

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi Tanaman Sirih Merah**

Determinasi tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan, serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Berdasarkan surat determinasi no 038/UN27.9.6.4/Lab/2019 menyatakan bahwa hasil determinasi tanaman sirih merah sesuai dengan pustaka maka dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian adalah sirih merah (*Piper crocatum*). Hasil determinasi pada lampiran 1.

#### **B. Pengumpulan Bahan**

##### **1. Hasil pengeringan daun sirih merah**

Hasil perolehan rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah sirih merah dapat dilihat pada table 2.

Berat Basah (g)	Berat Kering (g)	Rendemen (%)
5.000	2.700	54

Berat basah daun sirih merah sebesar 5.000 gram kemudian dikeringkan sehingga diperoleh berat kering sebesar 4.000 dengan perolehan persentase rendemen 54% terhadap berat basah. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

##### **2. Hasil pembuatan serbuk daun sirih merah**

Daun sirih merah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan pengayak nomor 40 *mesh*. Proses penghalusan serbuk dengan pengayak nomor 40 *mesh* bertujuan untuk memperoleh partikel bahan yang halus sehingga proses penyarian berlangsung dengan efektif. Selain itu, ukuran partikel tidak boleh terlalu kecil karna dikhawatirkan pada saat penyarian partikel akan lolos pada kertas saring. Berikut adalah persentase perolehan serbuk simplisia

terhadap berat kering daun sirih merah, perhitungan persen rendemen dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 3. Rendemen berat serbuk terhadap daun kering**

Berat Kering (g)	Berat Serbuk (g)	Rendemen (%)
2.700	2.500	92,59

### 3. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah

Ekstrak etanol daun sirih merah diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi, metode ini dipilih karena pengerjaannya yang sederhana, dapat menghindari dari kerusakan senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan dan biasanya digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari (Voight 1995). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, dipilih karena bersifat universal, aman dan dapat menyari zat-zat yang bersifat polar dan non polar.

Wadah maserasi yang dipilih adalah wadah kaca gelap yang bertujuan untuk menghindari rusaknya bahan aktif dari paparan sinar matahari secara langsung, disimpan pada suhu kamar selama 7 hari dan dilakukan penggocokan tiap 6 jam sekali agar zat aktif tersari dengan maksimal pada pelarut. Penyarian pelarut menggunakan kain flanel dan kertas saring agar bebas dari residu. Proses penguapan pelarut dilakukan dengan *rotary evaporatory* pada suhu 50<sup>0</sup>C, sehingga mencegah rusaknya senyawa aktif yang tidak stabil pada suhu tinggi, setelah itu dilakukan proses pemekatan ekstrak pada oven dengan suhu 50<sup>0</sup>C hingga diperoleh berat konstan dari ekstrak etanol daun sirih merah. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirih merah dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun sirih merah**

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1.000	87,829	8,782

### 4. Hasil penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan terhadap ekstrak etanol daun sirih merah cara destilasi menggunakan rangkaian alat *sterling bidwell*. Cairan pembawa yang

digunakan adalah toluen, dipilih karena memiliki berat jenis yang lebih rendah dibandingkan dengan air serta tidak dapat bercampur dengan air. Penetapan kadar air dilakukan dengan tiga replikasi untuk mendapatkan hasil yang akurat. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah**

Penimbangan (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
10	1	10
10	0,9	9
10	0,8	8
Rata-rata±SD		9±1

Rata-rata penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah sebesar  $9\% \pm 1$ , artinya ekstrak etanol daun sirih merah pada penelitian ini sesuai dengan kadar air yang telah dipersyaratkan, yaitu kadar air tidak boleh lebih dari 10% (Depkes 2008). Hal ini bertujuan untuk menghindari pertumbuhan jamur dalam ekstrak melalui media air, bila kadar air terlalu tinggi akan mempengaruhi kestabilan ekstrak. Hasil perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 7.

### 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun sirih merah

Hasil pengujian ekstrak etanol daun sirih merah diperoleh hasil ekstrak tidak berbau ester (etil asetat) atau dinyatakan bebas etanol. Pengujian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujian pada hewan uji.

