

UJI DAYA ANALGETIK DAN ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOLIK DAUN SINGKONG (*Manihot utilissima* Pohl.) PADA MENCIT GALUR SWISS

ANALGESIC AND ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF CASSAVA LEAF (*Manihot utilissima* Pohl.) ETHANOLIC EXTRACT IN MICE

¹Paulina Maya Octasari*, ²Daniar Kusuma Wardani, ³Elisabeth Lionida Sari

^{1,2,3}Prodi D3 Farmasi, Politeknik Katolik Mangunwijaya

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 2022-09-21

Accepted: 2022-12-28

Publish Online: 2022-12-29

Kata Kunci:

Daun singkong,
analgesik, antiinflamasi

Keywords:

Cassava leaves,
analgesic,
antiinflammatory

Abstrak

Latar belakang: Flavonoid merupakan senyawa yang dapat berfungsi sebagai analgetik dan antiinflamasi. Daun singkong diketahui mengandung flavonoid dengan kandungan utama rutin. Kandungan flavonoid rutin pada ekstrak etanolik daun singkong sebesar 4,987% sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanolik daun singkong (EEDS) dan pengaruh variasi dosis EEDS terhadap daya analgetik dan antiinflamasi. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental acak lengkap pola searah pada mencit berumur 2-3 bulan dan berat badan 20-30gram. Metode pengujian analgesik menggunakan metode geliat dengan penginduksi asam asetat 1%, sedangkan pengujian antiinflamasi menggunakan metode pengukuran tebal edema dengan penginduksi karagenin 1%. Hasil persen proteksi, perubahan persen proteksi, dan persentase daya antiinflamasi dianalisis secara statistik. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEDS berwarna hijau kehitaman, rasa pahit, susut pengeringan 7%, rendemen 12,31 %b/b dan positif mengandung flavonoid. **Simpulan:** Dosis EEDS yang semakin besar memberikan daya analgesik yang semakin tinggi akan tetapi memberikan daya antiinflamasi yang semakin rendah.

Abstract

Background: Flavonoids are compounds that can function as analgesics and anti-inflammatory. Cassava leaves are known to contain flavonoids with the main content of rutin. The routine flavonoid content in the ethanolic extract of cassava leaves is 4.987% so that it has the potential to be developed as traditional medicine. **Objective:** This study aimed to determine the analgesic and anti-inflammatory properties of cassava leaf ethanolic extract (EEDS) and the effect of varying doses of EEDS on analgesic and anti-inflammatory properties. **Methods:** This study was a completely randomized experimental study with a unidirectional pattern in mice aged 2-3 months and weighing 20-30 grams. Analgesic testing method used the stretching method with 1% acetic acid as the induction, while the anti-inflammatory test used the edema thickness measurement method with 1% carrageenin induction. The results of the percentage of protection, the change in the percentage of protection, and the percentage of anti-inflammatory power were statistically analyzed. **Results:** The results showed that EEDS was green-black in color, bitter in taste, 7% drying loss, 12.31% w/w yield and positive for flavonoids. **Conclusion:** The higher the dose of EEDS, the higher the analgesic power but the lower the anti-inflammatory power

PENDAHULUAN

Rasa nyeri merupakan respon sensoris pada tubuh yang menandakan kerusakan jaringan. Kerusakan jaringan terjadi karena adanya rangsangan mekanik, kimia atau fisik (kalor dan listrik) sehingga dapat menimbulkan rasa nyeri. Timbulnya rasa nyeri berfungsi untuk melindungi serta memberikan tanda bahaya tentang adanya gangguan di dalam tubuh (Rahmatia et al., 2018). Nyeri (dolor) juga merupakan salah satu gejala dari kondisi inflamasi yang terjadi di dalam tubuh. Inflamasi disebabkan karena pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak sehingga menyebabkan leukosit melepaskan enzim lisosom. Pada jalur siklooksigenase (COX), terjadi metabolisme asam arakidonat sehingga menghasilkan prostaglandin yang merupakan mediator inflamasi di dalam tubuh (Riansyah et al., 2016).

Pilihan obat analgetik dan antiinflamasi telah banyak beredar, namun masyarakat cenderung kembali ke alam (*back to nature*) yaitu dengan memanfaatkan tanaman sebagai pengobatan herbal untuk berbagai penyakit (Anshory et al., 2018). *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan tanaman obat dalam menjaga kesehatan masyarakat, pencegahan, dan pengobatan penyakit (Siahaan dan Aryastami, 2018). Penggunaan tanaman sebagai obat telah banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia secara turun – temurun. Salah satu tanaman yang dikembangkan sebagai obat adalah tanaman singkong (*Manihot utilissima* Pohl) (Rikomah et al., 2017).

