

AKTIVITAS ANTINOSISEPTIF FRAKSI N-HEKSAN DAUN KRATOM (*MITRAGYNA SPECIOSA* KORTH.) MELALUI RUTE ORAL PADA MENCIT JANTAN SWISS

Amanda Gita Tiaravista, Robiyanto Robiyanto, Sri Luliana

amandavista@yahoo.co.id

Diserahkan 01/10/2018, diterima 07/02/2019

ABSTRAK

Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) diketahui memiliki aktivitas antinosiseptif. Kandungan utama dalam daun kratom yang dilaporkan menunjukkan aktivitas antinosiseptif adalah alkaloid mitraginin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antinosiseptif fraksi n-heksan daun kratom dan menetapkan dosis yang dapat memberikan efek antinosiseptif pada mencit jantan Swiss. Metode yang digunakan adalah metode hot plate test. Mencit dibagi menjadi lima kelompok, terdiri dari kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%), Kontrol positif (Morfin 5,46 mg/kgBB), dan kelompok uji fraksi berbeda pada dosis I (70 mg/kgBB), dosis II (140 mg/kgBB), dan dosis III (280 mg/kgBB) dengan pemberian secara oral. Pengamatan dilakukan tiap 15 menit selama 2 jam dengan mencatat waktu latensi yang dilihat dari respon mencit berupa menarik kaki belakang dan melompat. Data rata-rata waktu latensi dianalisis menggunakan One Way ANOVA, menunjukkan bahwa fraksi n-heksan pada dosis III memiliki hasil ($p < 0,05$) dan pada dosis II memiliki hasil ($p > 0,05$) terhadap kontrol positif. Hasil rata-rata AUC pada dosis II sebanding dengan kontrol positif. Daya antinosiseptif paling besar dimiliki oleh dosis III yaitu 90%, diikuti oleh dosis II dan dosis I masing-masing sebesar 86% dan 82%. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu fraksi n-heksan daun kratom kelompok dosis 1, 2, dan 3 berpotensi memiliki efek antinosiseptif karena berbeda signifikan terhadap kontrol negatif. Dosis 2 menunjukkan efek yang sebanding dengan kontrol positif dan dosis 3 memiliki efek yang lebih baik dari kontrol positif.

Kata kunci: antinosiseptif, fraksi n-heksan, *Mitragyna speciosa* Korth, morfin

ABSTRACT

Kratom leaf (*Mitragynine speciosa* Korth.) has been known for the antinociceptive effect. The major compound of kratom leaf was reported to show antinociceptive effect is alkaloid mitragynine. The purpose of this research was to observe antinociceptive effect of n-hexane fraction of kratom leaves and determine the effective dose on male Swiss albino mice. The method for antinociceptive activity was conducted using hot plate test. The tested mice were divided into 5 groups, consisted of negative control group (CMC-Na 0,5%), positive control group (Morphine 5,46 mg/kgBB), and tested groups with the different of fraction dose I (70 mg/kgBB), doses II (140 mg/kgBB), and doses III (280 mg/kgBB) by oral administration. Latency time was measured every 15 minutes over 2 hours period. Antinociceptive effect of the fraction was determined by observing the mice responses of the paw or jumping. Based on analytic statistical of latency time in AUC (Area Under Curve) by using One Way ANOVA, result showed that the n-hexane fraction at the dose of III resulting ($p < 0,05$) to the positive control group. The biggest percentage of antinociceptive from dose III was 90,21%, followed by dose II and dose I with each percentage of 86,24% and 81,93%, respectively. It can be concluded that n-hexane fraction of kratom leaves dose 1, 2, and 3 potentially has antinoceptive effect because was different significantly negative control group. at the dose I, II, and III. However, most potent effect were dose III and most potent from dose I and II. Dose 2 shows an effect comparable to positive control and dose 3 has a better effect than positive control.

Keyword: antinociceptive, n-hexane fraction, *Mitragynine speciosa* Korth, morphine

PENDAHULUAN

Nyeri nosiseptif merupakan jenis nyeri yang akan segera membaik ketika bagian tubuh yang sakit tersebut sembuh (Weatherspoon, 2017). Analgesik opioid sangat efektif dalam pengobatan nyeri akut atau nosiseptif (Peace, 2009). Analgesik opioid merupakan obat yang dapat meredakan atau menghilangkan nyeri tetapi dapat menimbulkan efek samping seperti adiksi, depresi pernapasan, hipotensi, toleransi dan ketergantungan (Goodman dan Gilman, 2008). Oleh karena itu dibuat alternatif untuk mengurangi efek samping penggunaan analgesik opioid menggunakan bahan yang berasal dari alam dan memiliki aktivitas sebagai antinosiseptif.

