

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian Tanaman

1. Hasil determinasi tanaman koro

Determinasi tanaman koro dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Setia Budi, Surakarta. Tujuan Determinasi tanaman koro adalah untuk mengetahui kebenaran sampel yang diambil sesuai dengan ciri morfologi tanaman, untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam mengumpulkan bahan serta kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain. Hasil determinasi tanaman koro berdasarkan Steenis menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman koro (*Phaseolus lunatus* L.). Hasil dapat dilihat di lampiran 1.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun koro

Bahan penelitian yaitu daun koro diambil dari Desa Fatusene, Nusa Tenggara Timur pada bulan Januari 2019. Daun koro (*Phaseolus lunatus* L.) yang diambil memiliki ciri-ciri segar, berwarna hijau dan tidak busuk. Daun koro yang telah diperoleh dicuci dengan air mengalir agar bebas dari kotoran yang menempel, dirajang untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai kering. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dengan menghentikan reaksi enzimatis yang dapat menyebabkan penguraian atau perubahan kandungan kimia yang terdapat dalam daun dan mengurangi kadar air (Depkes RI 1985). Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena dapat mengurangi kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Pramesti 2017).

Daun koro yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai halus dan diayak menggunakan ayakan nomor 60. Menurut Noviantari *et al.* (2017) yang membandingkan ayakan nomor 40 dan ayakan nomor 60 zat yang terekstraksi lebih banyak adalah pada ayakan nomor 60. Hasil pengeringan daun koro dapat dilihat di tabel 1 dan perhitungan rendemen dapat dilihat dilampiran 6.

Tabel 1. Hasil pengeringan daun koro

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
3000	1500	50

3. Hasil pembuatan ekstrak daun koro

Serbuk daun koro diekstrak dengan pelarut etanol 96% karena etanol 96% dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik yang bersifat polar, non polar dan semi polar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhinya kapang dan kuman serta waktu pemanasan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI 1986). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga didapat ekstrak yang pekat. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengolahan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Depkes RI 1986). Data rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun koro

Serbuk daun koro (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
500	46,2545	9,25

4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun koro

Susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun koro ditentukan dengan menggunakan *Moisture balance* pada suhu 105°C. Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa yang hilang setelah pemanasan, tidak hanya menggambarkan air yang hilang tetapi senyawa menguap lain yang hilang (Depkes RI 2000). Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun koro

Bahan	Replikasi	Susut pengeringan (%)	Rata-rata susut pengeringan (%) \pm SD
Serbuk daun koro	1	4,0	4,43 \pm 0,51
	2	4,3	
	3	5,0	
Ekstrak daun koro	1	1,5	2,73 \pm 1,57
	2	2,2	
	3	4,5	

Tabel 3. Menunjukkan rata-rata hasil penetapan susut pengeringan untuk serbuk daun koro sebesar 4,43% dan untuk ekstrak daun koro sebesar 2,73%. Nilai ini menyatakan jumlah maksimal senyawa yang menguap atau hilang pada proses pengeringan. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun koro memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI 2008).

5. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun koro

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode destilasi *Sterling Bidwell* dengan pelarut toluen. Tujuan penetapan kadar air adalah untuk mengetahui kandungan air dalam sampel. Keberadaan air dalam sampel dapat memicu terjadinya kontaminan yang akan mempengaruhi kemurnian dari simplisia dan ekstrak yang berdampak pada mutu dan khasiatnya (Depkes RI 2000).

Menurut literatur *range* kadar air yang diperbolehkan untuk jenis ekstrak kental adalah antara 5-30% sementara untuk ekstrak cair adalah lebih besar dari 30% dan ekstrak kering adalah lebih kecil dari 5%. Semakin sedikit kadar air pada ekstrak maka semakin sedikit kemungkinan ekstrak terkontaminasi oleh pertumbuhan jamur (Haryani *et al.* 2013).