Tanaman singkong sering digunakan sebagai obat rematik, asam urat, peradangan, nyeri haid, dan luka bakar akibat panas (Rikomah et al., 2017). Daun pada tanaman singkong memiliki kandungan senyawa saponin, vitamin C, triterpenoid, tanin dan flavonoid (Nurdiana, 2013). Senyawa flavonoid pada daun singkong memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan daun singkong dengan nilai IC₅₀ yaitu sebesar 92.10 mg/L yang tergolong antioksidan kuat (Hasim et al, 2016) dan mengandung total flavonoid 877,7 mg/100 g (Linn et al., 2018). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah kerusakan jaringan oleh radikal bebas. Radikal bebas pada tubuh yang terjadi reaksi secara terus – menerus dapat menyebabkan kerusakan protein, membran, dan jaringan. Penangkapan radikal bebas dapat mengurangi nyeri dan peradangan pada tubuh (Nadler, 2007).

Senyawa flavonoid juga berfungsi menghambat enzim siklooksigenase sehingga dapat mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga juga dapat mengurangi rasa nyeri (Syamsul et al., 2016). Ekstrak daun singkong dengan dosis terkecil 100 mg/KgBB tikus memiliki daya analgetik paling besar yaitu 75,4% (Yusuf dan Okechukwu, 2013). Aktivitas antiinflamasi erat hubungannya dengan aktivitas antioksidan. Antioksidan ini dapat mencegah terjadinya stress oksidatif yang mempengaruhi kestabilan sel darah merah sehingga dapat mencegah kerusakan membran

sel (Hasim et al., 2016). Berdasarkan latar belakang, maka perlu dilakukan pengujian daya analgesik dan antiinflamasi EEDS terhadap mencit jantan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak pola satu arah. Penelitian dilakukan melalui 3 tahapan, yaitu (1) tahap pembuatan ekstrak etanolik daun singkong (EEDS); (2) pengujian kandungan flavonoid; (3) pengujian daya analgesik dan antiinflamasi EEDS.

1. Tahap pembuatan EEDS

a. Pembuatan serbuk simplisia daun singkong

Daun singkong yang digunakan merupakan daun singkong segar dan berwarna hijau dengan ketentuan daun berada di posisi 5-7 dari pucuk tanaman dan dipanen saat pagi hari. Daun singkong yang telah disortasi basah, kemudian dipotong dan dioven pada suhu 45 – 50°C hingga simplisia kering. Daun yang kering tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk, kemudian diayak dengan ayakan mesh 100 (Solikhah et al., 2019). Serbuk yang dihasilkan dilakukan kontrol kualitas meliputi organolpetis, rendemen, susut pengeringan.

b. Ekstraksi daun singkong

Serbuk simplisia daun singkong di ekstraksi secara remaserasi selama 2x24 jam, dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Larutan di *shaker* selama 1 jam setiap pagi dan sore. Filtrate yang dihasilkan dievaporasi di atas *waterbath* pada suhu 45 – 50°C sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan dilakukan kontrol kualitas meliputi organolpetis, rendemen, susut pengeringan.

2. Tahap pengujian kandungan flavonoid EEDS

Pengujian flavonoid dilakukan dengan uji Shinoda. EEDS diukur sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL etanol, 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Reaksi positif apabila larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Markham, 1988)

3. Tahap pengujian daya analgesik dan antiinflamasi EEDS

a. Tahap pengujian daya analgesik EEDS

Sebanyak 25 mencit galur Swiss yang telah diadaptasi selama 7 hari diberi senyawa uji secara per oral sesuai dengan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (I) merupakan mencit yang diberikan larutan CMC Na 0,5%. Kelompok kontrol positif (II) merupakan mencit yang diberi larutan Ibuprofen 3 mg/mL dengan dosis 52 mg/kgBB. Kelompok EEDS merupakan kelompok mencit yang diberi 3 variasi dosis EEDS (III-V), yaitu 70, 140, dan 280 mg/kgBB mencit. Setelah 30 menit, seluruh mencit diinduksi dengan larutan asam asetat 1% secara intraperitoneal. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah geliat selama 5 menit dengan selang waktu 15 menit dalam kurun waktu 120 menit.

b. Tahap pengujian antiinflamasi EEDS

Sebanyak 25 mencit galur Swiss yang telah diadaptasi selama 7 hari, diukur tebal kaki kiri mencit (C_0). Sebanyak 0,05 ml karagenin 1% diberikan secara intraplantar pada kaki kiri, kemudian 1 jam setelah penginduksi, mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (I) merupakan mencit yang diberikan larutan CMC Na 0,5%. Kelompok kontrol positif (II) merupakan mencit yang diberi larutan Na Diklofenak 7 mg/kgBB. Kelompok EEDS merupakan kelompok mencit yang diberi 3 variasi dosis EEDS (III-V), yaitu 35, 70, dan 140 mg/kgBB mencit.

Penurunan ketebalan edema yang terjadi dicatat sebagai edema telapak kaki mencit pada waktu tertentu (C_t). Pengukuran dilakukan setiap interval waktu 1 jam selama 5 jam.

