



Research article

Efek Analgesik Ekstrak Etanolik Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia alba*) terhadap Mencit (*Mus musculus L.*) Jantan yang Diinduksi Asam Asetat 0,7%

ANDREW THEO WILLIAM CHRIS PURMATA^{1*}, LESTARI DEWI², CHOESNAN EFFENDI³

^{1,2,3} Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya

*Corresponding author : andrewtheowcp98@gmail.com

ABSTRACT

Background : *Avicennia alba* or known as mangrove api-api putih is a type of mangrove species which has many benefits and often to be used by the local Indonesians as traditional medicine. The alcaloid and flavonoid substances derived from *Avicennia alba* leaves could inhibit pain. This study aims to determine the analgesic effect of *Avicennia alba* leaves extract in male mice (*Mus musculus L.*) induced by acetic acid 0,7%.

Method :25 mice were divided into 5 groups that were given different therapies. The therapy are 10 mL/kg bw of water, 150 mg/kg bw of acetosal, 250 mg/kg bw; 500mg/kg bw; 1000 mg/kg bw of *Avicennia alba* leaves extract. 0,7% acetic acid with dose of 10 mL/kg bw is given to each subject intraperitoneally 30 minutes after the therapy to induce pain. The pain is manifested as writhes in mice, the writhes then are counted repeatedly each 10 minutes for 30 minutes.

Result:: mean of writhes in group treated with *Avicennia alba* leaves extract in 250 mg/kg bw and 500 mg/kg bw with each value 6,20 and 9,40 are less than mean of writhes in negative control group with value 31,40. %inhibition of *Avicennia alba* leaves extract with dose of 250 mg/kg bw and 500 mg/kg bw respectively are 80,25% and 70,06%.

Conclusion : *Avicennia alba* leaves extract in 250 mg/kg bw and 500 mg/kg bw dosage showed analgesic effect in male mice (*Mus musculus L.*) induced with 0,7% acetic acid.

Keywords :pain, analgesic, *Avicennia alba*

ABSTRAK

Latar belakang : *Avicennia alba* atau disebut sebagai mangrove api-api putih adalah jenis spesies mangrove yang memiliki banyak manfaat dan sering digunakan oleh penduduk lokal Indonesia sebagai obat tradisional. Kandungan alkaloid dan flavonoid yang didapat dari daun *Avicennia alba* dapat menghambat nyeri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek analgesik ekstrak daun *Avicennia alba* pada mencit (*Mus musculus L.*) jantan yang diinduksi nyeri dengan asam asetat 0,7%.

Metode : 25 mencit dibagi menjadi 5 kelompok yang diberikan terapi yang berbeda-beda. Terapi yang diberikan adalah 10 mL/kgBB akuades, 150 mg/kgBB asetosal, 250 mg/kgBB; 500 mg/kgBB; 1000 mg/kgBB ekstrak daun *Avicennia alba*. Asam asetat 0,7% dengan dosis 10 mL/kgBB kemudian diinjeksikan ke tiap subyek secara intraperitoneal 30 menit setelah pemberian terapi untuk menginduksi nyeri. Nyeri dimanifestasikan sebagai gerakan menggeliat pada mencit, geliat kemudian dihitung tiap 10 menit selama 30 menit.

Hasil : rerata geliat pada kelompok ekstrak daun *Avicennia alba* dengan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB rerata geliat lebih kecil yaitu sebesar 6,20 dan 9,40 dibandingkan rerata geliat kontrol negatif yang sebesar 31,40. Didapat %inhibisi ekstrak daun *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB masing-masing sebesar 80,25% dan 70,06%.

Kesimpulan ; Ekstrak daun *Avicennia alba* dengan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki efek analgesik terhadap mencit (*Mus musculus L.*) jantan yang diinduksi nyeri dengan asam asetat 0,7%.