Hasil rata-rata penetapan kadar air serbuk daun koro adalah 4,83%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun koro memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI 2008). Pada ekstrak kental daun koro rata-rata kadar air adalah 11%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air ekstrak daun koro juga memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 30%.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun koro

Bahan	Berat (g)	Replikasi	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)	Rata-rata ± SD
Serbuk daun koro	20	1	1,0	5	4,83 ± 0,76
	20	2	1,1	5,5	
	20	3	0,8	4	
Ekstrak daun koro	5	1	0,5	10	11 ± 1,41
	5	2	0,6	12	

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun koro

Identifikasi kandungan ekstrak daun koro bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam daun koro. Identifikasi senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun koro

Kandungan kimia	Hasil	Pustaka	Kesimpulan
Alkaloid	Tidak terbentuk endapan jingga kemerahan (Dragendorff) atau endapan putih (Mayer) endapan coklat sampai hitam (Bouchardat) (Nugrahani <i>et al.</i> 2016).	Endapan jingga kemerahan (Dragendorff), endapan putih (Mayer) endapan coklat sampai hitam (Bouchardat) (Nugrahani <i>et al.</i> 2016).	-
Flavonoid	Terbentuk cincin jingga pada lapisan amil alkohol.	Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Nugrahani <i>et al.</i> 2016)	+
Tanin	Terbentuk warna hitam kehijauan.	Terbentuk warna biru atau hitam kehijauan (Nugrahani <i>et al.</i> 2016)	+
Saponin	Terbentuk buih yang stabil.	Terbentuk buih yang stabil (Nugrahani <i>et al.</i> 2016)	+
Steroid/triterpenoid	Tidak terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen dan tidak muncul warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.	Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen sedangkan munculnya warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid (Nugrahani <i>et al.</i> 2016).	-

Keterangan :

Positif (+) : mengandung senyawa kimia

Negatif (-) : tidak mengandung senyawa kimia

1.1. Alkaloid. Hasil identifikasi alkaloid pada ekstrak etanol daun koro dengan pereaksi Dragendorff, Mayer dan Bouchardat menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk endapan berwarna jingga kemerahan untuk reagen Dragendorff dan endapan berwarna putih untuk reagen Mayer (Nugrahani *et al.* 2016), serta endapan coklat sampai hitam untuk reagen Bouchardat (Wardani 2013). Hal ini sesuai dengan Depkes RI (1994) bahwa tanaman koro tidak mengandung alkaloid.

1.2. Flavonoid. Hasil identifikasi flavonoid dengan reaksi warna pada ekstrak etanol daun koro menunjukkan hasil positif karena terbentuknya cincin berwarna jingga pada lapisan amil alkohol. Identifikasi flavonoid dengan penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Flavonoid yang tereduksi dengan Mg dan HCl dapat memberikan warna merah, kuning atau jingga (Moniharapon *et al.* 2016). Hal ini sesuai dengan Depkes RI (1994) bahwa tanaman koro mengandung flavonoid.

1.3. Tanin. Hasil identifikasi tanin pada ekstrak etanol daun koro menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna hitam kehijauan. Hal ini sesuai dengan Depkes RI (1994) bahwa tanaman koro mengandung senyawa tanin.

1.4. Saponin. Hasil identifikasi saponin dengan reaksi hidrolisis pada ekstrak daun koro menunjukkan hasil positif karena terbentuknya buih atau busa yang stabil. Hal ini sesuai dengan Depkes RI (1994) bahwa tanaman koro mengandung saponin.

1.5. Steroid/triterpenoid. Hasil identifikasi steroid/triterpenoid pada ekstrak etanol daun koro menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen sedangkan munculnya warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid (Nugrahani *et al.* 2016).

B. Hasil Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Koro

Pengujian aktivitas analgetika dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode *Tail flick test* (jentik ekor) dan metode *Writhing test* (geliat). Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret dengan nomor surat 222/II/HREC/2019. Hewan yang digunakan sebagai objek penelitian diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, dengan tujuan untuk memberikan waktu kepada hewan beradaptasi dengan lingkungan baru dan untuk mengurangi stres (Delisma *et al.* 2016). Sebelum perlakuan, masing-masing mencit dipuaskan selama 18 jam tetapi air minum tetap diberikan. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari kemungkinan adanya pengaruh makanan terhadap kandungan bahan berkhasiat dari daun koro yang dapat mempengaruhi efek analgesik yang ditimbulkan. Ekstrak etanol daun koro sebagai kelompok uji pada penelitian ini dibagi dalam 3 variasi dosis yaitu dosis 65, 130 dan 260 mg/kgBB.