4. Analisis Data

a. Pengujian daya analgesik EEDS

Analisis data pada uji daya analgesik dilakukan dengan menghitung % proteksi geliat terhadap kontrol negatif yang dihitung dengan persamaan 1.

$$\% \text{ proteksi geliat} = (P - [(P/K) \times 100]) \% \quad (1)$$

Keterangan :

P = jumlah rata-rata kumulatif geliat hewan uji setelah pemberian senyawa uji

K = jumlah rata-rata kumulatif geliat hewan uji kontrol negatif

Hasil data % proteksi geliat tersebut kemudian dianalisis secara statistik. Uji dilanjutkan dengan pengukuran perubahan % proteksi geliat menggunakan hasil % proteksi geliat terhadap kontrol positif yang dihitung menggunakan rumus persamaan 2.

$$\text{Perubahan \% proteksi geliat} = [(A-B) / B] \times 100 \quad (2)$$

Keterangan :

A = rata-rata % proteksi geliat pada tiap kelompok perlakuan

B = rata-rata proteksi geliat pada kontrol positif

b. Pengujian daya antiinflamasi EEDS

Data yang diperoleh dari uji daya antiinflamasi adalah data selisih dari ketebalan telapak kaki mencit sebelum dan sesudah diinduksi karagenin 1% sebanyak 0,05 ml. Perhitungan dapat dilakukan dengan persamaan (3).

$$C_u = C_t - C_o \quad (3)$$

Keterangan :

C_u : Ketebalan edema kaki mencit

C_t : Ketebalan telapak kaki mencit setelah diinduksi dengan karagenin 1% pada waktu tertentu

C_o : Ketebalan awal telapak kaki mencit sebelum diinduksi karagenin 1%

Data kuantitatif penelitian berupa *Area Under Curve* (AUC) dari kurva ketebalan edema rata-rata terhadap waktu. Nilai AUC yaitu luas daerah rata-rata dibawah kurva yang merupakan hubungan ketebalan edema rata-rata tiap satuan waktu yang dapat dihitung dengan persamaan (4).

$$\text{AUC o-x} = \left(\frac{c_1 - c_0}{2} \times t_1 - t_0\right) + \left(\frac{c_2 - c_1}{2} \times t_2 - t_1\right) + \left(\frac{c_n - (c_{n-1})}{2} \times t_n - t_{n-1}\right) \quad (4)$$

Keterangan :

AUC o-x : Area Under Curve dari ketebalan edema telapak kaki mencit

Cn - Cn-1 : Besarnya tebal edema

Persen Daya Antiinflamasi (penghambat ketebalan edema) dihitung berdasarkan persen penurunan edema menggunakan persamaan (5).

$$\% \text{ Daya Antiinflamasi} = \frac{\text{AUCk} - \text{AUCu}}{\text{AUCk}} \times 100\% \quad (5)$$

Keterangan :

AUCk : Rata-rata AUC ketebalan edema kaki mencit untuk kontrol negatif

AUCu : Rata-rata AUC ketebalan edema kaki mencit untuk kelompok perlakuan pada tiap individu (Kusmita et al., 2011)

Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan Post Hoc. Daya analgesik dan antiinflamasi ditunjukkan dengan nilai signifikansi dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

1. Pembuatan EEDS

Hasil determinasi tanaman singkong menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan benar merupakan spesies *Manihot utilissima* Pohl. Proses ekstraksi dilakukan melalui pembuatan serbuk simplisia hingga menghasilkan ekstrak kental daun singkong. Uji organoleptis serbuk simplisia dan ekstrak kental daun singkong dapat dilihat pada tabel 1.

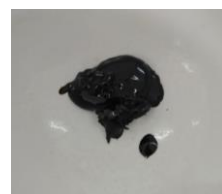
Tabel 1. Hasil uji organoleptis serbuk simplisia dan ekstrak kental daun singkong

Jenis simplisia	Rendemen (%b/b)	Susut pengeringan	Parameter			
			Bentuk	Bau	Rasa	Warna
Serbuk	38,12	4,7	Serbuk	Daun singkong	Pahit	Hijau
Ekstrak	12,31	7,0	Ekstrak kental	Tidak berbau	Pahit	Hijau kehitaman

Perbandingan hasil organoleptis serbuk simplisia dan ekstrak kental daun singkong dapat dilihat pada gambar 1.



(a) Serbuk simplisia daun singkong



(b) EEDS

Gambar 1. Hasil organoleptis serbuk simplisia dan ekstrak kental daun singkong (Dokumentasi pribadi, 2020)

2. Pengujian kandungan flavonoid EEDS

Hasil ekstrak menunjukkan bahwa terdapat kandungan flavonoid. Pengujian dilakukan melalui uji Shinoda yang menghasilkan warna jingga pada ekstrak setelah penambahan serbuk Mg dan HCl pekat kedalam EEDS. Hasil pengujian pada EEDS menunjukkan warna jingga.