Kata kunci : nyeri, analgesik, *Avicennia alba*

LATAR BELAKANG

Nyeri merupakan gejala yang sering dikeluhkan oleh pasien ketika berobat. Berdasarkan *International Association for the Study of Pain (IASP)* nyeri didefinisikan sebagai sensasi yang tidak menyenangkan yang dialami oleh suatu individu. Nyeri secara fisiologis diperlukan oleh tiap makhluk hidup sebagai peringatan akan adanya bahaya (Steeds, 2016). Bila nyeri terlalu intens maka akan menimbulkan persepsi patologis yang dapat menyebabkan suatu individu mencari pengobatan untuk meredakan nyeri yang dirasakan. Obat pereda nyeri ini disebut sebagai analgesik, dan terdapat berbagai macam analgesik mulai dari obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS), acetaminophen atau golongan opioid (Ortiz et al., 2012). OAINS merupakan

analgesik yang sering diresepkan serta terjual bebas di masyarakat. Di Amerika Serikat dan Eropa Barat, OAINS telah diresepkan sebanyak 4%-7%. OAINS sering digunakan untuk meredakan nyeri, namun seringkali penggunaannya disalahgunakan dan seringkali dikonsumsi secara berlebihan. Konsumsi OAINS yang berkepanjangan dapat menimbulkan efek samping berupa kerusakan mukosa gastrointestinal, antara lain yang paling sering terjadi adalah ulkus peptikum (Zahra dan Carolia, 2017). Penggunaan OAINS selektif menjadi alternatif dalam mencegah terjadinya ulkus peptikum, namun penggunaan OAINS selektif dapat meningkatkan risiko kardiovaskuler dan kejadian aterotrombotik (Patrono, 2016). Sehingga perlu dicari alternatif dari OAINS yang memiliki efek samping paling minimal, serta mudah dan murah untuk didapat.

Obat-obat herbal tradisional menjadi salah satu alternatif yang layak dipertimbangkan. Pengobatan herbal tradisional telah dikenal sejak zaman dahulu di Indonesia dan banyak tanaman obat telah dilaporkan memiliki efek terapeutik terhadap berbagai penyakit (Auliah et al., 2019). *Avicennia alba* atau mangrove api-api putih merupakan jenis spesies mangrove yang memiliki banyak manfaat dan sering digunakan oleh penduduk pesisir Indonesia (Mondal et al., 2015). *Avicennia alba* diolah oleh penduduk lokal menjadi berbagai produk seperti bahan makanan, kosmetik, dan obat-obatan, Batang *Avicennia alba* digunakan sebagai kayu bakar untuk keperluan rumah tangga dan juga sebagai bahan baku untuk pembuatan bata dan genteng. Daun *Avicennia alba* sering digunakan oleh penduduk di pesisir pantai Riau sebagai salep luka serta obat antidiare (Ridhwan, 2012). Komponen fitokimia utama yang terkandung pada daun *Avicennia alba* antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, steroid, tannin, dan fenol (Putri et al., 2015). Kandungan alkaloid dan flavonoid dari *Avicennia alba* dapat menghasilkan efek analgesik atau inhibisi terhadap nyeri dan dapat digunakan sebagai antioksidan alami bila dikonsumsi (Wibowo et al., 2010). Pada penelitian dengan metode induksi asam asetat oleh Rahman, dkk didapat ekstrak metanolik daun *Avicennia alba* pada dosis 500 mg/kgBB secara signifikan ($p=0,01<0,05$) dapat menginhibisi nyeri pada mencit albino (Rahman et al., 2011).

Berdasarkan fakta yang telah dipaparkan diatas, peneliti tertarik untuk meneliti dan mempelajari lebih dalam tentang efek analgesik yang dihasilkan dari ekstrak daun *Avicennia alba*. Pada penelitian ini, penulis akan meneliti efek analgesik dengan metode induksi asam asetat pada mencit. Metode ini umum dipakai dan penilaiannya cukup mudah. Nyeri dimanifestasikan oleh mencit dengan gerakan menggeliat. Penilaian efek analgesik obat atau ekstrak didapat dari perbandingan frekuensi geliat kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif dan melalui perhitungan %inhibisi dari kelompok perlakuan (Weisbroth et al., 2015).