1. Pengujian aktivitas analgesik Metode *Tail flick*

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik sentral dari ekstrak etanol daun koro dengan tiga variasi dosis yaitu dosis 65, 130 dan 260 mg/kgBB. Parameter yang diamati adalah total waktu yang dibutuhkan mencit

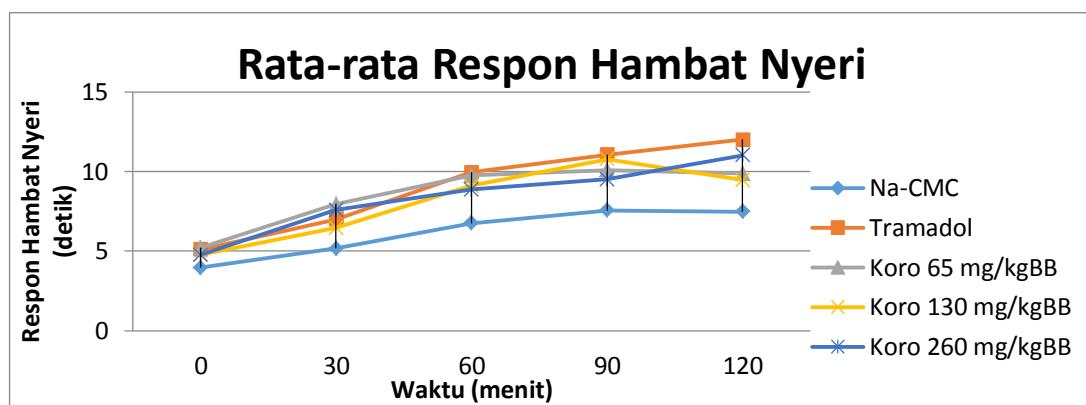
untuk menjentikkan ekor. Alat yang digunakan pada pengujian ini adalah *analgesy-meter* yang dilengkapi dengan stopwach dan suhu ruangan. Suhu yang digunakan pada penelitian ini adalah 50°C. Menurut Delisma *et al.* (2016) suhu diatas 48°C dapat menyebabkan perangsangan yang kuat pada reseptor nyeri sehingga menghasilkan sensasi nyeri yang hebat. Rasa nyeri terjadi karena adanya rangsangan yang menyebabkan terlepasnya mediator nyeri. Faktor yang mempengaruhi penggunaan alat *analgesy-meter* adalah kondisi hewan uji dan ketepatan dalam membaca waktu setelah hewan uji mengibaskan ekor.

Kontol positif atau pembanding yang digunakan pada metode ini adalah tramadol. Pemilihan tramadol dikarenakan tramadol adalah analgesik opioid sintetik yang bekerja sentral untuk mengatasi nyeri sedang hingga berat. Secara klinik tramadol memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan opioid lainnya dalam hal depresi pernafasan, konstipasi dan bahaya adiksi (Tjay & Raharja 2007).

Pengujian aktivitas analgesik didapatkan data kuantitatif rata-rata waktu (detik) hewan uji dapat menahan rangsangan nyeri dan SD. Hasil dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata waktu (detik) respon hambatan nyeri

Kelompok	Rata-rata waktu respon hambatan nyeri (detik) ± SD			
	30'	60'	90'	120'
Na-CMC	5,16 ± 0,88	6,76 ± 1,64	7,56 ± 1,51	7,47 ± 1,48
Tramadol	7,00 ± 1,34	9,95 ± 2,96	11,05 ± 2,56	12,01 ± 2,13
Koro 65 mg/kgBB	7,93 ± 1,06	9,21 ± 1,89	10,10 ± 1,72	9,70 ± 1,34
Koro 130 mg/kgBB	6,45 ± 2,17	9,10 ± 2,82	10,78 ± 4,25	9,47 ± 3,84
Koro 260 mg/kgBB	7,58 ± 1,14	8,86 ± 1,72	9,51 ± 2,76	11,22 ± 2,02



Gambar 15. Rata-rata waktu(detik) respon hambatan nyeri.

