

ANALGETIC ACTIVITY OF CONTAINER 1-3 VACUUM LIQUID CHROMATOGRAPHY (VLC) ETHYL ACETATE FRACTION OF PAKIS TANGKUR (*Polypodium feei* METT) ROOT ON MALE MICE OF SWISS WEBSTER STRAIN WITH IN VIVO METHOD

Rizki Muhamad Firdaus

Korespondensi: Kokorizki34@gmail.com

Abstract

Analgetic activity of container 1-3 Vacuum Liquid Chromatography (VLC) ethyl acetate fraction of pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) from dose 12,5; 25; 50mg/KgBB has been evaluated. The purpose of this study to investigate the analgetic effect. Parameters tested were stretch frequency, and latency time increase to determine it's analgetic effect. The data were then analyzed with statistical methods (kruskall wallis and Man Whitney). The result showed that decrease stretch frequency but there is no increase in latency time. Based on result it can be concluded that container 1-3 vacuum liquid chromatography ethyl acetate fraction of pakis tangkur dose 12,5; 25; dan 50 mg/kgBB have analgetic effect weak to moderate, but does not have strong analgesic activity.

Keywords: Analgetic, *Polypodium feei* METT, Vacuum Liquid Chromatography (VLC)

AKTIVITAS ANALGETIK HASIL TAMPUNGAN 1-3 KROMATOGRAFI CAIR VAKUM (KCV) FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PAKIS TANGKUR (*Polypodium feei* METT) PADA MENCIT JANTAN GALUR SWISS WEBSTER DENGAN METODE *IN VIVO*

Abstrak

Pengujian aktivitas analgetik dari hasil tampungan 1-3 Kromatografi Cair Vakum (KCV) Fraksi Etil Asetat Akar Pakis Tangkur (*Polypodium feei* METT) pada mencit putih jantan telah dilakukan pada dosis 12,5; 25; 50mg/KgBB. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui adanya efek analgetik lemah-sedang dan kuat. Paramater yang di uji adalah frekuensi geliatan dan peningkatan waktu latensi. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan metode statistik (Kruskall Walis dan Man Whitney). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan frekuensi geliatan tapi tidak ada peningkatan waktu latensi. Berdasar hasil dapat disimpulkan bahwa hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis 12,5 mg/KgBB, 25 mg/KgBB, dan 50 mg/kgBB memiliki aktivitas analgetik lemah sampai sedang, namun tidak memiliki aktivitas analgetik kuat.

Kata Kunci : Analgetik, Kromatografi Cair Vakum (KCV), *Polypodium feei* METT

Pendahuluan

Nyeri dianggap sebagai naluri manusia dan dapat didefinisikan sebagai sensasi yang tidak menyenangkan, serta pengalaman emosional yang terkait dengan kerusakan jaringan aktual atau potensial yang dapat memberitahukan mekanisme pertahanan tubuh untuk bereaksi terhadap stimulus untuk menghindari kerusakan jaringan lebih lanjut.²

Obat untuk meredakan rasa nyeri dikenal dengan istilah analgetik. Analgetik adalah bahan atau obat yang digunakan untuk menekan atau mengurangi rasa sakit atau nyeri tanpa menyebabkan hilangnya kesadaran. Analgetik terbagi menjadi dua kelompok utama yaitu analgetik opioid dan analgetik non opioid. Analgetik opioid merupakan kelompok obat yang selain memiliki efek analgetik, juga memiliki efek seperti opium.³

Obat-obat analgetik yang biasa digunakan oleh masyarakat adalah golongan obat analgetik nonopioid seperti aspirin, asam mefenamat, serta parasetamol karena obat analgetik golongan nonopioid tidak bersifat adiktif seperti obat analgetik golongan opioid. Obat analgetik digunakan untuk mengurangi atau menekan rasa nyeri. Obat-obat analgetik non opioid memiliki efek samping yang tidak diinginkan yaitu reaksi hipersensitivitas, gangguan lambung-usus, kerusakan ginjal, dan dapat menyebabkan kerusakan hati fatal dalam dosis yang berlebihan. Maka perlu usaha untuk mendapatkan alternatif obat baru yang memiliki efek samping seminimal mungkin dengan mencari obat baru yang berasal dari sumber alam hayati salah satunya adalah tumbuhan pakis tangkur.⁴

Penelitian sebelumnya mengenai aktivitas akar pakis tangkur telah dilaporkan yaitu terhadap ekstrak etanol akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) dengan dosis efektif 100 mg/KgBB menurunkan respon geliat secara signifikan dengan memberikan persen proteksi 76.23 lebih tinggi dari asam asetilsalisilat (59.84%) pada dosis 50mg/KgBB.⁵

Berdasarkan hasil penelitian tersebut peneliti bermaksud untuk melanjutkan penelitian terhadap hasil tampungan 1-3 kromatografi cair vakum (KCV) fraksi etil

asetat dari akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) sebagai salah satu proses isolasi terhadap senyawa aktif analgetik.

Berdasarkan latar belakang masalah yang akan diidentifikasi yaitu apakah akar pakis tangkur memiliki aktivitas analgetik secara *in vivo* dan berapa dosis hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur yang efektif memiliki aktivitas analgetik.

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas analgetik hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur sebagai analgetik secara *in vivo* dan untuk menentukan dosis efektif akar pakis tangkur sebagai analgetik.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar ilmiah dalam pengembangan akar pakis tangkur sehingga dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengobatan.

