BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Aktivitas Analgesik Senyawa AEW1

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji adanya aktivitas analgesik dari senyawa AEW1 terhadap mencit. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *writhing test*. Metode *writhing test* adalah metode kimia yang digunakan untuk menguji aktivitas analgesik suatu senyawa. Prinsip kerja dari metode ini adalah mengamati respon geliat yang terjadi karena pemberian rangsangan nyeri oleh suatu iritan. Pemberian iritan ini dilakukan dengan cara menginjeksikan asam asetat sebagai penginduksi nyeri secara intraperitonial pada mencit (Gawade, 2012). Pemilihan asam asetat sebagai penginduksi nyeri dipilih karena nyeri yang dihasilkan berasal dari reaksi inflamasi akut lokal. Reaksi ini menyebabkan pelepasan asam arakidonat dari jaringan fosfolipid melalui jalur siklooksigenase dan menghasilkan prostaglandin di dalam cairan intraperitonial sehingga menimbulkan respon geliat pada mencit (Marlyne, 2012). Respon geliat ditandai dengan adanya kontraksi otot perut, perut menyentuh bagian lantai, tarikan kaki kebelakang, membengkokkan kepala, dan punggung meliuk (Gawade, 2012).

Pemberian bahan uji dilakukan 30 menit sebelum mencit diberi penginduksi nyeri yaitu asam asetat 0,6% sebanyak 0,2 ml secara intraperitonial. Hal ini bertujuan untuk melihat kerja dari masing-masing

bahan uji dalam memberikan efek proteksi terhadap rasa nyeri. Setelah pemberian asam 0,2 ml asetat 0,6% selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap banyaknya jumlah geliat yang dihasilkan selama satu jam tiap 5 menit. Jumlah geliat yang dihasilkan dari masing-masing kelompok dirata-ratakan dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Rata-rata jumlah geliat yang lebih sedikit dari kelompok kontrol menandakan adanya aktivitas analgesik pada mencit (Goenarwo dan Susanto, 2011). Hasil pengamatan berupa rata-rata jumlah geliat yang terjadi setiap kelompoknya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah geliat yang dihasilkan dari uji aktivitas analgesik senyawa AEW1 pada mencit

Kelompok	Rata-Rata Jumlah Geliat mencit Menit ke- ±SD												∑
	5'	**10'**	**15'**	**20'**	**25'**	**30'**	**35'**	**40'**	**45'**	**50'**	**55'**	**60'**	
Kontrol Negatif	9.75±2.986	9.25±1.708	11.75±2.062	12±1.826	13.25±3.304	13±3.367	15.75±7.848	14.75±7.5	9±6.005	9.25±6.946	8.75±6.185	5.5±3.512	132
Kontrol Positif	3.75±1.258	3.5±1	5.25±0.5	4.75±1.708	3.25±3.775	2.75±1.708	4±1.633	5.5±1.732	4±1.414	1.5±1.732	3±1.414	2.5±1.291	43.75
Dosis 1	8.25±1.258	8±1.633	10.5±1.291	8.25±1.708	9.5±1.732	9.25±2.062	8±1.414	8.5±1.732	8.75±1.5	7.25±0.957	7±1.155	6±2.160	99.25
Dosis 2	8.5±7.047	5.5±3.697	3.5±2.380	8.5±7.416	3.25±2.872	3.5±1.732	3.25±4.717	5±4.242	3.75±4.349	0±0	3±3.830	3.75±4.113	51.5
Dosis 3	8±2.582	6.5±3.697	5.75±1.5	4.5±3.873	2.75±3.403	3±1.414	5.75±4.031	2.25±2.872	1.75±2.061	2.75±3.593	3±2.708	1.75±1.258	47.75

Keterangan:

Kontrol negatif = CMC 0,5%

Kontrol positif = Larutan asetosal 65mg/KgBB

Dosis 1 = Senyawa AEW1 7 mg/KgBB

Dosis 2 = Senyawa AEW1 14 mg/KgBB

Dosis 3 = Senyawa AEW1 28 mg/KgBB

Ketiga kelompok dosis perlakuan senyawa AEW1 dan kelompok kontrol positif (asetosal 65 mg/KgBB) menunjukkan adanya perbedaan rata-rata jumlah geliat dibandingkan kelompok kontrol negatif sebesar 99,5; 51,5; 47,75; dan 43,75 sedangkan pada kelompok kontrol negatif sebesar 132. Hal ini menunjukkan adanya efek analgesik dari senyawa AEW1 dan asetosal. Kelompok yang paling sedikit menghasilkan rata-rata jumlah geliat adalah kelompok kontrol positif (asetosal 65 mg/KgBB), sedangkan dari ketiga dosis senyawa AEW1 yang memiliki rata-rata jumlah geliat terbaik adalah dosis 3 (dosis 28 mg/KgBB). Semakin sedikit jumlah rata-rata geliat yang dihasilkan maka semakin baik efek analgesik yang ditimbulkan (Puspitasari, *et al.*, 2003).