Berdasarkan gambar 15. menunjukkan hasil secara keseluruhan pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan hambatan nyeri. Kelompok kontrol negatif menghasilkan rata-rata nilai respon hambatan nyeri yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok yang lainnya. Hal ini sesuai dengan penelitian Ariasti (2018) yang menyatakan bahwa Na-CMC sebagai kelompok kontrol tidak memiliki kemampuan dalam meningkatkan hambatan nyeri dibandingkan dengan kelompok lainnya karena Na-CMC tidak mengandung zat aktif yang mampu menghambat rasa nyeri, sehingga tidak mampu menahan nyeri dalam waktu yang lebih lama. Pengujian dengan menggunakan kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan ada tidaknya aktivitas analgesik terhadap kelompok kontrol positif atau pembanding dan kelompok perlakuan serta memastikan bahwa penurunan jumlah geliat hanya disebabkan oleh pemberian sediaan uji (Syamsul *et al.* 2016).

Kelompok kontrol positif atau pembanding yang diberi tramadol terlihat pada menit ke-30 mampu menghasilkan peningkatan hambatan nyeri yang lebih besar dan terus meningkat sampai menit ke-120. tramadol merupakan obat analgesik yang bekerja sentral. Menurut Ajartha (2007) Tramadol bekerja dengan dua mekanisme yang saling memperkuat yaitu dengan reseptor opioid yang ada di spinal dan otak sehingga menghambat tranmisi sinyal nyeri dari perifer ke otak dan meningkatkan aktifitas saraf penghambat monoaminergik yang berjalan dari otak ke spinal sehingga terjadi inhibisi transmisi sinyal nyeri. Tramadol dimetabolisme di hati dan diekskresikan lewat urin. Tramadol mencapai efeknya dalam 1 jam dan mencapai puncaknya dalam 2-3 jam dan bertahan hingga 6 jam (Indra 2013).

Kelompok kontrol perlakuan yang diberi sediaan uji ekstrak etanol daun koro dengan tiga variasi dosis yaitu 65 mg/kgBB, 130 mg/kgBB dan 260 mg/kgBB rata-rata efek analgesik terlihat pada menit ke-30. Pada variasi dosis terendah 65 mg/kgBB efek analgesik menurun pada menit ke-120 yang berarti dosis tersebut mampu menghambat nyeri pada menit ke-30 dengan onset analgesik cepat namun mempunyai durasi pendek dibandingkan dengan kontrol positif dan ekstrak etanol daun koro dosis 130 dan 260 mg/kgBB.

Pada ekstrak etanol daun koro 130 mg/kgBB efek analgesik terlihat pada menit ke-30 dan terus meningkat hingga menit ke-90 pada menit ke-120 efek analgesik yang ditimbulkan menjadi menurun. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun koro dosis 130 mg/kgBB mampu memberikan efek analgesik dengan onset analgesik cepat namun mempunyai durasi yang pendek dibandingkan dengan kontrol positif dan ekstrak etanol daun koro dosis 260 mg/kgBB namun efek yang dihasilkan lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun koro dosis 65 mg/kgBB.

Pada ekstrak etanol daun koro dosis 260 mg/kgBB efek analgesik terlihat pada menit ke-30, dan terus meningkat sampai pada menit ke-120. Peningkatan hambatan nyeri dan efek analgesik yang dimunculkan terus meningkat menyerupai kontrol positif tramadol namun efek analgesik yang dihasilkan lebih kecil dibanding kontrol positif tramadol. Masing-masing dosis ekstrak, menyatakan adanya efek analgesik yang berbeda. Semua respon yang dihasilkan diduga masih dipengaruhi oleh respon alami tubuh saat mengalami nyeri, karena dalam tubuh terdapat analgesik alami yang disebut endorphin sehingga tubuh akan beradaptasi dengan stimulus nyeri yang akan menyebabkan peningkatan kekuatan nyeri dalam menahan rasa sakit (Goodman & Gilman 2006).

Aktivitas analgesik dinyatakan dalam persen hambatan nyeri untuk mendapatkan data waktu reaksi hambatan nyeri dengan hasil pada kelompok perlakuan. Hasil dapat dilihat pada tabel 7 dan persentase hambatan nyeri pada lampiran 14.