Metode

Alat. *Hot plate analgesia*, timbangan digital, *rotary evaporator*, tabung reaksi, *waterbath*, pipet tetes, cawan uap, rak tabung, batang pengaduk, timbangan, pisau, erlenmeyer, oven, kertas saring, lumpang dan alu, kertas label, corong kaca besar, set alat KCV, penampak noda lampu UV 254 nm dan 366 nm, botol kaca, spuit 1-3 cc serta kandang tikus dan dot tikus.

Bahan. Akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT), etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, metanol, aquades, parasetamol + tramadol, aspirin, asam asetat, NaCl fisiologis 0,9%, tragakan, ammonia 25%, penampak bercak anisaldehyd/asam sulfat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, pereaksi FeCl₃, HCl 10%, benzen, eter, kloroform, NaSO₄, NaOH 10%, pereaksi Lieberman Buchard serta H₂SO₄.

Hewan uji. Mencit putih jantan galur *Swiss Webster*

Pengolahan bahan. Akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) dikumpulkan kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bagian simplisia yang digunakan dari pengotor. Kemudian dilakukan pencucian sampai bersih kemudian dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil, kemudian dikeringkan dengan menggunakan panas matahari tidak langsung atau oven dengan suhu di antara 30-45°C, simplisia yang sudah kering lalu disortasi kering untuk memisahkan pengotor. Selanjutnya simplisia kering dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memudahkan dalam proses ekstraksi dan penarikan senyawa oleh pelarut karena dengan ukuran serbuk yang kecil maka luas permukaan semakin besar, sehingga menyebabkan proses penarikan senyawa oleh pelarut semakin besar. Kemudian serbuk simplisia dimasukkan dalam wadah tertutup rapat.¹¹

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia. Karakteristik simplisia akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) dilakukan sesuai dengan metode yang tercantum di dalam pustaka. Terdapat beberapa pemeriksaan karakterisasi simplisia diantaranya penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar abu total, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut etanol, dan kadar sari larut air.

Pembuatan Ekstrak. Melakukan ekstraksi akar pakis tangkur dengan cara maserasi. Ekstraksi pada suhu kamar sekitar 25°C. Menimbang sebanyak 800 gram simplisia dengan 2 liter etanol 96% kemudian disimpan selama satu hari kemudian disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali dengan etanol 1 liter selama satu hari, kemudian residu kedua hasil dari

maserasi ini dimaserasi kembali dengan etanol 96% 1 liter selama satu hari. Ekstrak cair atau filtrat yang diperoleh dari proses maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental

Pembuatan Fraksi. Ekstrak kental yang didapat dari hasil ekstraksi lalu dilakukan pengujian fraksinasi dengan metode ekstrak cair-cair yang berfungsi untuk memisahkan fraksi-fraksi berdasarkan tingkat kepolaran antara ekstrak etanol-air dengan pelarut *n*-heksan dan ekstrak etanol-air dengan pelarut etil asetat. Hasil fraksinasi yang diperoleh yaitu fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Setiap masing – masing fraksi yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental *n*-heksan, fraksi kental etil asetat dan fraksi kental air.¹⁷

Penapisan Fitokimia. Meliputi pemeriksaan terhadap senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, kuinon, steroid, dan triterpenoid.¹⁹

Kromatografi Kolom Cair Vacum (KCV) Fraksi etil asetat sebanyak 1 g. Kemudian fraksi tersebut dilarutkan dengan suspensi silika. Fraksi dihomogenkan dan pelarutnya menguap. Dimasukkan silika yang telah disiapkan secara perlahan-lahan dan dimampatkan. Setelah itu dimasukkan perbandingan eluen secara gradien mulai dari non-polar hingga polar, perbandingannya yaitu *n*-heksan : etil asetat : metanol. Cairan yang keluar ditampung sebagai fraksi dan dipisahkan berdasarkan konsentrasi eluen dan diuapkan serta dilakukan pemantauan KLT.²⁴

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sampel ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat dilakukan pengujian KLT dengan menotolkan ekstrak pada plat silika gel dengan menggunakan pipa kapiler ukuran kecil. Penotolan dilakukan sebanyak 2-3 kali dan dibiarkan hingga mengering. Kemudian plat tersebut dielus dengan fase gerak yang sesuai. Setelah dikembangkan sampai batas elusi kemudian dihentikan, lalu plat dibiarkan hingga kering. Plat yang telah kering kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm. Setelah itu disemprot dengan menggunakan penampak bercak yang sesuai.²⁴

Penyiapan Hewan Uji. Hewan uji yang diperoleh dari Ilmu dan Teknologi Hayati ITB diamati kesehatannya dengan cara menimbang bobot badan dan mengamati tingkah laku setiap hari kurang lebih selama tujuh hari untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan percobaan. Hewan yang digunakan yaitu tikus jantan dengan berat badan 20-25 gram. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang selama pemeliharaan bobot badannya tetap atau berubah tidak lebih 10% dan secara visual tidak menunjukkan adanya penyimpangan tingkah laku dari keadaan normal. Sebelum percobaan dimulai, hewan percobaan dipuaskan makan selama 18 jam tetapi air minum tetap diberikan.

Pengujian Efek Analgetik.