METODE

Alat & Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang hewan coba, tempat makan dan minum hewan coba, sekam, timbangan bahan, timbangan hewan coba, sonde mencit, stopwatch, gelas ukur, pengaduk kaca, botol kecil, bak plastic, spuit 5 mL dan jarum suntik

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : ekstrak daun *Avicennia alba*, asetosal, asam asetat, mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur DDY yang berumur 7-9 minggu dengan berat 20-30 gram sebanyak 25 ekor

Pembuatan ekstrak

Daun *Avicennia alba* dikeringkan, kemudian diolah menjadi sediaan serbuk lalu serbuk daun *Avicennia alba* diekstrak dalam soxhlet apparatus dengan petroleum eter dalam suhu 60-80°C untuk membuang materi berlemak. Residu yang sudah dibuang lemaknya diekstrak lagi dengan etanol dalam suhu kamar selama 48 jam lalu diaduk berulang kali. Ekstrak etanolik kemudian disaring dengan kertas saring dan filtratnya ditampung di dalam tabung Erlenmeyer selanjutnya ampas atau sisa penyaringan dimaserasi ulang dengan etanol 96%. Pengulangan proses penyaringan, ampas kemudian dimasukkan ke dalam cawan yang akan diuapkan dengan *rotatory evaporator* dalam suhu 48°C selama 4 jam atau dilakukan *waterbath* dengan suhu air 70-80°C hingga menjadi ekstrak yang kental.

Proses penelitian

Mencit dipelihara di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya. Penelitian dimulai dengan melakukan adaptasi terhadap mencit di Laboratorium Biokimia Universitas Hang Tuah Surabaya selama 7 hari dan pengelompokan dilakukan dengan teknik randomisasi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kelompok perlakuan standar (K2), kelompok perlakuan 1 (K3), kelompok perlakuan 2 (K4) dan kelompok perlakuan 3 (K5) yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Tiap kelompok diberi makan pelet dan akuades *secara ad libitum*. Pertama mencit diberi terapi seperti berikut :

- Kelompok Kontrol Negatif (K1) : diberi akuades per oral dengan dosis 10 mL/kgBB
- Kelompok Perlakuan standar (K2) : diberi asetosal per oral dengan dosis 150 mg/kgBB
- Kelompok Perlakuan 1 (K3) : diberi ekstrak daun mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) per oral dengan dosis 250 mg/kgBB
- Kelompok Perlakuan 2 (K4) : diberi ekstrak daun mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) per oral dengan dosis 500 mg/kgBB
- Kelompok Perlakuan 3 (K5) : diberi ekstrak daun mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) per oral dengan dosis 1000 mg/kgBB

Setelah 30 menit pemberian terapi diinjeksikan asam asetat 0,7% dengan dosis 10 mL/kgBB secara intraperitoneal pada semua subyek penelitian. Setelah 5 menit pascainjeksi, dilakukan pencatatan jumlah geliat selama 30 menit, penghitungan dilakukan dengan interval tiap 10 menit yaitu pada menit ke-10, 20, dan 30. Data yang telah diperoleh kemudian dibandingkan dan dihitung %inhibisi. Penghitungan %inhibisi didapat dengan formula berikut :

$$\%inhibisi = 100 - [(P/K) \times 100]$$

Keterangan :