Tabel 7. Persentase hambatan nyeri

Kelompok	Rata-rata	% hambatan nyeri \pm SD
Tramadol	71,45	\pm 11,09 ^b
Koro 65 mg/kgBB	43,61	\pm 12,11 ^a
Koro 130 mg/kgBB	50,97	\pm 14,00
Koro 260 mg/kgBB	58,02	\pm 18,32

Keterangan :

^a= Berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p < 0,05$)

^b= Berbeda signifikan dengan kontrol 65 mg/kgBB ($p < 0,05$)

Persentase hambatan nyeri adalah besarnya kemampuan senyawa uji dalam mengatasi rasa nyeri akibat reaksi yang diberikan. Menurut Safitri (2013) daya

aktivitas analgesik pada sediaan uji ditunjukan dengan persentase hambat nyeri yang diberikan lebih besar atau sama dengan 50% dari kelompok kontrol negatif maka dianggap sebagai analgesik. Dari tabel diatas persentase hambat nyeri yang dihasilkan oleh ekstrak koro 65 mg/kgBB mencit adalah 43,61%, ekstrak koro 130 mg/kgBB adalah 50,97% dan ekstrak koro 260 mg/kgBB adalah 58,02%. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga variasi dosis ekstrak etanol daun koro terbukti mampu meningkatkan rata-rata reaksi sebagai respon nyeri, namun berdasarkan teori aktivitas analgesik pada sediaan uji ditunjukan dengan persentase hambat nyeri yang diberikan lebih besar atau sama dengan 50% maka yang sediaan uji yang memberikan aktivitas analgesik adalah ekstrak koro 130 mg/kgBB dan ekstrak koro 260 mg/kgBB sedangkan ekstrak koro 65 mg/kgBB tidak memberikan aktivitas analgesik karena persentase hambat nyeri yang diberikan lebih kecil 50%.

Hasil secara statisitik dengan uji *Shapiro Wilk* (lampiran 17) persentase hambat nyeri terdistribusi normal ($p>0,05$) dan uji *Levene* diperoleh nilai signifikansi 0,971 ($p>0,05$) artinya varians homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji *One way anova* dimana hasil menunjukkan $p=0,040$ ($p<0,05$) berarti terdapat perbedaan signifikan antara kelompok tramadol sebagai kontrol positif dengan ketiga variasi dosis ekstrak etanol daun koro yang dijelaskan pada uji *Post hoc tests* bahwa kelompok kontrol positif tramadol terdapat perbedaan signifikan dengan koro dosis 65 mg/kgBB sedangkan dengan koro dosis 130 mg/kgBB dan koro dosis 260 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan signifikan, begitupun kelompok koro dosis 65 mg/kgBB terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif tramadol, sedangkan dengan koro dosis 130 mg/kgBB dan koro dosis 260 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan signifikan. Berbeda dengan kelompok koro dosis 130 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif tramadol, koro dosis 65 mg/kgBB dan koro dosis 260 mg/kgBB, begitupun kelompok koro dosis 260 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif tramadol, koro dosis 65 mg/KgBB dan koro dosis 130 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok koro dosis 65 mg/kgBB belum mampu memberikan efek karena berbeda signifikan dengan kontrol positif tramadol,

sedangkan koro dosis 130 mg/kgBB dan koro dosis 260 mg/kgBB menunjukkan adanya efek analgesik sentral, namun efek analgesik yang dihasilkan tidak lebih besar dari tramadol sebagai kontrol positif atau pembanding.

2. Pengujian aktivitas analgesik metode *Writhing test*

Pengujian ini dilakukan untuk mengukur efek analgesik non narkotik atau perifer dari ekstrak etanol daun koro dengan tiga variasi dosis yang sama dengan metode sebelumnya. Hewan uji yang digunakan adalah hewan uji yang sama pada uji *Tail flick*, namun digunakan setelah *wash out* selama 2 minggu. *Wash out* dilakukan untuk menghindari efek yang mungkin ditimbulkan dari pengujian sebelumnya, memberikan waktu kepada tubuh mencit untuk memperbaiki diri jika ada kerusakan akibat pengujian metode sebelumnya dan memberikan waktu agar metabolisme tubuh mencit berjalan normal kembali seperti sebelum pengujian. Metode *Writhing test* merupakan suatu metode yang digunakan untuk menguji kemampuan suatu senyawa dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri. Prinsip dari metode ini adalah hewan uji diinduksi dengan senyawa kimia yang dapat menimbulkan nyeri. Respon nyeri diperlihatkan dengan gerakan menggeliat (kaki ditarik ke belakang hingga abdomen menyentuh lantai) (Ariasti 2018).