1. Metode geliat (Sigmund). Pengujian aktivitas analgetik hasil fraksi etil asetat dilakukan pada mencit jantan dengan metode Sigmund. Hewan uji dipuaskan selama kurang lebih 18 jam sebelum pengujian dengan tetap diberi minum. Sebelum diberi perlakuan dikelompokkan menjadi kelompok kontrol positif, kelompok pembanding diberikan acetosal 65 mg/70KgBB secara oral, kelompok uji dosis I diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis 12,5 mg/KgBB, kelompok uji dosis II diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis uji 25 mg/KgBB, dan kelompok uji dosis III diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat dengan dosis 50 mg/KgBB. Kemudian hewan uji diinduksi dengan asam asetat 0,7 % secara intraperitoneal. Bila rasa nyeri timbul,

hewan akan menunjukkan gerakan geliat sebagai respon terhadap rasa nyeri. Kemudian diamati respon geliat hewan dan dihitung jumlah geliatnya setiap lima menit selama 60 menit. Daya proteksi bahan uji terhadap rasa nyeri dan tingkat efektivitas analgetik dihitung dengan rumus di bawah ini.

$$\% \text{ Proteksi} = 1 - \left(\frac{\text{jumlah geliat kel uji}}{\text{jumlah geliat kel kontrol}} \right) \times 100\%$$

$$\% \text{ Efektivitas Analgetik} = \frac{\% \text{ Proteksi kel uji}}{\% \text{ Proteksi aspirin}}$$

2. Metode Hot plate. Pengujian aktivitas analgetik hasil fraksi etil asetat dilakukan pada mencit jantan dengan metode hot plate. Hewan uji dipuasakan selama kurang lebih 18 jam sebelum pengujian dengan tetap diberi minum. Sebelum diberi perlakuan dikelompokkan menjadi kelompok kontrol positif, kelompok pembanding diberikan acetosal 65 mg/70KgBB secara oral, kelompok uji dosis I diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis 12,5 mg/KgBB, kelompok uji dosis II diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis 25 mg/KgBB, dan kelompok uji dosis III diberikan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat dengan dosis 50 mg/KgBB. Sebelum mencit diberi perlakuan, mencit diletakkan di atas hot plate dengan suhu 50-60°C, tunggu hingga mencit mengangkat kaki sebagai waktu respon dan setelah diberi perlakuan diamati tingkah laku hewan uji (mencit) dengan mengangkat atau menjilat kakinya serta lompatan. Pengamatan dilakukan pada menit ke 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150.

$$\% \text{ Peningkatan Waktu Latensi} = (T_t - T_0) \times \frac{100}{T_0}$$

Analisis Data. Data yang diperoleh dari penelitian ini dilakukan analisis secara statistika dengan melihat uji normalitas dan uji homogenitas yang digunakan sebagai syarat untuk uji ANOVA dan uji lanjut LSD untuk melihat perbedaan bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,05$). Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji Kruskal Wallis dan uji lanjut Mann Whitney untuk melihat perbedaan bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,05$).

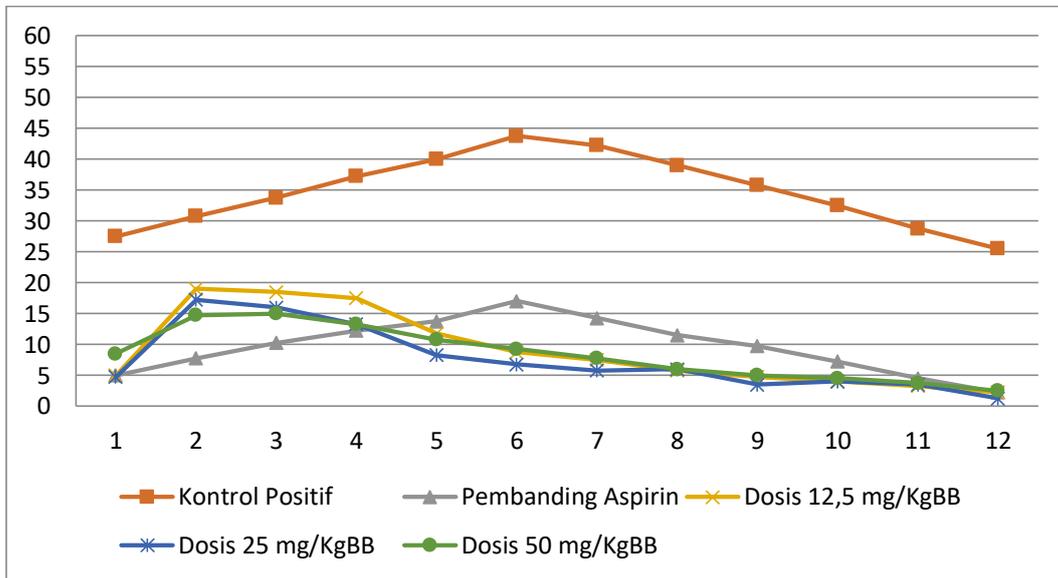
Hasil

Tabel 1 Karakteristik Simplisia Akar Pakis Tangkur (*Polypodium feei* METT)