### 6. Hasil pembuatan fraksi daun sirih merah

Ekstrak etanol daun sirih merah difraksinasi menggunakan 3 macam pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Hasil perhitungan fraksi yang diperoleh dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 6. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun sirih merah**

Berat Ekstrak (g)	Fraksi	Berat Fraksi (g)	Rendemen (%)
10	<i>n</i> -heksana	1,158	11,59
	Etil asetat	0,859	8,59
	Air	5,345	53,45
Total rendemen			73,63

Rendemen dari setiap fraksi berbeda-beda berdasarkan kemampuan dari setiap pelarut yang digunakan untuk menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sirih merah.

## 7. Hasil identifikasi KLT

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air daun sirih merah dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun sirih merah dapat dilihat pada lampiran 8.

**Tabel 7. Hasil identifikasi ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun sirih merah**

Kandungan kimia	Ekstrak etanol	Fraksi <i>n</i> -heksanan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	+	+	+	-
Steroid	+	+	+	+
Minyak atsiri	+	+	+	-
Alkaloid	+	-	+	+
Tanin	+	-	+	-

Keterangan :

- + : mengandung senyawa
- : tidak mengandung senyawa

Fraksi *n*-heksana positif mengandung senyawa flavonoid, minyak atsiri dan steroid hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ajeng (2018) fraksi *n*-heksana positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, dan triterpenoid.

Fraksi etil asetat positif mengandung senyawa yang sama dengan ekstrak etanol daun sirih merah karena etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mampu menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga non polar. Pada hasil KLT positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang sesuai dengan penelitian Sudewo (2005) dan penelitian Ajeng (2018). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam sirih merah pada penelitian Wina *et al.* (2015) adalah golongan flavonol yang termasuk dalam senyawa non polar, sehingga senyawa flavonoid pada uji KLT positif dalam fraksi *n*-heksana dan etil asetat.

Fraksi air positif mengandung senyawa steroid dan alkaloid, senyawa steroid yang terdapat dalam fraksi air pada lempeng KLT tidak memberikan nilai RF yang tinggi dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan etil asetat.

### C. Uji Efek Analgesik Metode *Tail flick*

Pengujian aktivitas analgesik pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aktivitas analgesik pada ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, air daun sirih merah yang sebanding dengan kontrol positif (Tramadol) sebagai analgesik *non perifer* dan golongan senyawa dari fraksi teraktif ekstrak etanol berdasarkan presentase hambat nyeri paling tinggi. Pada penelitian ini menggunakan sediaan uji ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100mg/200gbb dan fraksi *n*-heksana 15,727mg/200gbb, fraksi etil asetat 11,666mg/200gbb, dan fraksi air 72,606mg/200gbb dosis fraksi dihitung berdasarkan dosis ekstrak etanol daun sirih merah. Kontrol positif bertujuan untuk membandingkan apakah kelompok perlakuan bahan alam memiliki aktivitas yang sebanding dengan kontrol positif (tramadol). Sebagai obat pembanding dosis efektif analgesik tramadol adalah 0,9mg/200gbb. Tramadol dipilih karena merupakan analgesik yang bekerja pada sistem saraf pusat yang mampu mengatasi nyeri hebat baik nyeri akut maupun kronis (Moffat 2004). Kontrol negatif dimaksudkan untuk menunjukkan profil induksi dan menjamin pembawa yang digunakan tidak menimbulkan efek pada hewan uji. Pengujian analgesik ini menggunakan metode *tail flick* dengan alat *Tail flick analgesy-meter* untuk menguji efektivitas analgesik sentral pada ekor hewan uji, alat ini dilengkapi dengan tombol *on/off*, *stopwatch* yang bekerja secara otomatis, suhu ruang, sinar inframerah 70<sup>0</sup>C dan perangkat hewan uji. Parameter pada pengujian ini adalah waktu reaksi yang diberikan hewan uji berupa penarikan atau penjentikan ekor setelah pemberian rangsang panas dengan sinar inframerah 70<sup>0</sup>C, pengujian ini dilakukan selama 120 menit dengan selang waktu tiap 30 menit. Berikut adalah hasil rata-rata waktu respons hambat nyeri pada kelompok perlakuan tiap waktu dilihat pada tabel 8, lampiran 13.