3. Pengujian daya analgesik dan antiinflamasi

a. Pengujian daya analgesik

Respon jumlah geliat dihitung selama 5 menit dengan jarak waktu pengamatan 15 menit setiap pengamatan setelah induksi asam asetat diberikan. Hasil rata – rata geliat mencit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata – rata Jumlah Respon Geliat Terhadap Waktu

No.	Perlakuan	Jumlah geliat pada menit ke-								Rata - rata Geliat
		15	30	45	60	75	90	105	120	
1.	KN	64.2	58.4	53.2	46.8	41.2	34.8	27	19.6	43.2
2.	KP	20.2	16.2	12.8	10.6	7.4	4.8	3.2	2	9.7
3.	EEDS1	49.4	45.8	40.6	34.6	30	24.6	18.8	9.6	31.7
4.	EEDS2	51.2	46.6	41.4	34.8	30.6	26.4	19.2	10.6	32.6
5.	EEDS3	50	47.2	41.6	37.6	32.4	27.8	21.6	11.2	33.7

Data penurunan respon geliat yang telah diperoleh kemudian dilanjutkan untuk perhitungan % proteksi dan perubahan % proteksi. Data jumlah kumulatif geliat dan % proteksi, selanjutnya dilakukan analisis statistika untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok. Hasil menunjukkan bahwa data penelitian terdistribusi normal dan homogen dengan metode Shapiro-Wilk ($p=0,435$).

Uji dilanjutkan menggunakan uji hipotesis *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Test*. Hasil dari uji LSD (*Least Significant Difference*) menunjukkan adanya perbedaan pada masing – masing kelompok perlakuan. Hasil Uji statistik % proteksi geliat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil % proteksi EEDS pada mencit jantan Galur Swiss

No.	Kelompok Uji	Rata-rata % proteksi ($\bar{X} \pm SE$)
1.	KN	0
2.	KP	$77,64 \pm 0,56^a$
3.	EEDS1	$26,59 \pm 0,98^b$
4.	EEDS2	$24,45 \pm 0,75^{b,c}$
5.	EEDS3	$21,96 \pm 1,06^c$

Keterangan :

$\bar{X}$ = Mean (Rata-rata)

SE = Standard Error ($SD/\sqrt{n}$)

(a, b, c, d) = Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p<0,05$)

Data % proteksi yang telah diperoleh kemudian diolah menjadi perhitungan rata-rata perubahan persen proteksi pengujian daya EEDS terhadap kontrol positif ibuprofen dosis 52 mg/kgBB. Perubahan % proteksi geliat berguna untuk mengetahui besar daya analgesik EEDS terhadap ibuprofen dosis 52 mg/kgBB. Berikut hasil rata-rata dan uji statistik perubahan % proteksi ditunjukkan dalam bentuk Mean $\pm$ *Standard Error* pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil perubahan % proteksi EEDS pada mencit jantan Galur Swiss

No.	Kelompok Uji	Rata-rata perubahan % proteksi ($\bar{X} \pm SE$)
1.	KP	0
2.	EEDS1	$65,75 \pm 1,26^a$
3.	EEDS2	$68,51 \pm 0,97^{a,b}$
4.	EEDS3	$71,72 \pm 1,37^b$

Keterangan :

X = Mean (Rata-rata)

SE = Standard Error ($SD/\sqrt{n}$)

(a, b, c) = Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

b. Pengujian daya antiinflamasi

Parameter tebal edema digunakan sebagai awal perhitungan nilai AUC dan % daya antiinflamasi EEDS. Hasil rata – rata tebal edema selama 5 jam menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (suspensi CMC Na 0,5%), rata-rata tebal edema mengalami kenaikan tiap jam pertama hingga ke-5. Hasil juga menunjukkan bahwa pada jam ke – 0, yaitu 1 jam setelah pemberian karagenin 1% menunjukkan adanya tebal edema optimal pada seluruh mencit. Nilai tebal edema dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata tebal edema pada mencit jantan yang diinduksi karagenin

No	Kelompok	Rata-rata tebal edema $\pm$ SD pada jam ke- (mm)						
		sebelum	0	1	2	3	4	5
1	KN	$2,57 \pm 0,08$	$3,74 \pm 0,35$	$3,87 \pm 0,33$	$3,95 \pm 0,31$	$3,8 \pm 0,15$	$3,86 \pm 0,13$	$3,91 \pm 0,14$
2	KP	$3,51 \pm 0,24$	$4,28 \pm 0,15$	$4,13 \pm 0,18$	$3,97 \pm 0,20$	$3,82 \pm 0,25$	$3,67 \pm 0,27$	$3,58 \pm 0,26$
3	EEDS0	$2,54 \pm 0,19$	$3,77 \pm 0,31$	$3,52 \pm 0,28$	$3,31 \pm 0,25$	$3,15 \pm 0,23$	$2,98 \pm 0,20$	$2,82 \pm 0,22$
4	EEDS1	$3,17 \pm 0,45$	$4,36 \pm 0,44$	$4,25 \pm 0,46$	$4,09 \pm 0,44$	$3,89 \pm 0,45$	$3,71 \pm 0,43$	$3,55 \pm 0,49$
5	EEDS2	$2,48 \pm 0,34$	$3,84 \pm 0,34$	$3,62 \pm 0,40$	$3,47 \pm 0,37$	$3,29 \pm 0,37$	$3,10 \pm 0,38$	$2,94 \pm 0,36$

Keterangan : SD = Standar Deviasi

Data penurunan edema yang diperoleh kemudian dilanjutkan untuk perhitungan nilai *Area Under Curve* (AUC). Hasil rata-rata AUC uji daya antiinflamasi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel VI. Rata-rata AUC total EEDS