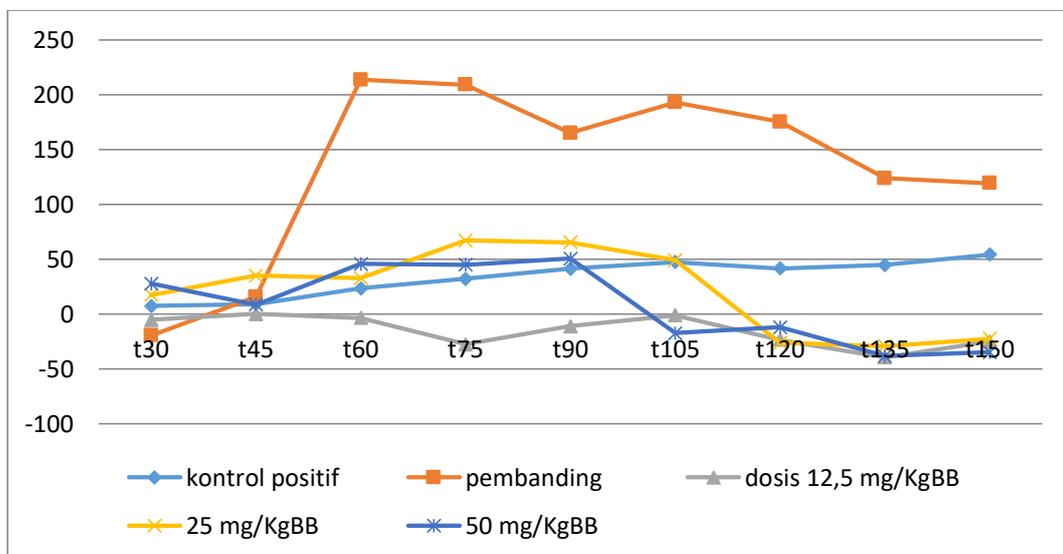
No	Pemeriksaan	Kadar (%)	Standar BPOM (%)
1	Kadar Air	3	≤10
2	Kadar Abu Total	10,06	-
3	Kadar Abu Larut Air	6,97	-
4	Kadar Abu Tidak Larut Asam	3,01	-
5	Susut Pengeringan	8	-
6	Kadar Sari Larut Etanol	15,62	-
7	Kadar Sari Larut Air	16,04	-

Tabel 2 Penapisan Fitokimia Simplisia Akar Pakis Tangkur

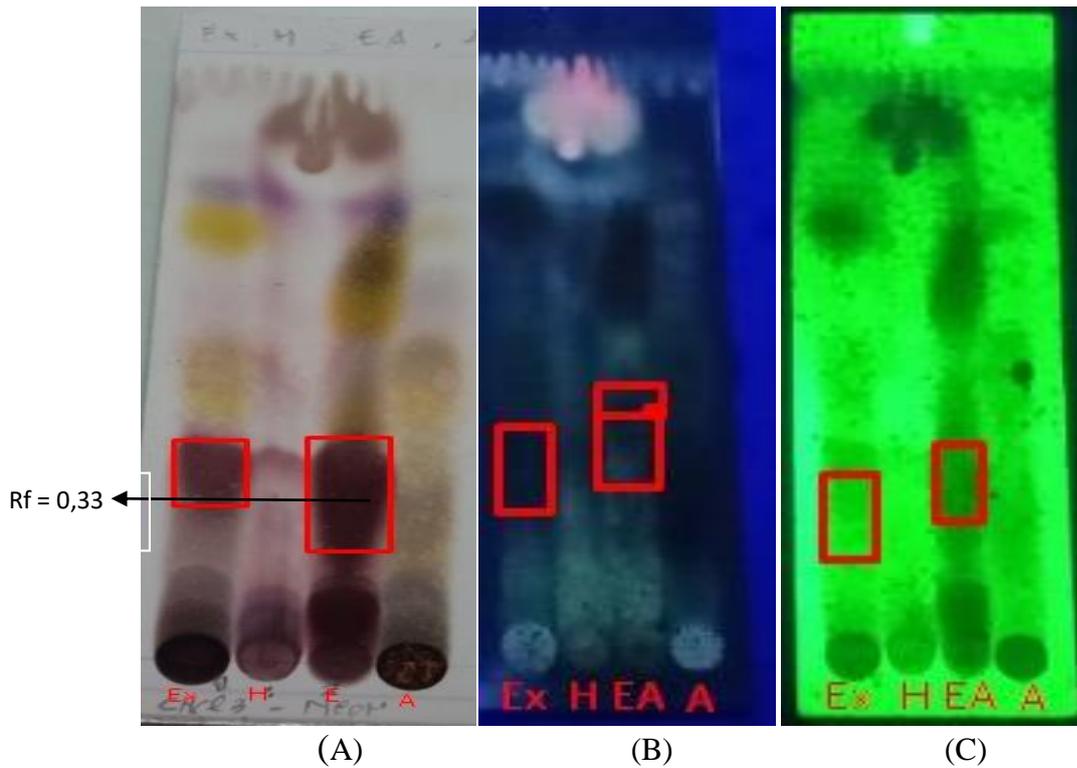
No.	Metabolit Sekunder	Hasil Penapisan		
		Simplisia	Ekstrak	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Saponin	+	+	+
4	Tanin	+	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	-	-	-
6	Kuinon	+	+	+