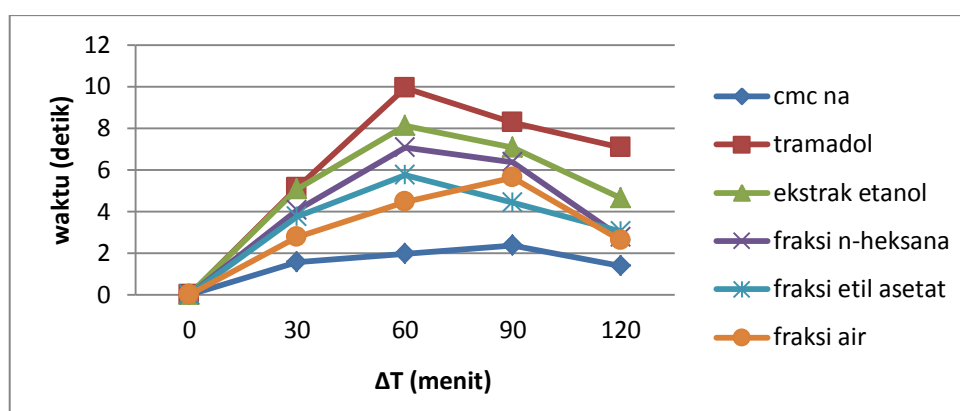
**Tabel 8. Hasil data rata-rata selisih waktu respons hambat nyeri metode tail flick**

Kelompok perlakuan	Rata-rata selisih waktu (detik)			
	$\Delta T_1(T_{30}-T_0)$	$\Delta T_2(T_{60}-T_0)$	$\Delta T_3(T_{90}-T_0)$	$\Delta T_4(T_{120}-T_0)$
Kontrol negatif (CMC)	1,59±1,41 <sup>b</sup>	1,97±1,17 <sup>b</sup>	2,38±0,76 <sup>b</sup>	1,4±0,5 <sup>b</sup>
Kontrol positif (Tramadol)	5,14±1,53 <sup>a</sup>	9,92±2,05 <sup>a</sup>	8,28±1,63 <sup>a</sup>	7,08±2,15 <sup>a</sup>
Ekstrak	5,09±1,39 <sup>a</sup>	8,12±1,58 <sup>a</sup>	7,07±2,9 <sup>a</sup>	4,66±2,57 <sup>a</sup>
Fraksi <i>n</i> -heksana	4,06±1,31 <sup>a</sup>	7,07±1,07 <sup>ab</sup>	6,37±1,8 <sup>a</sup>	2,78±0,93 <sup>ab</sup>
fraksi etil asetat	3,77±0,99 <sup>a</sup>	5,76±1,5 <sup>ab</sup>	4,44±2,8 <sup>b</sup>	3,05±2,64 <sup>b</sup>
Fraksi air	2,77±0,81 <sup>b</sup>	4,46±1,35 <sup>ab</sup>	5,64±1,69 <sup>a</sup>	2,63±1,62 <sup>b</sup>

Keterangan :

a : berbeda bermakna dengan kontrol negatif dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )

b : berbeda bermakna dengan kontrol positif dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )

**Gambar 8. Grafik data rata-rata selisih waktu respons hambat nyeri metode tail flick**

Pada menit ke-30 kelompok kontrol negatif memberikan respons yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif (tramadol) hal ini karena pemberian CMC tidak memiliki kemampuan hambat nyeri sehingga digunakan sebagai pembanding. Kelompok kontrol positif, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat memberikan respons yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif (CMC) yang menunjukkan bahwa bahwa tramadol belum memberikan respons peningkatan hambat nyeri yang signifikan dimana tramadol akan muncul didalam plasma selama 15-45 menit dan mencapai onset setelah satu jam yang mencapai konsentrasi plasma pada mean selama 2 jam (Grond *et al.* 2004), sehingga tidak berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan bahan alam. Kelompok perlakuan ekstrak etanol memberikan respons yang sebanding dengan tramadol karena ekstrak etanol dapat menarik senyawa non polar hingga polar, pelarut *n*-heksana menarik senyawa non polar, etil asetat menarik senyawa semipolar yang memberikan onset yang cepat karena mudah larut lemak atau

bersifat lipofilik sehingga lebih mudah menembus membran sel pada fase absorpsi (Juwita *et al.* 2017) dibandingkan dengan senyawa polar yaitu fraksi air yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif.