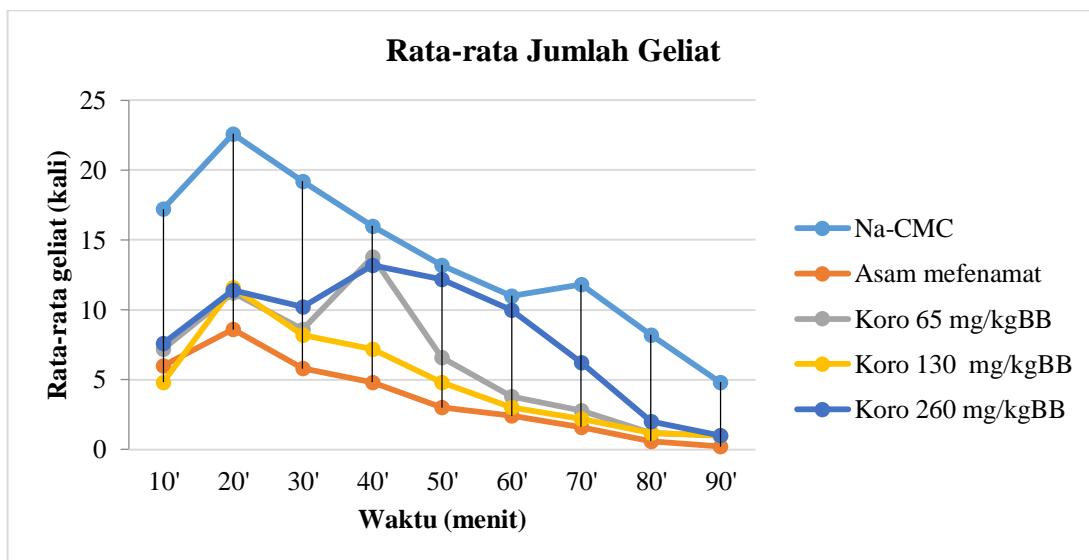
Pada penelitian ini metode *Writhing test* digunakan untuk pengujian analgesik non-narkotik. Prinsip metode ini adalah mengamati penurunan jumlah geliat yang terjadi akibat pemberian senyawa kimia asam asetat 1% v/v. Asam asetat dipilih karena dapat memberikan rangsangan nyeri yang cukup baik terhadap hewan uji dengan cara memicu respon inflamasi lokal akibat pelepasan asam arakhidonat bebas dari jaringan fosfolipid melalui sikloksigenase (COX) dan biosintesis prostaglandin, peningkatan prostaglandin dari induksi asam asetat meningkatkan nyeri inflamasi dengan meningkatkan permeabilitas kapiler dalam rongga peritonium (Ariasti 2018). Efek analgesik ditunjukkan dengan berkurangnya respon geliat yang ditimbulkan oleh hewan uji.

Pada penelitian ini ekstrak etanol daun koro diberikan dalam 3 variasi dosis yaitu dosis 65 mg/kgBB, 130 mg/kgBB dan 260 mg/kgBB. Kontrol positif atau pembanding yang digunakan dalam pengujian metode *Writhing test* ini adalah asam mefenamat sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah

Na-CMC 1%. Pengamatan dilakukan selama 90 menit dengan interval 10 menit. Hasil pengamatan memberikan memberikan data berupa jumlah geliat yang selanjutnya diolah untuk mendapatkan persentasi hambatan nyeri. Hasil rata-rata jumlah geliat pada kelompok perlakuan tiap waktu dapat di lihat pada tabel 8.

Tabel 8. Data rata-rata jumlah geliat

Kelompok	Rata-rata jumlah geliat tiap satuan waktu								
	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'
Na-CMC	17,2	22,6	19,2	16	13,2	11	11,8	8,2	4,8
Asam mefenamat	6	8,6	5,8	4,8	3	2,4	1,6	0,6	0,2
Koro 65 mg/kgBB	7,2	11,2	8,6	13,8	6,6	3,8	2,8	1,2	1
Koro 130 mg/kgBB	4,8	11,6	8,2	7,2	4,8	3	2,2	1,2	1
Koro 260 mg/kgBB	7,6	11,4	10,2	13,2	12,2	10	6,2	2	1