Gambar 3 Grafik rata-rata persen geliat

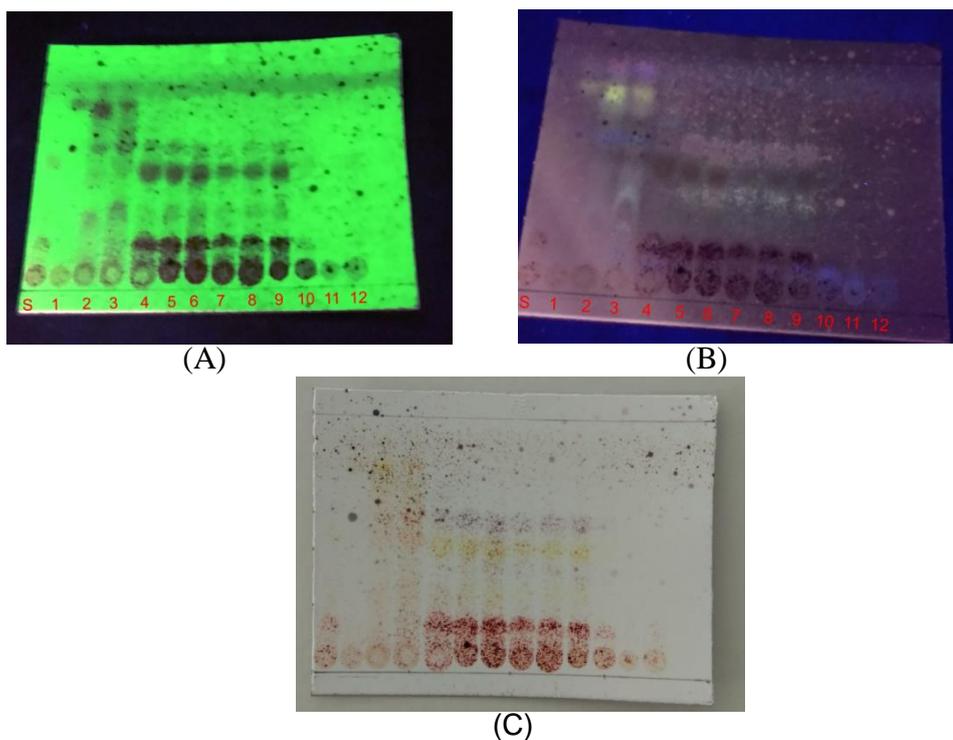


Gambar 4 Grafik rata-rata persen waktu latensi



Gambar 5 Pola kromatografi ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air

Keterangan: A = Sesudah disemprot penampak bercak anisaldehyda/asam sulfat
 B = Sebelum disemprot anisaldehyda/asam sulfat (sinar UV 366 nm)
 C = Sebelum disemprot anisaldehyda/asam sulfat (sinar UV 254 nm)



Gambar 6 Pola kromatografi hasil KCV fraksi etil asetat

Tabel 7 Rata-Rata Jumlah Geliat pada Waktu Pengamatan

Kelompok Perilaku	Rata – Rata Jumlah Geliat pada Waktu Pengamatan						Rata- Rata
	35	40	45	50	55	60	
Kontrol (+) Tragakan %	42.25 ± 2,06	39 ± 2,16	35.75 ± 1,71	32.5 ± 1,92	28.75 ± 2,22	25.5 ± 2,38	34.73 ± 2.30
Pembanding Aspirin 65 mg/KgBB	14.25 ± 2,22*	11.5 ± 3,32*	9.75 ± 2,99*	7.25 ± 3,5*	4.5 ± 2,89*	2.25 ± 1,71*	9.63 ± 2.06*
Dosis 12,5 mg/KgBB	7.5 ± 3,87*	5.75 ± 2,22*	4.75 ± 2,22*	4 ± 2,16*	3.25 ± 2,63*	2.25 ± 1,26*	9.00 ± 4.65*
Dosis 25 mg/KgBB	5.75 ± 2,75*	6 ± 2,45*	3.5 ± 1,30*	4 ± 1,41*	3.5 ± 2,08*	1.25 ± 0,6*	7.52 ± 2.74*
Dosis 50 mg/KgBB	7.75 ± 2,2*	6 ± 0,82*	5 ± 0,82*	4.5 ± 1,29*	3.75 ± 1,5*	2.5 ± 1,29*	8.42 ± 2.55*

*Berbeda bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,05$)

Tabel 8 Rata-Rata Persentase Peningkatan Waktu Latensi Hewan Uji

Kelompok Sediaan	Rata - Rata Persentasi Peningkatan Respon Hewan									Rata-Rata
	T30	T45	T60	T75	T90	T105	T120	T135	T150	
Kontrol (+) Tragakan 1%	7,5 ± 6,61	9,08 ± 12,97	23,42 ± 17,42	32,17 ± 27,38	41,43 ± 29,81	47,59 ± 48,17	41,67 ± 52,04	44,83 ± 67,48	54,25 ± 59,18	33,55 ± 35,67
Pembanding Paracetamol 325 mg, Tramadol 37,5 mg = 375 mg/70KgBB	-19,41 ± 20,31	15,75 ± 73,96*	213,73 ± 88,04*	208,97 ± 86,04*	165,21 ± 16,89*	193,04 ± 19,11*	175,27 ± 100,93*	123,99 ± 86,41*	119,41 ± 110,55*	132,88 ± 66,92*
Dosis 12,5 mg/KgBB	-5,15 ± 31,57	0,17 ± 51,10	-3,44 ± 28,01	-27,43 ± 49,37	-10,91 ± 47,29	-1,09 ± 36,67	-23,48 ± 27,26	-39,38 ± 16,86	-25,15 ± 24,21	-15,10 ± 34,70
Dosis 25 mg/KgBB	17,47 ± 20,53	35,09 ± 10,00	32,59 ± 6,67	67,15 ± 14,87	65,49 ± 36,26	49,11 ± 29,74	-25,95 ± 27,63	-29,26 ± 14,70	-22,37 ± 28,25	21,04 ± 20,96
Dosis 50 mg/KgBB	27,78 ± 14,49	8,59 ± 38,79	45,73 ± 6,58	45,07 ± -30,01	50,65 ± 21,10	-17,34 ± 29,60	-12,08 ± 38,50	-38,08 ± 23,00	-34,89 ± 7,44	8,38 ± 16,61

*Berbeda bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,05$)

Tabel 9 Persentase Proteksi Terhadap Rasa Nyeri Pada Mencit (%)

Kelompok Perlakuan	Persentase Proteksi Terhadap Rasa Nyeri Pada Mencit (%)					
	5	10	15	20	25	30
Pembanding Aspirin 65 mg/KgBB	81.67	74.51	69.40	66.82	65.29	61.00
Dosis 12,5 mg/KgBB	81.93	46.94	44.89	52.55	70.49	79.99
Dosis 25 mg/KgBB	83.15	43.31	52.36	64.44	79.13	84.42
Dosis 50 mg/KgBB	68.77	51.88	54.99	64.12	73.10	78.88