Tramadol diabsorpsi cepat diusus dan plasma efeknya dimulai setelah satu jam dan dapat bertahan selama enam hingga delapan jam (Tjay dan Rahardja 2002), yang sejalan dengan penelitian ini yaitu waktu peningkatan respons hambat nyeri yang tertinggi pada menit ke-60 yang dapat dilihat pada gambar 8. Ekstrak etanol memberikan respons yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif tetapi tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif hal ini karena ekstrak etanol mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, steroid, minyak atsiri, alkaloid dan tanin yang sesuai dengan penelitian Sudewo (2010), sehingga kemampuan hambat nyeri yang dihasilkan sebanding dengan tramadol. Pada kelompok fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air kemampuannya tidak sebanding dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif (tramadol) yang terlihat pada hasil statistik tabel 10.

Kelompok kontrol positif (tramadol), ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi air berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif (CMC), hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan masih memberikan respon hambat nyeri di menit ke-90, sedangkan pada kelompok fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan kontrol positif dan pada gambar 8 menunjukkan adanya penurunan respons hambat nyeri. Hal ini dapat terjadi karena pemberian dosis yang kecil pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 11,66mg/200gbb dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Respons penurunan hambat nyeri yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif pada menit ke-120 terjadi pada fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air hal ini dapat terjadi karena obat tradisional lebih cepat dieliminasi didalam tubuh sedangkan obat sintesis durasi-nya lebih lama, yang dapat dibuktikan pada kelompok perlakuan kontrol positif (tramadol) yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol berbeda bermakna dengan kontrol negatif hal ini karena pemberian dosis ekstrak etanol lebih besar dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Berdasarkan data rata-rata selisih waktu respons hambat nyeri pemberian ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air daun sirih merah mampu memperlama waktu reaksi hambat nyeri yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif secara statistik dengan uji LSD. Perhitungan nilai AUC dan persentase hambat nyeri diperoleh dari keseluruhan data waktu respons hewan uji pada tabel 9. Hasil statistik persentase hambat nyeri pada lampiran 16.

**Tabel 9. Data AUC dan persentase hambat nyeri metode *tail flick***

Kelompok uji	Data AUC (total±SD)	%PAN (Rata-rata±SD)
Kontrol negatif (CMC)	199,71±86,06	-
Kontrol positif (Tramadol)	806,76±146,106	74,55±4,85
Ekstrak daun sirih merah	678,54±183,16	68,17±11,35
Fraksi <i>n</i> -heksana	567,09±88,38	64,06±5,8
Fraksi etil asetat	465,09±179,16	51,53±19,18*
Fraksi air	426,24±89,07	50,96±13,16*

Keterangan :

\* : berbeda bermakna dengan kontrol positif (tramadol) dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )

Efektivitas analgesik pada tiap kelompok perlakuan ditunjukkan dengan persentase peningkatan hambat nyeri yang memberikan efek yang lebih besar atau sama dengan 50% dari kelompok kontrol negatif, maka dianggap efektif sebagai analgesik (Sirait *et al.* 1993). Berdasarkan table 9 hasil perolehan rata-rata persentase hambat nyeri yang dihasilkan oleh masing-masing kelompok >50% yang artinya kelompok perlakuan memiliki aktivitas analgesik. Berdasarkan data statistik ekstrak etanol daun sirih merah dan fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas analgesik yang sebanding dengan kontrol positif, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi air aktivitas analgesik tidak sebanding dengan kontrol positif.