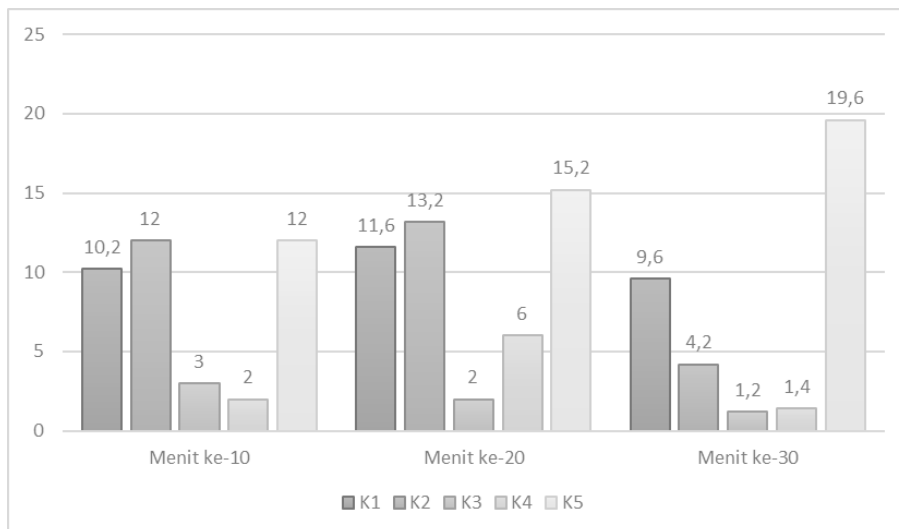
P = rata-rata jumlah geliat kelompok perlakuan standar, 1, 2, dan 3

K = rata-rata jumlah geliat kelompok kontrol negatif

Selain itu dilakukan perbandingan secara statistika, uji statistika dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) untuk Windows versi 23.0 dengan signifikansi 0,05 (5%)

HASIL

Hasil analisa deskriptif terhadap rerata geliat tiap periode penghitungan yang tertera pada gambar 1. Didapatkan rerata geliat terendah pada menit ke-10 terdapat pada kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 500 mg/kgBB (K4) sebesar 2, sedangkan rerata geliat tertinggi pada menit ke-10, didapat pada kelompok yang diberi asetosal 150 mg/kgBB (K2) dan kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 1000 mg/kgBB (K5) dengan nilai rerata keduanya sebesar 12. Pada menit ke-20 rerata terendah didapat pada kelompok diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB (K3) dengan nilai rerata sebesar 2 dan rerata tertinggi kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 1000 mg/kgBB (K5) nilai reratanya sebesar 15,2. Pada menit ke-30 rerata terendah didapat pada kelompok diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB (K3) yang sebesar 1,2 dan rerata tertinggi kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 1000 mg/kgBB yang sebesar 19,6 (K5).



Gambar 1 Grafik rerata geliat tiap 10 menit

Dilakukan perhitungan rerata dari jumlah geliat selama 30 menit dan didapatkan hasil seperti pada tabel 1. Rerata geliat tertinggi selama 30 menit didapat pada kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 1000 mg/kgBB (K5) sebesar 46,8 dan rerata geliat terendah selama 30 menit didapat pada kelompok diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB (K3) sebesar 6,20. Selain itu dihitung pula %inhibisi pada tiap kelompok. %inhibisi tertinggi didapat pada kelompok diterapi ekstrak *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB (K3) yaitu sebesar 80,25%. Kelompok yang diberi ekstrak *Avicennia alba* dosis 500 mg/kgBB (K4) memiliki %inhibisi sebesar 70,06%.

Tabel 1 Rerata jumlah geliat selama 30 menit

Kelompok	Rerata ± Standar Deviasi	%inhibisi
K1	31,40 ± 27,18	0
K2	29,40 ± 14,61	6,37
K3	6,20 ± 2,59	80,25
K4	9,40 ± 5,77	70,06
K5	46,80 ± 15,40	0*

Keterangan :

* %inhibisi pada K5 didapatkan -49,05, namun karena rentang %inhibisi hanya dari 0-100, maka dimasukkan %inhibisi bernilai 0, artinya pada dosis ini tidak didapatkan efek inhibisi terhadap nyeri (Milind dan Monu, 2013).