Kelompok Perlakuan	Persentase Proteksi Terhadap Rasa Nyeri Pada Mencit (%)						Rata – rata
	35	40	45	50	55	60	
Pembanding Aspirin 65 mg/KgBB	66.06	70.16	72.51	77.58	84.04	90.88	73.33
Dosis 12,5 mg/KgBB	82.03	85.04	86.55	87.41	88.12	90.82	74.73
Dosis 25 mg/KgBB	86.22	84.40	90.09	87.57	87.54	152.02	82.89
Dosis 50 mg/KgBB	73.22	84.63	86.01	86.10	86.95	90.20	74.91

Tabel 10 Persentase Efektivitas Analgetik Pada Mencit (%)

Kelompok Perlakuan	Persentase Efektivitas Analgetik (%)					
	5	10	15	20	25	30
Dosis 12,5 mg/KgBB	100.63	63.86	63.99	78.06	107.94	131.51
Dosis 25 mg/KgBB	102.41	57.62	75.74	97.01	121.81	139.03
Dosis 50 mg/KgBB	84.30	110.82	79.17	96.12	112.67	130.64

Kelompok Perlakuan	Persentase Efektivitas Analgetik (%)						Rata - Rata
	35	40	45	50	55	60	
Dosis 12,5 mg/KgBB	124.81	122.49	120.79	114.68	105.84	100.27	102.91
Dosis 25 mg/KgBB	130.80	121.07	125.22	114.04	104.83	104.88	107.87
Dosis 50 mg/KgBB	112.94	122.26	119.74	112.42	104.55	99.76	107.12

Pembahasan

Penetapan kadar abu dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsip dari pengujian ini adalah bahan dipijarkan sampai senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan hasil yang didapatkan hanya unsur mineralnya saja. Penetapan kadar abu total dilakukan untuk mengetahui kadar zat anorganik yang terdapat pada simplisia, kadar abu total yang terdapat pada akar pakis tangkur yaitu sebesar 10,06%, kadar abu larut air sebesar 6,97%. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran banyaknya senyawa anorganik seperti kontaminasi tanah ataupun logam berat yang terdapat dalam simplisia, kadar abu tidak larut asam sebesar 3,01%. Hasil ini dapat menggambarkan bahwa didalam simplisia akar pakis tangkur terdapat kandungan senyawa organik dan anorganik tetapi belum adanya nilai standar yang dapat menyatakan batasan nilai kadar abu total, kadar abu larut air, dan kadar abu tidak larut asam dari tumbuhan akar pakis tangkur. Penetapan kadar sari bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa yang dapat tersari dengan pelarut air dan etanol dari simplisia. Kadar sari larut etanol sebesar 15,62%. Sedangkan kada sari larut air sebesar 16,04%. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan memberikan batasan maksimal terhadap senyawa yang hilang akibat pengeringan. Senyawa tersebut meliputi air dan senyawa yang mudah menguap dari simplisia. Kadar susut pengeringan yang diperoleh sebesar 8%. Nilai susut pengeringan lebih besar dari nilai kadar air, hal ini disebabkan karena dalam simplisia tersebut terdapat senyawa lain yang menguap selain air seperti minyak atsiri. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal kandungan air dalam simplisia. Untuk mengetahui stabilitas suatu bahan maka hal ini bisa menjadi parameter yang sangat penting karena apabila kandungan air dalam simplisia terlalu tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak komponen yang terkandung dalam simplisia melalui reaksi enzimatik. Persyaratan kadar air pada umumnya tidak lebih dari 10% dan pada akar pakis tangkur memiliki nilai kadar air sebesar 3% sehingga dapat dinyatakan simplisia tersebut memenuhi syarat mutu simplisia.

Hasil pemeriksaan penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia akar pakis tangkur positif mengandung flavonoid, saponin, tannin, dan kuinon.

Pemeriksaan pola KLT pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) menunjukkan adanya beberapa komponen. Komponen yang paling banyak yaitu pada fraksi etil asetat, kemudian dilanjutkan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase diam silika gel 60H dan fasa gerak dengan berbagai perbandingan menggunakan tiga eluen yaitu *n*-heksan : etil asetat : metanol. Pemeriksaan pola KLT pada hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat dengan eluen kloroform : metanol (8:2) menunjukkan adanya beberapa komponen senyawa dan diperoleh $R_f = 0,3$ sebagai marker senyawa *Shellegueain A* dengan menunjukkan warna merah magenta. Hasil pemeriksaan pola KLT pada hasil tampungan KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) menunjukkan adanya pola yang sama, kemudian pola yang sama digabung membentuk tiga pola noda (1-3), (4-9), (10-12).

Pengujian aktivitas analgetik dilakukan pada hasil tampungan 1-3 KCV akar pakis tangkur secara *in vivo* dengan menggunakan mencit putih jantan galur *Swiss Webster*. Pemilihan jenis kelamin jantan didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan tidak memiliki hormon estrogen, walaupun ada hanya dalam jumlah yang relatif sedikit serta memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina karena pada mencit betina mengalami perubahan hormonal pada masa – masa

tertentu seperti pada masa siklus estrus. Selain itu tingkat stres pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan.