Berdasarkan hasil statistik persentase hambat nyeri didapatkan fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas analgesik yang sebanding dengan kontrol positif (tramadol) sebesar 64,06%. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang terlarut dalam fraksi *n*-heksana yaitu flavonoid, steroid dan minyak atsiri yang diduga memiliki aktivitas sebagai analgesik dengan mekanisme kerja flavonoid dengan menghambat jalur 5-lipooksigenase dan jalur COX-2 yang memproduksi mediator nyeri seperti histamin, bradikin, leukotrien (Paval 2009). Steroid bekerja dengan menekan enzim fosfolipase sehingga menghambat pembentukan mediator-mediator inflamasi (Dhara *et al.* 2000), mediator inflamasi



dihambat sehingga dapat mempertahankan persepsi nyeri. Minyak atsiri juga memiliki aktivitas sebagai analgesik dan antiinflamasi (Kartasapoerta 1992), senyawa eugenol dari minyak atsiri memiliki aktivitas analgesik menurut Muller (2006). Sedangkan pada fraksi etil asetat dan fraksi air efeknya tidak sebanding dengan kontrol positif (tramadol). Hal ini dapat disebabkan oleh jumlah rendemen dan hasil uji identifikasi senyawa dimana fraksi etil asetat memberikan rendemen sebesar 8,59% yang lebih kecil dibandingkan dengan rendemen *n*-heksana yaitu sebesar 11,58% dan fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid, steroid, minyak atsiri tanin dan alkaloid. Sedangkan fraksi air pada KLT hanya positif mengandung steroid dan alkaloid. Rendemen fraksi ini akan berpengaruh pemberian dosis dimana semakin besar perolehan rendemen maka semakin besar pula dosis yang diberikan.

#### **D. Uji Efek Analgesik Metode *Randall Selitto***

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas analgesik dengan metode uji *Randall Selitto* dengan prinsip metode inflamasi yang meningkatkan sensitivitas nyeri dan dapat dikurangi dengan obat analgesik, guna mengetahui kemampuan analgesik yang mempengaruhi ambang reaksi terhadap rangsangan tekanan mekanis pada jaringan inflamasi. Pada penelitian ini menggunakan sediaan uji ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100mg/200gbb dan fraksi *n*-heksana 15,727mg/200gbb, fraksi etil asetat 11,666mg/200gbb, dan fraksi air 72,606mg/200gbb dosis fraksi dihitung berdasarkan dosis ekstrak etanol daun sirih merah. Kontrol positif yang digunakan adalah asam mefenamat dosis 9mg/200gbb dipilih karena merupakan analgesik golongan AINS (Anti Inflamasi Non Steroid) dan kontrol negatif menggunakan CMC. Peningkatan ambang nyeri menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang diinduksi secara *subcutan* pada telapak kaki tikus yang menyebabkan inflamasi. Pengujian ini dilakukan selama 4 jam tiap menit ke-30, 60, 120, 180, 240. Parameter pengujian pengamatan berupa data penarikan kaki hewan uji dengan peningkatan beban (gram). Berikut adalah hasil selisih rata-rata waktu respons hambat nyeri pada kelompok perlakuan tiap waktu dilihat pada tabel 10, hasil statistik dapat dilihat pada lampiran 19.

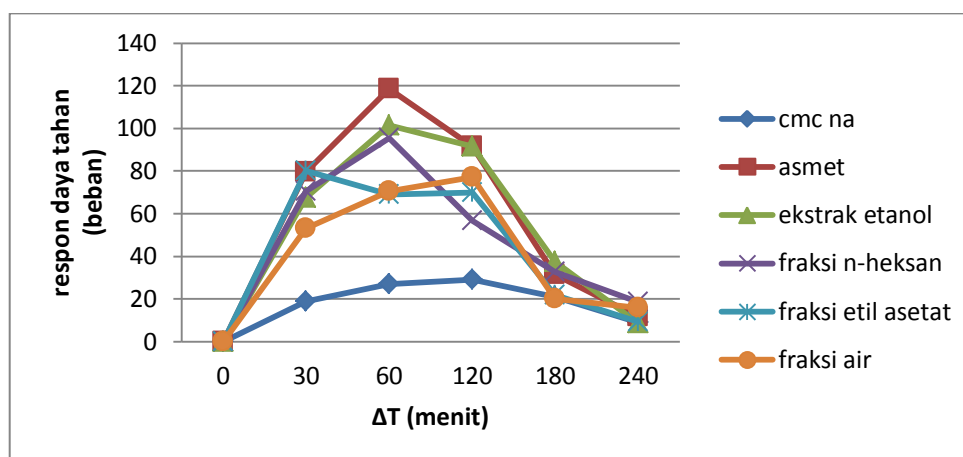
**Tabel 10. Hasil data selisih rata-rata waktu (beban) respons hambat nyeri metode *Randall Selitto***