Kelompok	Nilai AUC Total $\pm$ SD
KN	$6,46 \pm 0,22^a$
KP	$1,97 \pm 0,16^b$
EEDS0	$3,56 \pm 0,23^c$
EEDS1	$4,05 \pm 0,17^d$
EEDS2	$4,47 \pm 0,15^d$

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dengan taraf kepercayaan 95%

Nilai AUC total yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengetahui persentase Daya Antiinflamasi (% DAI). Hasil rata-rata persentase Daya Antiinflamasi (% DAI) dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata persentase Daya Antiinflamasi (% DAI) EEDS

Kelompok	% DAI $\pm$ SD
KN	0
KP	69,48 $\pm$ 2,42 ^a
EEDS0	44,93 $\pm$ 3,64 ^b
EEDS1	37,34 $\pm$ 2,67 ^c
EEDS2	30,75 $\pm$ 2,36 ^c

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dengan taraf kepercayaan 95%

PEMBAHASAN

1. Pembuatan EEDS

Pengujian determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran spesies dari tanaman yang dipakai, serta untuk menghindari kesalahan dalam proses pengumpulan bahan. Tanaman singkong yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari desa Ungaran, Kecamatan Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Bagian tanaman singkong yang digunakan adalah daun singkong dengan posisi 5-7 dari pucuk tanaman karena memiliki kandungan flavonoid tertinggi, yaitu 27,31%. Daun yang berada pada posisi di bawah 5 dari pucuk tanaman memiliki kandungan flavonoid sebesar 18,15% dan pada posisi di atas 7 dari pucuk tanaman memiliki kandungan flavonid sebesar 20% (Hasim et al., 2016).

Pembuatan simplisia daun singkong dilakukan dengan mengeringkan daun singkong yang telah dipotong – potong ke dalam oven pada suhu 45 – 50°C. Pengeringan dilakukan pada suhu <60°C karena flavonoid yang terkandung di dalam daun singkong merupakan golongan senyawa yang tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Maulana, 2017). Pengeringan di bawah suhu 40°C menyebabkan simplisia mudah ditumbuhi jamur karena memiliki kelembapan yang tinggi sedangkan pada suhu lebih dari 50°C akan mengakibatkan semakin banyaknya zat aktif yang hilang (Manalu & Adinegoro, 2018).

Ekstraksi daun singkong dilakukan secara remaserasi dengan pelarut etanol 70%. Pada proses remaserasi, terjadi pergantian pelarut yang baru sehingga memiliki kemampuan mengekstrasi lebih tinggi. Hasil rendemen remaserasi menunjukkan persentase yang lebih tinggi, yaitu 23,33% dibandingkan maserasi yaitu 22%. Pemilihan metode remaserasi juga disebabkan karena flavonoid tidak tahan terhadap pemanasan (Ningsih et al., 2018). Menurut Riwanti *et al.*, (2018), ekstraksi menggunakan etanol 70 % mampu menghasilkan total flavonoid tertinggi yaitu 0,1300% dibandingkan etanol 50%, yaitu 0,0539% dan etanol 96%, yaitu 0,1180%.

Serbuk simplisia daun singkong dan ekstrak kental daun singkong (EEDS) yang diperoleh dilakukan uji kontrol kualitas dan kuantitas meliputi uji organoleptis, uji susut pengeringan dan perhitungan rendemen. Hasil uji organoleptis telah menunjukkan bentuk serbuk dan ekstrak kental, serta bau khas daun singkong. Pada EEDS menunjukkan warna yang lebih pekat karena telah mengalami reaksi oksidasi akibat proses evaporasi.

2. Pengujian kandungan flavonoid EEDS

Senyawa flavonoid pada EEDS akan dioksidasi membentuk kompleks dengan ion magnesium. Flavonoid yang tereduksi dengan $Mg + HCl$ dapat memberikan warna merah, kuning atau jingga. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid yang diduga golongan flavon dan flavonon (Megawati *et al.*, 2020). Penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu O-glikosil. Glikosil dapat digantikan H^+ dari asam karena memiliki sifat elektrofilik (Mutiara & Wildan, 2014).

3. Pengujian daya analgesik dan antiinflamasi

a. Pengujian daya analgesik

Semua mencit mengalami penurunan jumlah geliat selama 120 menit pengamatan. Hal ini disebabkan adanya respon alami dalam tubuh saat mengalami nyeri. Tubuh beradaptasi dengan adanya stimulus nyeri, karena terdapat analgetik alami dalam tubuh, yaitu senyawa endorfin. Hal ini yang menyebabkan tubuh akan meningkatkan ketahanan untuk mengatasi rasa nyeri (Wulan *et al.*, 2017).