Gambar 16. Data rata-rata jumlah geliat

Dari grafik di atas menunjukkan penurunan jumlah geliat pada semua kelompok perlakuan dan menunjukkan bahwa keseluruhan kelompok perlakuan rata-rata geliat terjadi pada menit ke-20. Hal ini disebabkan karena asam asetat mempunyai onset yang cepat yaitu kurang dari 30 menit atau sekitar 5 menit dan kerja pendek yaitu sekitar 30 menit (Tanti *et al.* 2007). Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan Na-CMC 1% tidak mempunyai kemampuan dalam menangani nyeri karena tidak mengandung zat aktif terbukti dari rata-rata geliat yang dihasilkan paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Pengujian dengan menggunakan kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan ada tidaknya aktivitas analgesik terhadap kelompok

kontrol positif dan kelompok perlakuan serta memastikan bahwa penurunan jumlah geliat hanya disebabkan oleh pemberian sediaan uji (Syamsul *et al.* 2016).

Kelompok kontrol positif yang diberikan adalah asam mefenamat. Asam mefenamat digunakan karena asam mefenamat merupakan obat golongan NSAID yang lebih aman dibanding obat NSAID lainnya. Mekanisme asam mefenamat adalah menghambat kerja enzim siklooksigenase (COX). Asam mefenamat digunakan sebagai analgesik perifer. Asam mefenamat memiliki waktu paruh 2 jam dan waktu puncak 2-4 jam. Ikatan protein asam mefenamat >90% dan eliminasi ginjal sekitar 52% (Sukandar 2008). Asam mefenamat menunjukkan terjadinya penurunan rata-rata respon geliat hewan uji terhadap rangsangan nyeri. Efek analgesik pada kelompok kontrol positif terjadi pada menit ke-30 dan terus menurun sampai menit ke-90 dan juga terlihat bahwa respon geliat yang ditimbulkan kelompok kontrol positif asam mefenamat paling sedikit yang berarti asam mefenamat mempunyai efek analgesik yang baik.

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak dengan tiga variasi dosis rata-rata menunjukkan penurunan respon geliat pada menit ke-30. Ekstrak etanol daun koro dosis 65 mg/kgBB mengalami penurunan respon rata-rata geliat pada menit ke-30 dan meningkat pada menit ke-40 dan pada menit ke-50 efek analgesik terlihat lagi sampai menit ke-90. Pada ekstrak etanol daun koro dosis 130 mg/kgBB penurunan respon geliat terlihat pada menit ke-30 sampai menit ke-90 menyerupai kontrol positif asam mefenamat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun koro dosis 130 mg/kgBB mempunyai efek analgesik yang baik namun tidak lebih besar dari kontrol positif asam mefenamat.

Berbeda dengan ekstrak etanol daun koro dosis 260 mg/kgBB penurunan respon geliat terlihat pada menit ke-30 namun meningkat pada menit ke-40 dan menurun lagi pada menit ke-50 dan terus berkurang hingga menit ke-120. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun koro dosis 260 mg/kgBB memiliki efek analgesik dengan onset yang lebih lama dibandingkan dengan asam mefenamat sebagai kontrol positif. Dari hasil rata-rata jumlah geliat hewan uji kemudian digunakan untuk menghitung persentase daya analgesik (proteksi daya analgesik). Persentasi proteksi daya analgesik dihitung untuk mengetahui adanya perbedaan

aktivitas analgesik antar kelompok perlakuan dalam mengurangi respon geliat hewan uji yang di induksi asam asetat. Data persentase proteksi daya analgesik dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. % Proteksi daya analgesik

Kelompok	Rata-rata % proteksi daya analgesik ± SD
Asam mefenamat	69,44 ± 15,36
Koro 65 mg/kgBB	51,47 ± 15,94
Koro 130 mg/kgBB	59,15 ± 21,71
Koro 260 mg/kgBB	43,67 ± 17,23

Tabel 9. menunjukkan data persentase proteksi daya analgesik dari tiap kelompok perlakuan. Persentase analgesik menunjukkan seberapa besar kemampuan obat atau senyawa uji dalam melawan rasa nyeri setelah pemberian asam asetat. Hasil pada tabel menunjukkan dari tiga variasi dosis ekstrak etanol daun koro memiliki aktivitas analgesik, namun kemampuan sebagai analgesik tidak lebih besar dari asam mefenamat sebagai kontrol positif.