Hasil uji dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan analisis statistik. Hal yang pertama dilakukan adalah uji normalitas menggunakan analisis Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas menggunakan analisis Levene. Uji normalitas digunakan untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Sedangkan uji homogenitas digunakan untuk menentukan apakah data terdistribusi homogeny atau tidak. variansi satu arah (ANOVA *one way*). Hasil uji statistik yang diperoleh dari pengamatan jumlah geliat pada mencit memiliki nilai signifikansi normalitas sebesar $\rho = 0,586$ dan nilai signifikansi homogenitas sebesar $\rho = 0,170$. Hal ini menandakan bahwa data terdistribusi normal dan bervariansi homogen ($\rho = >0,05$). Setelah data dinyatakan normal dan homogen, maka analisis dilanjutkan dengan analisis menggunakan ANOVA *one way*.

Analisis ANOVA *one way* adalah analisis pengelolaan data yang dilakukan untuk menguji perbedaan nilai diantara dua kelompok atau lebih (Riduwan, 2003). Analisis ANOVA *one way* digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan secara bermakna terhadap data jumlah geliat pada masing-masing kelompok perlakuan. Syarat yang harus dipenuhi dalam analisis menggunakan ANOVA *one way* diantaranya adalah data harus terdistribusi normal dan variansi kelompok harus homogen (Santoso, 2002). Dari hasil analisis statistik menggunakan ANOVA *one way* didapatkan nilai signifikansi sebesar ρ = 0,00. Hal ini berarti bahwa data jumlah geliat mencit pada masing-masing kelompok perlakuan berbeda secara bermakna (ρ = <0,05). Kemudian untuk melihat perbedaan efek analgesik dari masing-masing kelompok dilakukan analisis Beda Nyata Terkecil (BNT). Analisis ini digunakan untuk melihat perbedaan secara bermakna diantara masing-masing kelompok perlakuan (Pramesti, 2007).

Hasil analisis BNT menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (CMC 0,5%) memiliki perbedaan jumlah geliat yang bermakna (ρ = <0,05) dengan kelompok kontrol positif (asetosal 65 mg/KgBB), dosis 2 (senyawa AEW1 14 mg/kgBB), dan dosis 3 (senyawa AEW1 28 mg/KBB), sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok tersebut memiliki efek analgesik yang baik dilihat dari penurunan jumlah geliatnya. Nilai signifikansi yang diperoleh dari kelompok kontrol positif, dosis 2, dan dosis 3 sebesar ρ = 0,00. Sedangkan pada kelompok dosis 1 (senyawa AEW1 7 mg/KgBB) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna (ρ = >0,05) terhadap kontrol negatif,

sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok dosis 1 (7 mg/KgBB) memiliki efek analgesik yang kecil. Nilai signifikansi yang diperoleh dosis 1 sebesar ρ = 0,10. Kelompok dosis 2 (14 mg/KgBB) dan dosis 3 (28 mg/KgBB) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara bermakna (ρ = >0,05) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok dosis 2 (14 mg/KgBB) dan dosis 3 (7 mg/KgBB) memiliki efek analgesik yang setara dengan asetosal. Nilai signifikansi yang diperoleh sebesar ρ = 0,498 dan ρ = 0,725 (Lampiran 10).

Setelah diperoleh hasil dari rata-rata jumlah geliat, maka selanjutnya dilakukan perhitungan persentase proteksi analgesik. Persentase proteksi analgesik merupakan kemampuan suatu bahan uji dalam mengurangi respon geliat mencit yang disebabkan karena induksi oleh asam asetat. Persentase proteksi analgesik diperoleh dengan membandingkan jumlah geliat rata-rata kelompok bahan uji terhadap kelompok kontrol negatif (Galani dan Patel, 2011). Hasil persentase proteksi analgesik masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase proteksi analgesik

Kelompok	% Proteksi Analgesik
Kontrol Negatif (CMC 0,5%)	0%
Kontrol Positif (Asetosal 65mg/KgBB)	66.86%
Dosis 1 (AEW1 7 mg/KgBB)	24.81%
Dosis 2 (AEW1 14 mg/KgBB)	60.1%
Dosis 3 (AEW1 28 mg/KgBB)	63.83%