Pengujian aktivitas analgetik terhadap mencit dengan metode *siegmund* dan *hot plate* yang telah terbagi dalam 5 kelompok yang masing – masing terdiri dari 4 ekor tiap kelompok, yang terdiri atas kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, dan kelompok uji hasil tampungan 1-3 KCV akar pakis tangkur dosis 12,5 mg/KgBB, 25 mg/KgBB, dan 50 mg/KgBB. Hewan percobaan diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari bertujuan untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya dan memastikan hewan percobaan dalam kondisi sehat. Pengujian dengan metode *siegmund* dilakukan pengujian pendahuluan pada hewan percobaan untuk melihat adanya geliat pada hewan percobaan setelah diinduksi oleh asam asetat 0,7%. Jika hewan menunjukkan adanya geliat dan jilatan kaki lebih dari dua kali selama 5 menit, maka hewan tersebut dapat digunakan untuk pengujian aktivitas analgetik. Dari 20 ekor hewan uji semuanya menunjukkan kepekaan terhadap penginduksi nyeri yaitu asam asetat 0,7%.

Pengujian aktivitas analgetik dengan metode *siegmund* dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dalam menghambat rasa nyeri pada mencit jantan yang diinduksi asam asetat 0,7%. Keberadaan asam asetat akan menyebabkan nyeri karena dapat mengiritasi jaringan lokal karena pembebasan ion H⁺ dari asam asetat sehingga terjadi penurunan pH jaringan sehingga menimbulkan respon nyeri berupa geliat. Kriteria geliat yang ditetapkan adalah apabila mencit menarik kedua kaki kebelakang sehingga permukaan perut menempel pada lantai. Aktivitas analgetik ditunjukkan dengan penurunan jumlah geliat pada mencit yang diberi dosis sediaan uji.

Obat pembanding yang digunakan adalah aspirin. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa kelompok pembanding yang diberikan pada mencit jantan dengan dosis 65 mg/70 KgBB menunjukkan aktivitas analgetik bisa dilihat dari penurunan rata-rata jumlah geliat berbeda bermakna terhadap kontrol. Aspirin atau asetosal dapat digunakan untuk pengobatan analgetik, antipiretik, dan antiinflamasi yang sangat luas digunakan dan digolongkan dalam obat bebas. Mekanisme kerja dari aspirin yaitu menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (COX) yang mengarah pada pembentukan prostaglandin (PG) yang menyebabkan peradangan, pembengkakan, nyeri dan demam. Akan tetapi, dengan menginhibisi enzim ini dalam sintesis PG, aspirin juga mencegah produksi PG yang penting secara fisiologis untuk melindungi mukosa lambung dari kerusakan oleh asam klorida.

Pengujian aktivitas analgetik hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur pada dosis 12,5 mg/KgBB, 25 mg/KgBB, dan 50 mg/KgBB. Pada tabel di atas menunjukkan bahwa hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur memiliki aktivitas analgetik dengan menurunkan jumlah geliat berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada dosis 12,5 mg/KgBB menunjukkan adanya aktivitas analgetik terjadi pada waktu pengamatan menit 5, 20 sampai dengan menit 60 kecuali pada menit 10 dan 15. Dosis 25 mg/KgBB pada menit 5 sampai dengan 60 menunjukkan adanya aktivitas analgetik. Dosis 50 mg/KgBB pada menit 5 sampai dengan 60 menunjukkan adanya aktivitas analgetik. Hal ini dapat menyatakan bahwa pada dosis tersebut memiliki aktivitas analgetik.

Selanjutnya dihitung persentase proteksi analgetik, digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan dari hasil tampungan 1-3 KCV fraksi akar pakis tangkur dalam mengurangi rasa nyeri kelompok kontrol

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pembanding atau aspirin mempunyai rata – rata persentase tertinggi yaitu sebesar 73,33 % diikuti hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat pada dosis 12,5 mg/KgBB yang mempunyai rata – rata persentase proteksi analgetik yaitu 74,73 %, dibandingkan dengan dosis 25 mg/KgBB sebesar

82,89 % dan dosis 50 mg/KgBB sebesar 74,91 %. lebih tinggi dibandingkan dosis 12,5 mg/KgBB.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada dosis 25 mg/KgBB memiliki efektifitas analgetik tertinggi dibandingkan dengan dosis 12,5 mg/KgBB dan 50 mg/KgBB yang berarti dosis 25 mg/KgBB sangat efektif dalam mengurangi rasa nyeri yang disebabkan oleh asam asetat.

Pada metode *hot plate* dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) dalam menghambat rasa nyeri pada mencit jantan yang diletakkan pada plat panas yang bertujuan untuk mengetahui waktu latensi. Waktu latensi yang diukur adalah intervensi waktu saat mencit diletakkan diatas plat sampai mencit menimbulkan respon mengangkat atau menjilat kaki, dan meloncat, diukur menggunakan timer pada menit 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, dan 150 menit sebelum dan sesudah perlakuan dengan suhu 50 °C. Aktivitas analgetik ditunjukkan dengan peningkatan waktu latensi pada mencit yang diberi dosis sediaan uji.

Obat perbandingan yang digunakan adalah parasetamol + tramadol. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa kelompok perbandingan yang diberikan pada mencit jantan dengan dosis 362,5 mg/70KgBB menunjukkan aktivitas analgetik bisa dilihat dari peningkatan waktu latensi berbeda bermakna terhadap kontrol. Tramadol bekerja sebagai analgetik melalui dua mekanisme yaitu efek opioid dan memacu jalur serotonin dan adrenergik. Tramadol dipilih karena memiliki efek samping khas opioid yang lebih sedikit dibanding kelompok opioid lainnya. Tramadol bekerja mengurangi nyeri sedang sampai berat, terutama yang pada bagian viseral dengan cara menghambat *re-uptake* noradrenalin dan serotonin dan sedangkan mekanisme kerja dari parasetamol yaitu meningkatkan batas ambang nyeri dengan cara menghambat N-metil-D-aspartate (NMDA) yang berperan penting dalam menghantarkan dan mempertahankan nyeri pada kondisi nyeri kronik.