Kelompok perlakuan	Rata-rata selisih waktu (beban)				
	$\Delta T_1(T_{30}-T_0)$	$\Delta T_2(T_{60}-T_0)$	$\Delta T_3(T_{120}-T_0)$	$\Delta T_4(T_{180}-T_0)$	$\Delta T_1(T_{240}-T_0)$
Kontrol negatif (CMC)	19±12,94 <sup>b</sup>	27±16,04 <sup>b</sup>	29±10,8 <sup>b</sup>	21±10,83	9±8,21
Kontrol positif (Asam mefenamat)	79,6±31,83 <sup>a</sup>	118,6±21,5 <sup>a</sup>	91,6±45,55 <sup>a</sup>	31,6±21,68	11,6±7,09
Ekstrak	67,6±14,53 <sup>a</sup>	101,6±44,38 <sup>a</sup>	91,6±20,74 <sup>a</sup>	37,6±20,52	8,6±8,93
<i>n</i> -heksana	70,6±13,2 <sup>a</sup>	95,6±2,16 <sup>a</sup>	56,6±41,5	32,6±35,93	18,6±6,1
Etil asetat	80±28,5 <sup>a</sup>	69±20,12 <sup>ab</sup>	70±50,86 <sup>a</sup>	22±19,55	9,2±12,14
Frakasi air	53±15,65 <sup>a</sup>	70,6±45,87	77±45,35	20±12,74	16±9,61

Keterangan :

a : berbeda bermakna dengan kontrol negatif dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )

b : berbeda bermakna dengan kontrol positif dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )



**Gambar 9. Grafik data rata-rata selisih waktu respons hambat nyeri metode *Randall Selitto***

Berdasarkan tabel 10 dan gambar 9 kelompok kontrol negatif (CMC) memberikan data berupa reaksi tikus menahan rangsang nyeri yang berbeda bermakna pada menit ke-30, 60, 120 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan, namun tidak berbeda bermakna pada menit ke 180 dan 240. Hal ini karena pemberian CMC tidak memiliki kemampuan menghambat nyeri. Menurut Fields (1999), nilai ambang nyeri pada masing-masing individu berbeda-beda. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian pada Tabel 9 yang menunjukkan bahwa terdapat variasi berat beban pada penarikan kaki tiap tikus meskipun dalam satu kelompok perlakuan yang sama. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena tiap-tiap individu memiliki variasi fisik dan psikis

yang berbeda seperti kondisi lambung, variasi kepekaan terhadap rangsang nyeri, serta adanya zat perangsang dan penghambat nyeri.

Pada menit ke-30 kelompok kontrol positif (asam mefenamat), ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air berbeda bermakna dengan kontrol negatif, artinya kelompok perlakuan mulai memberikan efek yang sebanding dengan kontrol positif. Hal ini dapat dikarenakan asam mefenamat belum memberikan efek peningkatan yang signifikan sebagai obat sintesis.

Pada menit ke-60 kelompok kontrol positif (asam mefenamat), ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana berbeda bermakna dengan kontrol negatif, bila dilihat pada grafik, terlihat bahwa puncak respons hambat nyeri asam mefenamat terjadi pada menit ke-60. Berbeda dengan pernyataan Wilman dan Gan (2007) yang menyatakan bahwa tablet asam mefenamat mencapai kadar puncak dalam plasma 2-4 jam setelah penggunaan dosis tunggal. Hal ini dapat terjadi karena tablet asam mefenamat yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dalam larutan stok artinya tablet asam mefenamat digerus terlebih dahulu sehingga obat lebih cepat diabsorpsi oleh tubuh dan menghasilkan efek lebih cepat. Sedangkan pada kelompok perlakuan fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan dengan kelompok kontrol positif dan negatif, artinya fraksi etil asetat memiliki aktivitas analgesik tetapi tidak sebanding dengan kontrol positif. Pada kelompok perlakuan fraksi air tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif.