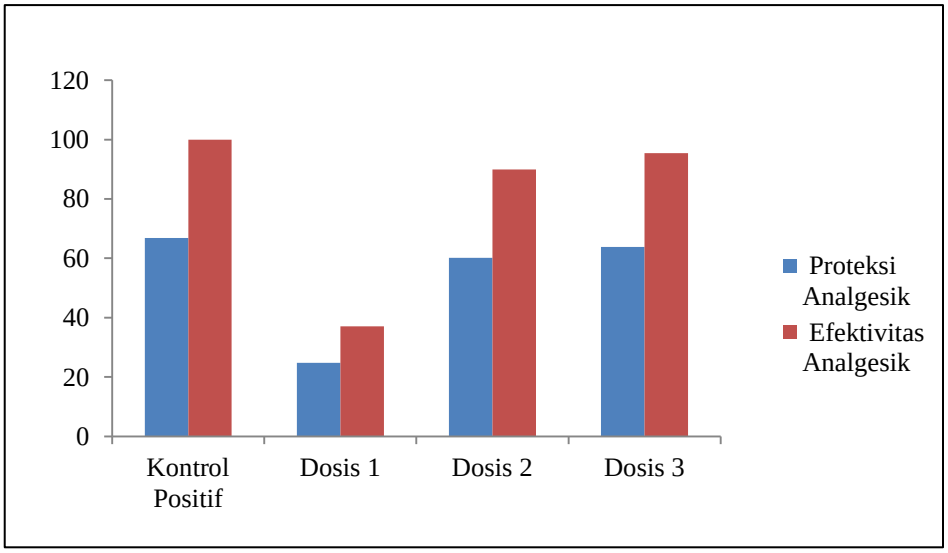
Persentase proteksi analgesik terbesar ditunjukkan pada kelompok kontrol positif, yaitu sebesar 66,86%. Pada ketiga kelompok dosis senyawa AEW1, dosis 2 (14 mg/KgBB) dan dosis 3 (28 mg/KgBB) menunjukkan persentase proteksi yang hampir setara dengan kelompok kontrol positif, yaitu sebesar 60,1% dan 63,83%. Persentase proteksi analgesik kelompok bahan uji terhadap kelompok kontrol berbanding terbalik dengan jumlah rata-rata geliat. Hal ini berarti semakin besar jumlah rata-rata geliat, maka persentase proteksi analgesik yang diperoleh semakin kecil dan begitupun sebaliknya (Puspitasari, *et al*., 2003). Setelah diperoleh nilai persentase proteksi analgesik, maka selanjutnya dilakukan perhitungan persentase efektivitas analgesik untuk mengetahui keefektifan senyawa uji dalam memberikan efek analgesik terhadap kontrol positif (asetosal 65 mg/KgBB).

Persentase efektivitas analgesik diperoleh dengan membandingkan persentase proteksi analgesik kelompok senyawa uji terhadap persentase proteksi analgesik kelompok kontrol positif (asetosal) (Wahyuni, *et al*., 2012). Hasil persentase efektivitas analgesik dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase proteksi analgesik dan persentase efektivitas analgesik

Kelompok	% Proteksi Analgesik	% Efektivitas Analgesik
Kontrol Positif (Asetosal 65 mg/KgBB)	66.86%	100%
Dosis 1 (AEW1 7 mg/KgBB)	24.81%	37.11%
Dosis 2 (AEW1 14 mg/KgBB)	60.1%	89.89%
Dosis 3 (AEW1 28 mg/KgBB)	63.83%	95.47%

Hasil yang terdapat pada tabel diatas menunjukkan bahwa persentase efektivitas analgesik pada dosis 2 dan 3 (dosis 14 mg/KgBB dan dosis 28 mg/KgBB) memberikan hasil yang mendekati persentase efektivitas dari asetosal, yaitu sebesar 89,89% dan 95,47%. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 2 dan 3 (dosis 14 mg/KgBB dan dosis 28 mg/KgBB) memberikan efektivitas analgesik yang hampir setara dengan asetosal. Semakin besar dosis senyawa uji yang diberikan, maka semakin besar efektivitas analgesik yang muncul (Ponggele, 2013). Jadi dapat dikatakan bahwa pemberian senyawa AEW1 dosis 28 mg/KgBB dan dosis 14 mg/KgBB dapat mengurangi rasa nyeri yang ditimbulkan oleh induksi nyeri dari asam asetat.



Gambar 9. Grafik persentase proteksi analgesik dan persentase efektivitas analgesik

Senyawa AEW1 merupakan senyawa turunan kalkon yang disintesi dari senyawa piridin-2-karbaldehid dan 2,5-dihidroksiasetofenon tanpa pelarut dengan katalis K_2CO_3 menggunakan metode *microwave*. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi yang diduga dapat menghambat

enzim COX-2 yang berperan dalam biosintesis prostaglandin (Wibowo, 2013). Selain itu, senyawa AEW1 juga memiliki aktivitas sitotoksisitas pada kanker *colon* (Ismiyati, *et al*., 2017), dan antagonis reseptor Ach-M_3 (Nafila, 2016).