Karena data tidak memenuhi syarat uji parametrik, yaitu data harus berdistribusi normal dan homogen maka untuk analisis statistik dilakukan dengan uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal-Wallis dilakukan terhadap data jumlah geliat selama 30 menit. Dari hasil analisis Kruskal-Wallis diperoleh perbedaan bermakna sebesar $p= 0,007$ ($p<0,05$), oleh karena itu dilanjutkan dengan uji analisis post-hoc dengan Mann-Whitney U, untuk mengetahui perbedaan terjadi pada kelompok mana saja. Hasil uji Mann-Whitney terhadap jumlah geliat selama 30 menit yang tertera pada tabel 2, dapat disimpulkan sebagai berikut :

- Terdapat perbedaan bermakna antar K2 dengan K3; K2, dengan K4, K3 dengan K5 dan K4 dengan K5

- Tidak terdapat perbedaan bermakna antar K1 dengan K2, K1 dengan K3, K1 dengan K4, K1 dengan K5, K2 dengan K5, dan K3 dengan K4

Tabel 2 Uji *Mann-Whitney U* terhadap jumlah geliat selama 30 menit

Sig	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0,754	0,074	0,207	0,347
K2			0,012	0,016	0,076
K3				0,401	0,009
K4					0,009
K5					

Keterangan :



: beda bermakna

: tidak beda bermakna

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, terdapat 5 kelompok terapi yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit putih (*Mus musculus L.*) yang diinduksi nyeri dengan injeksi asam asetat 0,7%. Injeksi asam asetat dilakukan 30 menit setelah pemberian terapi : akuades, asetosal, dan ekstrak daun *Avicennia alba*. Setelah pemberian terapi ditunggu 30 menit, hal ini dilakukan agar ekstrak beserta kandungannya dapat diabsorpsi secara baik pada tubuh mencit (Rahman et al., 2005). Lalu setelah 30 menit pemberian terapi, diinjeksikan asam asetat 0,7% dengan dosis 10 mL/kgBB secara intraperitoneal pada semua mencit. Penghitungan geliat dilakukan 5 menit pascainjeksi selama 30 menit, dengan interval penghitungan diulang tiap 10 menit.

Dalam penelitian ini iritan nyeri yang digunakan adalah asam asetat 0,7%, iritan ini akan membuat jejas pada lapisan mukosa peritoneum, jaringan yang rusak akan merilis PGE2 & PGF2 α yang akan menstimulasi nosiseptor yang berdekatan. Nosiseptor yang aktif akan menimbulkan nyeri yang dimanifestasikan dalam geliat,

Geliat yang dinilai adalah pergerakan berupa kontraksi dorsoabdominal, peregangan ekstremitas, dan perut menciit yang menempel pada lantai (Gawade, 2012).

Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa pada dosis 250 mg/kgBB (K3) dan dosis 500 mg/kgBB (K4) ekstrak daun *Avicennia alba* menunjukkan efek analgesik, dibuktikan dengan rerata geliat yang lebih kecil (rerata K3=6,20;K4=9,40) dibandingkan dengan kontrol negatif (rerata=31,40). %inhibisi dari K3 (%inhibisi=80,25%) dan K4 (%inhibisi=70,06%) juga menunjukkan bahwa pada kedua dosis terjadi penghambatan terhadap nyeri. Penghambatan ini disebabkan kandungan flavonoid dan alkaloid yang dimiliki daun *Avicennia alba*. kandungan flavonoid yang menghambat aktivasi nyeri perifer dan juga kandungan alkaloid yang menghambat transmisi nyeri ke sistem saraf pusat (Rahman et al., 2011).

Rerata jumlah geliat tertinggi didapat pada kelompok ekstrak daun *Avicennia alba* dosis 1000 mg/kgBB sebesar 46,80. Hal ini disebabkan dalam dosis tinggi, flavonoid dapat mengaktivasi reseptor opioid. Selain flavonoid reseptor opioid juga dapat diaktivasi oleh alkaloid, alkaloid mengaktivasi reseptor opioid pada neuron afferen. Teraktivasinya reseptor opioid ini berperan pada proses analgesia sentral (Higgs et al., 2013; Katavic et al., 2007). Namun, bila reseptor ini sering teraktivasi, maka ambang nyeri dapat menurun dan akan memunculkan respon *hyperalgesia* terinduksi opioid. Sehingga nyeri yang dirasakan semakin intens dan gerakan geliat menciit semakin banyak (Liang et al., 2013).