Hasil uji statisitik dengan uji *Shapiro Wilk* (lampiran 18) persentase hambat nyeri terdistribusi tidak normal ($p<0,05$) oleh karena itu dilanjutkan dengan uji *nonparametric test* dengan uji *Mann-Witney test*. Hasil uji statistik menunjukkan ketiga kelompok variasi dosis ekstrak etanol daun koro 65 mg/kgBB, 130 mg/kgBB dan 260 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif asam mefenamat sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga kelompok variasi dosis ekstrak etanol daun koro memiliki efek analgesik. Dosis ekstrak etanol daun koro 130 mg/kgBB mencit merupakan persentasi tertinggi dibawah persentasi kontrol positif asam mefenamat, dengan kata lain dosis 130 mg/kgBB merupakan dosis optimum sebagai analgesik. Ekstrak etanol daun koro dosis 65 mg/kgBB diyakini belum optimum sebagai analgesik yang setara dengan kelompok kontrol positif. Dosis ekstrak etanol daun koro 260 mg/kgBB juga memberikan aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan dosis 130 mg/kgBB, hal ini diduga terkait banyaknya senyawa dan bahan aktif pada ekstrak yang masing-masing bekerja secara tidak spesifik sehingga pada dosis yang lebih besar, ekstrak dapat memperparah atau tidak memberikan pengaruh yang lebih baik karena ekstrak bahan alam merupakan campuran multikomponen. dimana

komponen-komponen tersebut dapat saling sinergis atau antagonis (Kurniawan *et al.* 2014). Lusiana *et al.* (2013) juga mengungkapkan bahwa pemberian dosis yang berlebih dapat menyebabkan senyawa aktif bisa merugikan dimana dapat bersifat antagonis sehingga saling melemahkan efek.

Dari hasil uji analgesik ekstrak etanol daun koro dengan metode *Tail flick* dan *Writhing test* dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun koro mempunyai aktivitas analgesik perifer dan sentral. Hal ini diduga karena adanya kandungan kimia yang terdapat pada daun koro yaitu saponin, polifenol dan flavonoida (Depkes RI 1994). Saponin sebagai analgesik adalah dengan cara menghambat prostaglandin yang berperan menyebabkan peradangan dan menghambat kenaikan permeabilitas vaskuler (Fitriyani *et al.* 2011). Flavonoid sebagai analgesik bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga mengurangi nyeri. Tanin bekerja sebagai analgesik dengan cara menghambat oksidasi asam arakidonat menjadi endoperoksida dan menurunkan aktivitas enzim lipokksigenase (Sari 2010).

Ketiga variasi dosis ekstrak etanol daun koro dapat memberikan efek analgesik. Efek analgesik ekstrak etanol daun koro tertinggi secara berturut-turut pada metode *Tail flick* adalah dosis 260 mg/kgBB dengan perentase hambatan nyeri 58,02% dan dosis 130 mg/kgBB dengan perentase hambatan nyeri 50,97%. Berdasarkan persentase hambatan nyeri tersebut dapat disimpulkan bahwa dosis ekstrak etanol yang paling efektif sebagai analgesik pada mencit putih jantan (*Muss musculus*) yang diuji menggunakan metode *Tail flick* adalah koro dosis 260 mg/kgBB dengan persentase daya analgesik 58,02% karena memenuhi syarat yaitu persentase hambat nyeri yang dihasilkan lebih besar dari 50% dan berdasarkan uji statistik koro dosis 260 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan tramadol sebagai kontrol positif tetapi aktivitasnya tidak sebanding dengan tramadol. .

Efek analgesik ekstrak etanol daun koro tertinggi secara berturut-turut pada metode *Writhing test* adalah dosis 130 mg/kgBB dengan persentase proteksi analgesik 59,15%, dosis 65 mg/kgBB dengan persentase proteksi analgesik 51,47% dan dosis 260 mg/kgBB dengan perentase proteksi analgesik 43,67%.

Berdasarkan persentase proteksi analgesik tersebut dapat disimpulkan bahwa dosis ekstrak etanol yang paling efektif sebagai analgesik pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *Writhing test* adalah dosis 130 mg/kgBB dengan persentase proteksi analgesik 59,15% karena pada dosis dosis 130 mg/kgBB persentase proteksi analgesik yang dihasilkan adalah paling besar dibandingkan dengan kedua variasi dosis yang lainnya meskipun aktivitas yang dihasilkan tidak sebanding dengan asam mefenamat sebagai kontrol positif.