B. Hasil Penentuan *Effective Dose* 50 (ED_{50})

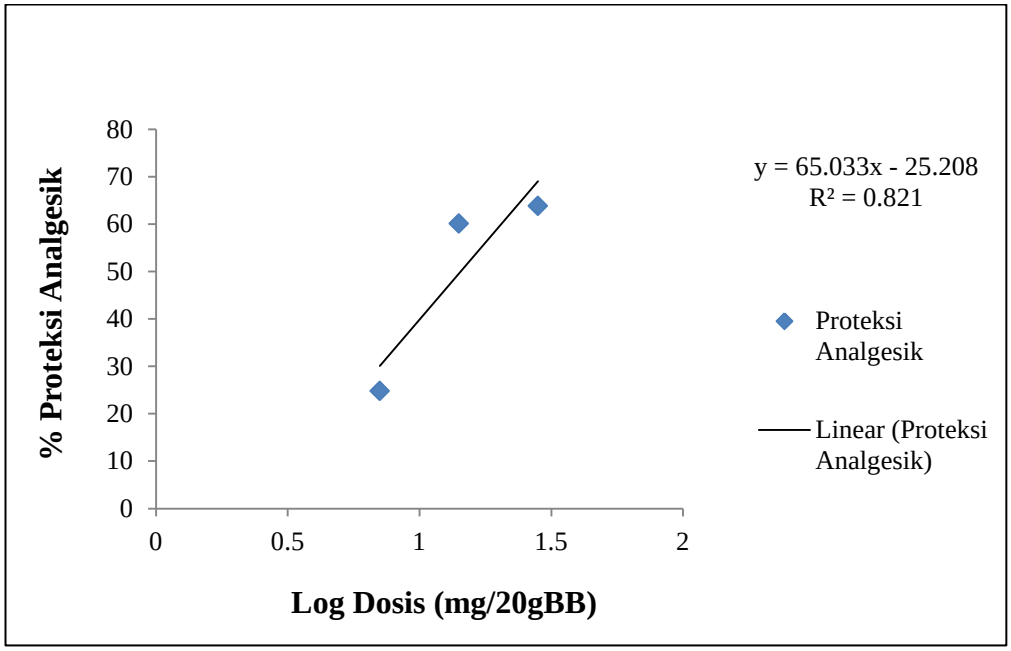
Pada penelitian ini juga dihitung nilai ED_{50} senyawa AEW1 yang memiliki aktivitas analgesik. ED_{50} merupakan dosis yang dapat menimbulkan efek terapi pada 50% individu. Biasanya ED_{50} digunakan untuk menentukan indeks terapi, dimana indeks terapi merupakan ukuran keamanan dari suatu obat (Wulandari dan Hendra, 2011). ED_{50} dari senyawa AEW1 berarti bahwa dosis efektif senyawa AEW1 yang dapat menimbulkan efek analgesik pada 50% individu.

Nilai dari ED_{50} dapat dihitung dengan mencari kurva persamaan regresi linear dengan membandingkan antara logaritma dosis (log dosis) senyawa AEW1 dengan % proteksi analgesik. Data yang digunakan untuk menentukan nilai ED_{50} dapat terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Dosis senyawa AEW1 dan % proteksi analgesik

Dosis (mg/20gBB)	Log Dosis (mg/20gBB)	% Proteksi Analgesik
7	0.85	24.81%
14	1.15	60.1%
28	1.45	63.83%

Untuk menentukan nilai ED_{50}, maka dibuat persamaan regresi linear dengan membuat kurva antara log dosis senyawa AEW1 dengan % proteksi analgesik. Kurva regresi linear dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 10. Kurva persamaan regresi linear log dosis dengan % proteksi

Persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva diatas adalah y = 65,03x – 25,20 dan nilai R^2 = 0,821. Berdasarkan data dosis, % proteksi, dan persamaan regresi linear diatas maka dapat ditentukan nilai ED_{50} sebagai parameter aktivitas analgesik dalam menimbulkan efek 50% pada individu. Hasil uji aktivitas analgesik senyawa AEW1 menunjukkan nilai ED_{50} sebesar 14,32 mg/KgBB lebih kecil bila dibandingkan dengan nilai ED_{50} asetosal yaitu sebesar 20,83 mg/KgBB (Pratiwi, 2009). Hal ini berarti senyawa AEW1 memiliki aktivitas analgesik yang baik dibandingkan dengan asetosal.