Data penurunan respon geliat kemudian diubah menjadi % proteksi dan perubahan % proteksi. Persen proteksi merupakan kemampuan suatu bahan uji dalam mengurangi respon geliat mencit yang disebabkan karena induksi oleh asam asetat. Persen proteksi geliat berbanding terbalik dengan jumlah rata-rata geliat. Semakin besar jumlah rata-rata geliat, maka persen proteksi geliat yang diperoleh semakin kecil (Pujiatningsih, 2014). Pemberian ibuprofen memberikan persen proteksi sebesar 77.64 ± 0.56 . Nilai persen proteksi ibuprofen $> 50\%$ menandakan bahwa ibuprofen memiliki daya analgesik (Departemen Kesehatan RI, 1993). Ibuprofen bekerja dengan cara menghalangi produksi prostaglandin sehingga nyeri dan peradangan dapat berkurang (Lacy, 2009). Hasil % proteksi geliat EEDS₁ sebanding dengan EEDS₂ sedangkan EEDS₂ sebanding dengan EEDS₃ yang ditunjukkan adanya perbedaan tidak bermakna $p > 0.05$. Data % proteksi yang telah diperoleh kemudian diolah menjadi perhitungan rata-rata perubahan persen proteksi pengujian daya EEDS terhadap kontrol positif ibuprofen dosis 52 mg/kgBB.

Hasil rata - rata perubahan % proteksi geliat menunjukkan bahwa ketiga variasi kelompok EEDS memiliki aktivitas analgesik akan tetapi tidak sebesar ibuprofen sebagai kontrol positif dalam memproteksi nyeri akibat induksi asam asetat 1%. Hal ini terlihat dari uji statistik ketiga variasi dosis yang berbeda bermakna dibandingkan ibuprofen yaitu $p < 0.05$. Variasi dosis EEDS terlihat mampu memproteksi nyeri akibat induksi asam asetat 1%. Nilai proteksi geliat yang baik terdapat pada EEDS₁ yaitu sebesar 65,75 %, diikuti EEDS₂ dan EEDS₃ sebesar 68,51 % dan 71,72 %. Aktivitas EEDS₁ sebanding dengan EEDS₂ sedangkan EEDS₂ sebanding dengan EEDS₃ yang ditunjukkan adanya perbedaan tidak bermakna $p > 0.05$.

Nilai perubahan % proteksi yang semakin kecil menunjukkan bahwa pada dosis tersebut dapat menyebabkan penurunan jumlah geliat yang lebih banyak. Hasil penelitian menunjukkan semakin kecil dosis yang diberikan maka efek proteksi geliat yang

dihasilkan akan semakin besar. Penelitian ini sejalan dengan penelitian (Meilawaty, 2013, Yusuf dan Okechukwu, 2013 dan Miladiyah *et al.*, 2011) yang menunjukkan semakin kecil dosis ekstrak daun singkong yang diberikan maka efek yang dihasilkan akan semakin besar.

Skrining fitokimia golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia dan EEDS adalah flavonoid, saponin, tanin dan polifenol, monoterpenoid dan seskuiterpen dan kuinon (Nurhalisa, *et al.*, 2022). Kandungan flavonoid dalam EEDS memiliki kemampuan dalam mengatasi rasa nyeri dan dapat menghambat kerja enzim siklooksigenase sehingga pembentukan prostaglandin terhambat dengan demikian akan mengurangi rasa nyeri (Nafisah *et al.*, 2014). Tanaman singkong juga bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan mampu menetralkan radikal bebas yang dilepaskan oleh fagosit sebagai respons terhadap cedera sel, sehingga dapat menekan respons inflamasi yang disebabkan oleh radikal bebas, yang mengarah pada respons nyeri yang menurun (Suryanto, 2012).

b. Pengujian daya antiinflamasi

Pengujian antiinflamasi dilakukan dengan metode pembentukan edema yaitu didasari pada kemampuan bahan uji untuk menghambat edema di telapak kaki mencit yang diinduksi karagenin 1% secara intraplantar. Karagenin dapat merangsang pelepasan mediator inflamasi seperti prostaglandin, bradikinin dan leukotrin tanpa merusak jaringan tempat penyuntikan (Andayani *et al.*, 2018). Rata-rata tebal edema terendah terdapat pada mencit dengan pemberian suspensi Na diklofenak dosis 7 mg/kgBB (lihat tabel 5). Na diklofenak menjadi acuan standar dalam melihat potensi senyawa obat dalam menekan radang pada hewan uji. Na diklofenak bekerja dengan menghambat biosintesis prostaglandin pada tahap siklooksigenase sehingga prostaglandin G₂, prostaglandin H₂ dan tromboksan tidak terbentuk (Priamsari & Krismonikawati, 2020). Na diklofenak dipilih sebagai kontrol positif karena memiliki daya antiinflamasi kuat dibandingkan dengan indometasin, piroxicam, cepat diabsorpsi setelah pemberian oral dan mempunyai waktu paruh yang pendek sekitar 1-2 jam (Agustin & Ratih, 2015). CMC Na sebagai kontrol negatif dan *suspending agent* karena kerena dapat menghasilkan suspensi yang stabil, kejernihannya tinggi dan bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi zat berkhasiat mempunyai toksisitas rendah dan mudah terdispersi di dalam air dibandingkan dengan pensuspensi lainnya (Aulia & Sinata, 2019).