Kelompok fraksi air mencapai puncak respons hambat nyeri pada menit ke-120 dimana bahan alam telah diabsorpsi dengan sempurna dalam tubuh hal ini sesuai dengan prinsip kerja obat yang bersifat polar atau hidrofilik yang melawati membran secara pasif sehingga absorpsi obat lebih lama dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. kelompok kontrol positif, ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan kontrol negatif, namun pada fraksi *n*-heksana dan fraksi air tidak berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan positif, dimana fraksi masih memberikan respon hambat nyeri.

Berdasarkan grafik pada gambar 8 terlihat bahwa pada kelompok perlakuan terjadi penurunan respons hambat nyeri yang tidak berbeda bermakna

dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif, artinya kelompok perlakuan sudah tidak memberikan efek menahan nyeri pada menit ke 180 dan 240.

Hasil daya tahan beban yang diperoleh pada semua kelompok perlakuan digunakan untuk menghitung AUC dan persentase hambat nyeri dapat dilihat pada tabel 11. Hasil statistik persentase hambat nyeri pada lampiran 22.

**Tabel 11. Data AUC dan persentase hambat nyeri metode *Randall Selitto***

Kelompok uji	Data AUC (total±SD]	%PAN (Rata-rata±SD]
Kontrol negatif (CMC 1%]	5055±1338,07	-
Kontrol positif (Asam mefenamat)	15465±2916,04	66,49±5,49
Ekstrak daun sirih merah	14610±2128,86	64,79±5,18
Fraksi <i>n</i> -heksana	12330±5416,53	53±17,36
Fraksi etil asetat	11301±3191,87	52,53±12,37
Fraksi air	11067±2938,3	51,38±13,89*

Keterangan :

\* : berbeda bermakna dengan kontrol positif (Asam mefenamat) dengan uji LSD ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan tabel 11 dapat terlihat perolehan persentase peningkatan hambat nyeri yang dihasilkan oleh kelompok pembanding dan kelompok perlakuan  $>50\%$  artinya kelompok perlakuan memiliki aktivitas sebagai analgesik (Sirait *et al.* 1993). Aktivitas analgesik yang sebanding dengan kontrol positif (asam mefenamat) adalah ekstrak etanol daun sirih merah, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, sedangkan fraksi air berbeda bermakna dengan kontrol positif. Hasil tersebut juga didukung oleh hasil uji statistik.

Berdasarkan hasil identifikasi KLT fraksi *n*-heksana positif mengandung flavonoid, minyak atsiri dan steroid yang diduga memiliki aktivitas sebagai analgesik. Pada fraksi etil asetat dengan persentase peningkatan hambat nyeri sebesar 52,53% memberikan efektivitas analgesik dengan hasil identifikasi KLT positif mengandung flavonoid, steroid, minyak atsiri, alkaloid dan tanin. Senyawa yang dicurigai berperan sebagai analgesik adalah flavonoid dan minyak atsiri dalam menghambat sintesis prostaglandin, menstabilkan reseptor nyeri (Middleton *et al* 2000), efek analgesik pada fraksi etil asetat tidak lebih besar dibanding dengan fraksi *n*-heksana. Hal ini dapat disebabkan oleh jumlah rendemen yang kecil yaitu sebesar 8,59% dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana sebesar 11,585%. Identifikasi KLT fraksi air positif mengandung steroid dan alkaloid dengan persentase peningkatan hambat nyeri sebesar 50,96% yang tidak

sebanding dengan kelompok kontrol positif (asam mefenamat) hal ini dapat dikarenakan kandungan senyawa aktif sebagai analgesik tidak terlalu kuat. Kandungan senyawa pada fraksi teraktif atau fraksi yang memberikan respons peningkatan hambat nyeri yang paling besar adalah fraksi *n*-heksana positif mengandung flavonoid, steroid dan minyak atsiri.