KESIMPULAN

Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa Ekstrak mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki efek analgesik terhadap menciit (*Mus musculus L.*) jantan yang diinduksi nyeri dengan asam asetat 0,7%, sedangkan dosis 1000 mg/kgBB tidak memiliki efek analgesik

DAFTAR PUSTAKA

- Auliah, N., Lotuconsina, A.A., Thalib, M., 2019. Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Asam Asetat. *J. Ris. Kefarmasian Indones.* 1, 103–113. <https://doi.org/10.33759/jrki.v1i2.24>
- Gawade, S.P., 2012. Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice 3, 103699. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.103699>
- Higgs, J., Wasowski, C., Loscalzo, L., Marder, M., 2013. In vitro binding affinities of a series of flavonoids for m-opioid receptors. Antinociceptive effect of the synthetic flavonoid 3,3-dibromoflavanone in mice. *Neuropharmacology* 72. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.020>
- Katavic, P.L., Lamb, K., Navarro, H., Prisinzano, T.E., 2007. Flavonoids as opioid receptor ligands: identification and preliminary structure-activity relationships. *J. Nat. Prod.* 70, 1278–1282. <https://doi.org/10.1021/np070194x>
- Liang, D.-Y., Li, X., Clark, J.D., 2013. Epigenetic Regulation of Opioid-Induced Hyperalgesia, Dependence, and Tolerance in Mice. *J. Pain* 14, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.10.005>
- Milind, P., Monu, Y., 2013. Laboratory Models for Screening Analgesics 4, 15–19.
- Mondal, R.D., Banerjee, A., Bala, A., Sengupta, A., 2015. *Avicennia alba* : The New phytochemical weapon to fight against acute inflammation 6–12.
- Ortiz, M.I., Molina, M.A.R., Arai, Y.-C.P., Romanò, C.L., 2012. Analgesic drugs combinations in the treatment of different types of pain. *Pain Res. Treat.* 2012, 612519. <https://doi.org/10.1155/2012/612519>
- Patrono, C., 2016. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 82, 957–964. <https://doi.org/10.1111/bcp.13048>
- Putri, D.T.W., Soewondo, I.K., Mulawarmanti, D., 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia Alba*) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus (*The Effect of Etanol Extract of Mangrove Leaf (Avicennia alba) To Healing of Traumatic Ulcer*) 9, 90–100.
- Rahman, A., Choudhary, M.I., Thomson, W., 2005. *Bioassay Techniques for Drug Development*.
- Rahman, M.A., Biswas, S., Bala, V., Shill, A.K., Bose, U., 2011. Antidiarrhoeal and antinociceptive activities of leaf of *Avicennia alba*. *Pharmacologyonline* 1, 492–500.
- Ridhwan, M., 2012. Tingkat Keanekaragaman Hayati dan Pemanfaatannya di Indonesia 1, 1–17.
- Steeds, C.E., 2016. The Anatomy and Physiology of Pain. *Surg. (United Kingdom)* 34, 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.11.005>
- Weisbroth, S.H., Flatt, R.E., Kraus, A.L., Andrews, E.J., Ward, B.C., Altman, N.H., 2015. *LABORATORY ANIMAL MEDICINE: American College of Laboratory Animal Medicine Series, 3rd ed.*
- Wibowo, C., Kusmana, C., Suryani, A., Hartati, Y., Oktadiyani, P., 2010. Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove Api-Api (*Avicennia* spp.) sebagai Bahan Pangan dan

Obat-Obatan.

Zahra, A.P., Carolia, N., 2017. Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotoksik. Majority 6, 153–158.