Pemberian CMC Na 0,5% sebagai kontrol negatif menghasilkan edema yang paling besar sehingga nilai AUC totalnya paling tinggi (lihat tabel 6). Hal ini disebabkan karena CMC Na tidak memiliki aktivitas antiinflamasi. Kemampuan EEDS dalam memberikan aktivitas antiinflamasi dapat dilihat dari adanya penurunan tebal edema telapak kaki mencit yang diinduksi karagenin 1% yang ditujukan dengan adanya penurunan rata-rata nilai AUC total. Pemberian suspensi EEDS₁ dan EEDS₂ memiliki nilai AUC total lebih tinggi dibandingkan EEDS₀ yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan signifikan $p < 0,05$. Nilai AUC tersebut menyatakan bahwa suspensi EEDS₀ memiliki kemampuan menurunkan edema yang besar dari suspensi EEDS₁ dan EEDS₂. Hal ini sesuai dengan penelitian Bokanisereme *et al.*, (2013) menyatakan bahwa EEDS

pada dosis 100, 250, dan 500mg/kgBB tikus memiliki kemampuan menurunkan edema tertinggi pada dosis terendah yaitu 100mg/kgBB tikus.

Nilai AUC berbanding terbalik dengan % DAI, semakin kecil nilai AUC maka semakin besar % DAI. Perhitungan % DAI dengan membandingkan AUC kontrol negatif (CMC Na 0,5%) terhadap perlakuan masing-masing perlakuan masing-masing perlakuan mencit. Suspensi Na diklofenak memiliki aktivitas antiinflamasi tertinggi karena memiliki mekanisme kerja menghambat enzim cyclooxygenase (COX-1 dan COX -2) sehingga menghambat pelepasan mediator radang seperti prostaglandin (Andayani *et al.*, 2018). Hasil % DAI pada EEDS₀ lebih tinggi dibandingkan EEDS₁ dan EEDS₂ namun lebih rendah dibandingkan suspensi Na diklofenak. Penurunan edema yang dihasilkan dikarenakan EEDS memiliki senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi karena memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis prostaglandin. Penghambatan prostaglandin dapat menghambat pembentukan inflamasi sehingga menyebabkan penurunan edema pada kaki mencit yang diinduksi karagenin (Riansyah *et al.*, 2016). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol pecut kuda dapat menurunkan kadar leukosit dan makrofag tikus yang mengalami ulkus diabetikum pada hari ke-21. Kadar leukosit dan makrofag merupakan parameter terjadinya inflamasi di dalam tubuh (Octasari dan Ramayani, 2021).

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun singkong (EEDS) memiliki daya analgesik dan antiinflamasi pada mencit galur Swiss. Daya analgesik EEDS 70 mg/KgBB, 140 mg/KgBB, dan EEDS 280 mg/KgBB mencit berurutan adalah 26,59%; 24,45%; dan 21,96%. Daya antiinflamasi EEDS 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB, dan EEDS 140 mg/KgBB mencit berurutan adalah 44,93%; 37,34%; dan 30,75%. Semakin besar dosis EEDS yang diberikan, daya analgesik dan antiinflamasi yang diberikan semakin rendah.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait uji toksisitas ekstrak etanol daun singkong pada hewan uji secara akut, subkronis, dan kronis.

REFERENSI

- Agustin, R., & Ratih, H. 2015. Profil Disolusi Tablet Sustained Release Natrium Diklofenak dengan Menggunakan Matriks Metolose 90 SH 4000. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(2), 176.
- Andayani, D., Suprihartini, E., & Astuti, M. 2018. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Krokot (*Portulaca oleracea*, L.) pada Udem Tikus yang di Induksi Karagenin. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 43.
- Anshory, N.M., Hasan, M., dan Kuala, S., 2018. Kemampuan Analgesik Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Rangsangan Panas Pada Telapak Kaki, 2, 396–401.
- Aulia, N., & Sinata, N. 2019. Uji efek analgetik infusa daun sukun (*Artocarpus altilis* forst) terhadap mencit putih (*Mus musculus*) jantan diinduksi asam asetat 1%. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(1), 32–40.

