BB tikus. Asam mefenamat digunakan sebagai kontrol pembanding karena telah terbukti memiliki efek analgesik. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu CMC Na dengan konsentrasi 1%.

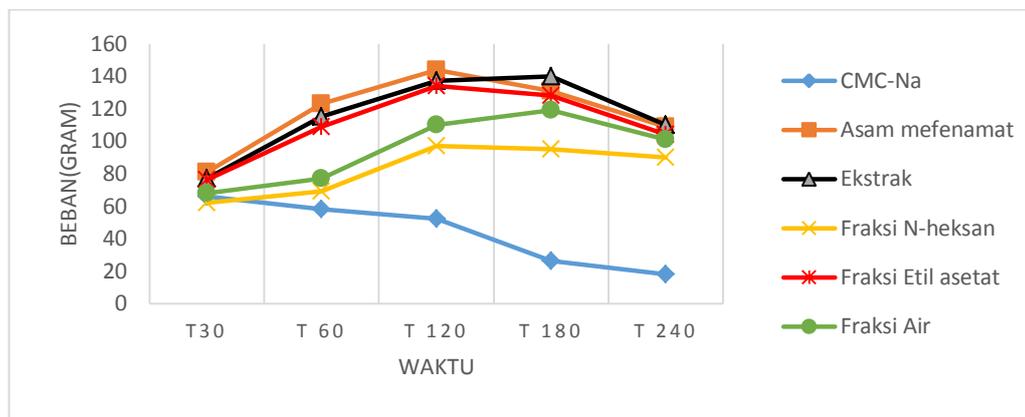
Pengamatan dilakukan pada menit ke 0, menit 30, menit 60,120,180 dan 240, kemudian dicatat waktu respon nyeri berupa penarikan kaki yang dilakukan hewan uji. Hasil pengamatan diperoleh data berupa berat tekanan yang diberikan hewan uji tiap satuan waktu. Hasil data yang diperoleh selanjutnya dihitung AUC dengan menggunakan metode trapezoid. Data AUC tiap- tiap waktu pengamatan dijumlah sehingga diperoleh AUC total. Hasil rata-rata peningkatan ambang nyeri oleh tekanan dengan beban tertentu pada kelompok perlakuan tiap waktu dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 12. Hasil rata-rata peningkatan ambang nyeri ekstrak dan fraksi

Kelompok perlakuan	Rata-rata peningkatan tekanan \pm SD				
	$\Delta T_1(T_{30}-T_0)$	$\Delta T_2(T_{60}-T_0)$	$\Delta T_3(T_{120}-T_0)$	$\Delta T_4(T_{180}-T_0)$	$\Delta T_5(T_{240}-T_0)$
I	66,0 \pm 4,1bc	58,0 \pm 5,7bc	52,0 \pm 5,7bc	26,0 \pm 2,2bc	18,0 \pm 4,4bc
II	81,0 \pm 4,1a	123,0 \pm 7,5a	144,0 \pm 8,2a	131,0 \pm 6,5a	109,0 \pm 4,1a
III	77,0 \pm 5,7a	115,0 \pm 3,5a	137,0 \pm 2,7a	140,0 \pm 5,0a	110,0 \pm 5,0a
IV	62,0 \pm 4,4bc	69,0 \pm 4,1abc	97,0 \pm 4,4abc	95,0 \pm 6,1abc	90,0 \pm 5,0abc
V	76,0 \pm 6,5a	109,0 \pm 6,5ab	134,0 \pm 6,5a	128,0 \pm 5,7a	104,0 \pm 6,5a
VI	68,0 \pm 4,4b	77,0 \pm 2,7abc	110,0 \pm 7,9abc	119,0 \pm 9,6ac	101,0 \pm 12,9a

Keterangan :

- I : Kontrol (-) CMC-Na 1%
- II : Kontrol pembanding (Asam mefenamat dosis 9 mg / 200 gram BB tikus)
- III : Ekstrak daun duwet dosis 300 mg / kg BB
- IV : Fraksi n-heksan 1,435 mg / 200 gram BB tikus
- V : Fraksi etil asetat 27,204 mg / 200 gram BB tikus
- VI : Fraksi Air 31,360 mg / 200 gram BB tikus
- a : Berbeda bermakna dengan kontrol negatif
- b : Berbeda bermakna dengan kontrol positif
- c : Berbeda bermakna dengan Ekstrak



Gambar 9. Data rata-rata tekanan vs waktu pada ekstrak dan fraksi etanol daun duwet

Berdasarkan gambar 9 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif yaitu CMC Na pada menit awal sampai menit akhir mengalami penurunan reaksi tikus dalam menahan rangsangan nyeri. Kelompok kontrol negatif ini memberikan daya tahan beban reaksi tikus dalam menahan rangsangan nyeri yang sangat berbeda dibandingkan kelompok uji yang lain. Hal ini terjadi karena CMC Na digunakan sebagai kontrol negatif yang tidak memiliki kemampuan dalam menangani nyeri karena tidak mengandung zat aktif. Pengujian menggunakan kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan ada atau tidaknya aktivitas analgesik terhadap kelompok kontrol positif maupun kontrol perlakuan yang lain (Syamsul et al. 2016).