Pengujian aktivitas analgetik hasil tampungan KCV 1-3 fraksi etil asetat akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) pada dosis 12,5 mg/KgBB, 25 mg/KgBB dan 50 mg/KgBB dengan metode *Hot Plate* pada tabel di atas menunjukkan bahwa hasil pengujian menunjukkan dosis uji tersebut tidak memiliki aktivitas analgetik dengan tidak adanya peningkatan waktu latensi yang berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil pengujian efek analgetik hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) pada mencit putih jantan galur *swiss webster* dapat disimpulkan bahwa hasil tampungan 1-3 KCV fraksi etil asetat akar pakis tangkur dosis 12,5 mg/KgBB, 25 mg/KgBB, dan 50 mg/kgBB memiliki aktivitas analgetik lemah sampai sedang, namun tidak memiliki aktivitas analgetik kuat. Aktivitas analgetik dosis uji 25 mg/KgBB memiliki aktivitas analgetik yang lebih efektif ditunjukkan oleh rata-rata persen proteksi sebesar 82,89% dan rata-rata persen efektifitas analgetik sebesar 107,87%.

Daftar Pustaka

1. Dipro, J. T., Dipiro, C. V., Schwinghammer, T. L. and Wells, B. G. Pharmacotherapy Handbook 9th ed. New York : McGraw Hill-Education; 2015.
2. Yam, MF., Dkk. General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. Int J Mol Sci. 2018; 10. DOI : 10.3390.
3. Mutschler, E., Dinamika Obat, Terjemahan Widiyanto M.B., dan A.S. Ranti, Edisi V. Bandung: Penerbit ITB; 1991.
4. Tjay, T.H., Rahardja , K. Obat-Obat Penting Edisi ke 6. Jakarta : Kompas-Gramedia; 2007.

5. Subarnas, A and Wagner. Analgetic and Anti-inflammatory Activity of the Proantocyanidin Shellegueain A from *Polypodium feei* METT. *Phytomedicine*.2000.
6. Yulinah, E., Dkk. ISO Farmakoterapi. Jakarta: PT. ISFI; 2008.
7. Ikawati, Z. Farmakoterapi Penyakit Sistem Syaraf Pusat. Yogyakarta : Bursa Ilmu; 2011.
8. Domer.F.R. Animal Experiments in Pharmacological Analysis. Thomas.C.Charles Publisher; 1971.
9. Hanani, Endang. Analisis Fitokimia. Jakarta : EGC; 2015.
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I, Dirjen POM, Jakarta; 2013.
11. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara Pembuatan Simplisia. Dirjen POM, Jakarta; 1985.
12. Dirjen POM. Materi Medika Indonesia, Jilid II, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta; 1989.
13. Dewangga, R.A. Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Akar Pakis Tangkur (*Polypodium feei* METT) Pada Mencit Jantan Galur *Swiss Webster*". Tugas Akhir Sarjana Farmasi. Jurusan Farmasi. Garut: FMIPA UNIGA; 2017:
14. Rohmat, A.S. "Pengujian Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar Pakis Tangkur (*Polypodium feei* METT) Pada Mencit Betina Galur *Swiss Webster*". Tugas Akhir Sarjana Farmasi. Jurusan Farmasi. Garut: FMIPA UNIGA; 2017: 4-6
15. Dalimunthe, C.I.,Dkk,. 2016. "Identifikasi Dan Uji Metabolit Sekunder Bangun-Bangun (*Coleus Amboinicus*) Terhadap Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidoporus Microporus*) Di Laboratorium" Jurnal Penelitian Karet. 2016; 34 (2) : 189 – 200.
16. Mutmainah, P.A.,Dkk. "Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus Odoratissimus*". 2017; JPPIPA: 3(2).
17. Mimi, A. Dkk,. "Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) Terhadap Mencit Putih Betina". 2015; Scientia Vol. 5 No. 2.
18. Novitasari, M.R. Dkk,. "Profil Kromatografi Senyawa Aktif Antioksidan Dan Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Libo (*Ficus Variegata* Blume.)". 2015; Jurnal Sains dan Kesehatan. Vol 1. No 3.
19. Anelia T. Djamil R. Penafiasan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2009; vol 7 (2) 65-71.
20. Arinawati, D., Susilowati H. Supriatno. Pengaruh Lama Pemberian Aspirin Pada Ekspresi Protein KI-67 Dan Ketebalan Epitel Mukosa Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan. 2014; Dental journal. Vol. 47, No. 3.
21. Karmenda, D. Oktaliansah, E. Surahman, E. Perbandingan Kombinasi Tramadol Parasetamol Intravena Dengan Tramadol Ketorolak Intravena Terhadap Nilai Numeric Rating Scale Dan Kebutuhan Opioid Parcahiterektomi. 2015; JAP.2015;3(3): 189-95.
22. Anonim. Pedoman Pengujian & Penapisan Farmakologi Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. 157-8. Yayasan Pengembangan Obat Alam, Jakarta; 1993.
23. Stoelting RK. Pharmacology & Physiology in Anesthetic Practice 5th Edition. Wolter Kluwer Health. 2016; 206-16.
24. Hiastuti, DR. Telaah Fitokimia Daun Kaca Piring (*Gardenia jasminoides Ellis*). Tugas Akhir Sarjana Farmasi. Jurusan Farmasi. Garut: FMIPA UNIGA; 2018 : 28.