-
- Bokanisereme, Yusuf, U. F., & Okechukwu, P. N. 2013. Anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activity of cassava leaves extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 89–92.
- Departemen Kesehatan RI, 1993. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia, dan Pengujian Klinik*. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alami Phytomedika, Jakarta.
- Hasim, Falah, S., Dewi, L.K., 2016. Effect of Boiled Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) on Total Phenolic, Flavonoid and its Antioxidant Activity. *Curr. Biochem.* 3, 116–127.
- Lacy, C., 2009. *Drug Information Handbook: A Comprehensive Resource for All Clinicians and Healthcare Professionals*, 18th Edition. American Pharmacist Association.
- Linn, K.Z., Phyu, P., Phyu, C., Myint, P., Myint, P.P., 2018. Estimation of nutritive value, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Manihot esculenta* Crantz. (Cassava) leaf. ~ 73 ~ *J. Med. Plants Stud.* 6, 73–78.
- Manalu, L.P. dan Adinegoro, H., 2018, Kondisi Proses Pengeringan Untuk Menghasilkan Simplisia Temuputih Standar, *Jurnal Standardisasi*, Volume 18 Nomor 1, Maret 2016: Hal 62 - 68
- Maulana, M. S. R. 2017. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulitbawang Merah (*Allium Cepa* L.) Dengan Metode Maserasi Dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*). *Ekp*, 13(3), 1576–1580.
- Megawati, S., Nur'aini, N., & Kurniasih, D. (2020). Uji Efektivitas Gel Ekstrak Etanol 96% Daun Singkong (*Manihot Esculenta* Crantz.) Pada Penyembuhan Luka Sayat Kelinci Jantan Galur New Zealand White. *Jurnal Farmagazine*, 7(1), 1.
- Mutiara, E. V., & Wildan, A. 2014. Ekstraksi Flavonoid Dari Daun Pare (*Momordica Charantia* L.) Berbantu Gelombang Mikro Sebagai Penurun Kadar Glukosa Secara in Vitro. *Metana*, 10(01), 1–11.
- Markham, K.R., 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB, Bandung.
- Meilawaty, Z., 2013. Efek ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima*) terhadap ekspresi COX-2 pada monosit yang dipapar LPS *E.coli* (The effect of *Manihot utilissima* extracts on COX-2 expression of monocytes induced by LPS *E. coli*). *Dent. J. (Majalah Kedokt. Gigi)* 46, 196. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v46.i4.p196-201>
- Miladiyah, I., Dayi, F., Desrini, S., 2011. Analgesic activity of ethanolic extract of *Manihot esculenta* Crantz leaves in mice. *Universa Med.* 30, 3–10.
- Nadler, B., 2007. Inflammation, Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants. <http://www.beverlynadler.com/html/inflammation.html>.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati, N., 2014. Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). Prosiding Seminar Nasional Kimia Universitas Negeri Surabaya, Surabaya.
- Ningsih, A.W., Nurrosyidah, I.H., Hisbiyah, A., 2018. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *J. Pharm. Anwar Med.* 2, 49–57.
- Nurdiana, A.R., 2013. Uji Ekstrak Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) Terhadap Jumlah Neutrofil Pada Proses Penyembuhan Luka Tikus (*Rattus Norvegicus*) 1–58.
- Nurhalisa, Z.A., Rahayuningsih, R., dan Suhendy, H., 2022., Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap SGPT, SGOT dan Indeks Organ Hati Tikus

- Putih Jantan Wistar. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian*, 28 – 35.
- Octasari, PM., dan Ramayani, SL, 2021, Potensi Hidrogel Ekstrak Etanolik Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* [L.] Vahl) Terhadap Proses Penyembuhan Ulkus Diabetikum pada Tikus Wistar. *Jurnal Wiyata*. 8(10), 23 – 34
- Pujiatiningsih, A.S., 2014. Pemberian Ekstrak Daun Putri Malu (*Mimos Pudica* Linn) secara Oral Menurunkan Kadar Gula Darah Post Prandial pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar Perdiabetesi. *Tesis*. Universita Udayana.
- Priamsari, M. R., & Krismonikawati, R. A.2020. Uji Daya Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Kulit Terong Belanda (*Solanum Betaceum, Cav.*) Pada Mencit Jantan Yang Diinduksi Karagenin. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 16(02), 86.
- Riansyah, Y., Mulqie, L., & Choesrina, R. 2016. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu. *Prosiding Penelitian SPeSIA*, 630–636.
- Rahmatia, A.R., Tr, T.A., Harris, A., Fahrimal, Y., 2018. 15. Potency of Methanolic Extract of Sernai Stems (*Wedelia biflora*) as Analgesic on Mice (*Mus musculus*). *J. Med. Vet.* 12, 91–96.
- Rikomah, Enti, S., Elmitra, Akademi, D.G., 2017. Efek Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot Utilissima* Pohl) Sebagai Obat Alternatif Anti Rematik Terhadap Rasa Sakit Pada Mencit. *J. Ilm. Manuntung*, 3, 133–138.
- Riwanti, P., Izazih, F., Amaliyah, 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *J. Pharm. Care Anwar Med.* 2, 82–95.
- Siahaan, S., Aryastami, N.K., 2018. Studi Kebijakan Pengembangan Tanaman Obat di Indonesia. *Media Penelit. dan Pengemb. Kesehat.* 28, 157–166.
- Solikhah, R., Purwantoyo, E., Rudyatmi, E., 2019. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Klorofi Kultivar Singkong di Daerah Wonosobo. *Life Sci.* 8, 86–95.
- Suryanto, E., 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Syamsul, E., Andani, F., Budianti Soemarie, Y., AWahab Sjahranie No, J., E., 2016. Analgesic Activity Study Of Ethanolic Extract Of *Callicarpa Longifolia* Lamk. In Mice Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanolik Daun Kerehau (*Callicarpa Longifolia* Lamk.) Pada Mencit Putih. *Tradit. Med. J.* 21, 2016.
- Wulan, H., EM, U.R., Ika, P., 2017. Uji Efek Analgetik Antipiretik Ekstrak Etanol Alfafa (*Medicago sativa*) pada Tikus Putih 53, 1689–1699.
- Yusuf, U.F., Okechukwu, P.N., 2013. Kegiatan Anti Inflamasi, Analgesik Dan Antipiretik Daun Cassava Ekstrak 6, 4–7.