Kelompok pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam mefenamat. Asam mefenamat memberikan respon analgesik pada menit ke 30 dan terjadi puncak respon analgesik pada menit ke 120. Pada manusia efek analgesik asam mefenamat mencapai puncak pada waktu 2-4 jam (Oktavianus et al. 2014). Menurut Gunawan (2007) faktor perbedaan spesies antara manusia dengan hewan uji mungkin bisa menyebabkan perbedaan proses metabolisme, namun efek analgesik asam mefenamat sesuai dengan teori yaitu efek analgesik mencapai puncak dalam waktu 2-4 jam.

Kelompok ekstrak etanol daun duwet dengan dosis 300 mg / 200 gram bb tikus mulai memberikan respon analgesik pada menit ke 30 dan terjadi puncak respon analgesik pada menit ke-180. Fraksi n-heksan dengan dosis 1,435 mg / 200 gram BB tikus menunjukkan rata-rata daya tahan beban yang lebih rendah

dibanding dengan fraksi-fraksi yang lain. Fraksi n-heksan mulai memberikan respon analgesik pada menit ke 30 dan mengalami puncak respon analgesik pada menit ke-120. Pada fraksi etil asetat dengan dosis 27,204 menunjukkan rata-rata daya tahan beban paling tinggi dibanding dengan fraksi-fraksi yang lain. Fraksi etil asetat mulai memberikan respon analgesik pada menit ke 30 dan terjadi puncak respon analgesik pada menit ke 120. Pada fraksi air dengan dosis 31, 360 mg / 200 gram BB tikus menunjukkan respon analgesik pada menit ke 30 dan puncak respon analgesik terjadi pada menit ke 180. Peningkatan ambang nyeri yang terjadi menunjukkan adanya daya hambat nyeri sehingga tikus dapat menahan beban yang diberikan dalam waktu tertentu.

Keseluruhan data respon peningkatan ambang nyeri yang berupa peningkatan daya tahan beban selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai AUC.

Tabel 13. Data AUC pada kelompok perlakuan.

Kelompok perlakuan	Data AUC (rata-rata \pm SD)
I	8820 \pm 493,521bc
II	26520 \pm 1230,78a
III	26250 \pm 783,023a
IV	18255 \pm 834,491abc
V	24825 \pm 1386,99a
VI	21255 \pm 1418,67abc

Keterangan :

- I : Kontrol (-) CMC-Na 1%
- II : Kontrol pembanding (Asam mefenamat dosis 9 mg / 200 gram BB tikus)
- III : Ekstrak daun duwet dosis 300 mg / kg BB
- IV : Fraksi n-heksan 1,435 mg / 200 gram BB tikus
- V : Fraksi etil asetat 27,204 mg / 200 gram BB tikus
- VI : Fraksi Air 31,360 mg / 200 gram BB tikus
- a : Berbeda bermakna dengan kontrol negatif
- b : Berbeda bermakna dengan kontrol positif
- c : Berbeda bermakna dengan ekstrak

Daya aktivitas analgesik pada sediaan uji ditunjukkan dengan data AUC. Data AUC yang diperoleh dilakukan uji statistik dengan one way ANOVA. Hasil statistik menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun duwet memiliki efek analgesik. Ekstrak memiliki nilai AUC sebanding dengan asam mefenamat dan memiliki nilai AUC yang lebih besar dibanding fraksi. Hal ini terjadi karena kandungan senyawa kimia yang berkontribusi memberikan efek analgesik lebih besar terdapat pada ekstrak dibanding fraksi. Senyawa kimia yang diduga

berkontribusi memberikan efek analgesik yaitu alkaloid, flavonoid dan tanin. Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan bekerja pada reseptor khas pada sistem syaraf pusat, sehingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (Safitri 2013). Flavonoid bekerja sebagai analgesik dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah local, sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat cyclooksigenase-1 (Hassan *et al.* 2012).

Fraksi etil asetat memiliki nilai AUC sebanding dengan asam mefenamat dan memiliki nilai AUC yang lebih besar dibanding fraksi yang lain, karena senyawa pada daun duwet yang dapat memiliki efek analgesik lebih banyak terlarut pada senyawa semi polar. Senyawa kimia yang terlarut dalam etil asetat yang diduga memiliki aktivitas analgesik yaitu alkaloid, flavonoid dan tanin. Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat cyclooksigenase-1 (Hassan *et al.* 2012). Flavonoid juga menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan (Syamsul *et al.* 2016). Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan bekerja pada reseptor khas pada sistem syaraf pusat, sehingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (Safitri 2013).

Fraksi air tidak sebanding dengan asam mefenamat tetapi memiliki nilai AUC yang lebih besar dibanding fraksi n-heksan, karena rendemen fraksi air yang dihasilkan lebih besar dibanding fraksi n heksan. Sehingga dosis yang diberikan ke hewan uji juga lebih besar.

Fraksi n-heksan memiliki AUC yang lebih rendah dibanding dengan yang lain. Hal ini dapat terjadi akibat adanya pengaruh dosis yang diberikan pada hewan uji. Senyawa yang terdapat pada fraksi n heksan adalah alkaloid, tanin, terpenoid dan steroid. Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan cara bekerja pada reseptor khas pada sistem syaraf pusat, sehingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (Safitri 2013). Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat cyclooksigenase-1 (Hassan *et al.* 2012). Steroid

memiliki efek analgesik meskipun mekanisme kerjanya belum jelas. Hal tersebut mungkin berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi. Adanya aktivitas antiinflamasi mengakibatkan penurunan produksi berbagai mediator inflamasi yang memainkan peran utama dalam memperkuat dan mempertahankan persepsi nyeri, selain itu steroid juga meningkatkan kadar endorpin (Grover *et al.* 2007)