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan pohon tropis berasal dari Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia, Filipina, Myanmar, dan Indonesia (Raffa, 2015). Kratom di Indonesia banyak terdapat di Kalimantan Barat khususnya daerah Putussibau, masyarakat sekitar mengenal sebutan daun kratom dengan daun purik. Kratom secara empiris digunakan masyarakat untuk batuk, diare, nyeri, pengobatan kecanduan opioid, dan infeksi saluran pencernaan (Prozialeck *et al*, 2012; Hassan *et al*, 2013). Kratom secara farmakologis terbukti memiliki aktivitas sebagai analgesik, antipiretik, antidiare, antidepresan, antibakteri, antidiabetes, antinosiseptif, anti-inflamasi, dan antioksidan (Hassan *et al*, 2013; Takayama, 2004). Analisis fitokimia daun kratom menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid (Mossadeq *et al*, 2009). Mitraginin diperoleh dari senyawa alkaloid utama pada tanaman kratom. Mitraginin memiliki aktivitas

antinosiseptif yang serupa dengan morfin (Carpenter, 2016). Aktivitas antinosiseptif mitraginin bertindak melalui reseptor opioid. Aktivitasnya dominan pada sub tipe reseptor μ -opioid dan δ -opioid (Adkins, 2011). Pengujian ekstrak alkaloid, ekstrak metanol dan ekstrak air daun kratom dengan dosis masing-masing (20 mg/kg), (200 mg/kg), dan (400 mg/kg) yang diberikan secara oral memiliki aktivitas antinosiseptif (Sabetghadam *et al*, 2010).

Pengujian fraksi etil asetat dan fraksi air daun kratom memiliki aktivitas antinosiseptif yang lebih rendah dibanding morfin, namun pada fraksi diklorometana daun kratom memiliki aktivitas yang sama dengan morfin (Saputra, 2017; Nugraha, 2017; Islamy, 2017). Mitraginin dapat larut dalam pelarut kloroform, alkohol dan asam asetat (Mossadeq *et al*, 2009). Penelitian isolasi mitraginin dengan menggunakan kloroform mendapatkan mitraginin yang lebih murni dan banyak dibanding metanol (Beng *et al*, 2011). Hal tersebut menunjukkan bahwa mitraginin lebih cenderung larut pada pelarut non polar. N-heksan merupakan salah satu pelarut yang bersifat non polar. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antinosiseptif menggunakan fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) yang diberikan secara oral pada mencit jantan Swiss.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.), tablet morfin (generik) dari Rumah Sakit Pendidikan UNTAN, metanol 96% (teknis), n-heksana (teknis), aquadest, CMC Na, plat KLT *silica gel*

60 F₂₅₄ (M[®]), ammonia (Emsure[®]), CH₃COOH (Merck[®]), HCl (Emsure[®]), H₂SO₄ (Merck[®]), FeCl₃ (Merck[®]), gelatin, kloroform (Emsure[®]), NaCl (Merck[®]), pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Meyer*, pereaksi *Wagner*, dan pita magnesium (Mg). Bahan uji aktivitas antinosiseptif yaitu mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss dewasa berumur dua bulan dengan bobot 25-35 gram tanpa cacat fisik dan sehat.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam kloroform, ditambah 1-2 tetes amoniak, dikocok kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan 1-3 ml asam sulfat 2N. Lapisan asam (atas) dipipet dan dimasukkan ke dalam tiga buah tabung reaksi. Ditambahkan 3 tetes pereaksi *Meyer* ke dalam tabung reaksi I. Ditambahkan 3 tetes pereaksi *Dragendorff* ke dalam tabung reaksi II, dan ditambahkan 3 tetes pereaksi *Wagner* ke dalam tabung reaksi III. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi I, endapan merah sampai jingga pada tabung reaksi II dan endapan cokelat kemerahan pada tabung reaksi III (Hanani E, 2015).

Uji Flavonoid

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam metanol dan ditambahkan pita Mg dan larutan HCL pekat. Perubahan warna menjadi warna merah menandakan adanya flavonoid (Hanani E, 2015).

Uji Saponin

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam air hangat, dikocok kuat selama 10 detik. Hasil

positif akan menghasilkan busa yang stabil dengan penambahan asam klorida (Hanani E, 2015).

Uji Tanin

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam aquades panas sambil diaduk, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga buah tabung reaksi. Ditambahkan 3 tetes larutan gelatin 10% ke dalam tabung reaksi I. Ditambahkan 3 tetes larutan NaCl + 10% gelatin ke dalam tabung reaksi II, dan ditambahkan 3 tetes larutan 3% FeCl₃ ke dalam tabung reaksi III. Adanya senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi I, dan II, dan endapan hijau kehitaman pada tabung reaksi III (Hanani E, 2015).

Uji Fenol

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam etanol kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan adanya perubahan warna sampel menjadi warna hijau hingga biru kehitaman (Hanani E, 2015).

Uji Terpenoid dan Sterol

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dilarutkan dalam n-heksan. Ditambahkan 1 ml CH₃COOH dan 0,5 ml H₂SO₄ pekat. Adanya senyawa golongan terpenoid akan ditandai dengan timbulnya cincin berwarna merah sedangkan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna hijau hingga biru (Hanani E, 2015).

Fraksinasi

Sebanyak 100 gram ekstrak metanol daun kratom dilarutkan dalam 250 ml *aquadest*.

Selanjutnya dilakukan fraksinasi secara bertingkat dengan pelarut n-heksan, fraksi n-heksan yang diperoleh dihilangkan pelarutnya dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan dan disimpan dalam desikator vakum.

Pola Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi n-heksan dilarutkan dalam kloroform secukupnya. Selanjutnya larutan fraksi n-heksan ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen heksan : etil asetat (3 : 7). Kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Plat KLT selanjutnya disemprot pereaksi *Dragendorff* untuk melihat bercak pada plat KLT. (Singh *et al.*, 2016)

Uji Aktivitas Antinosiseptif

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antinosiseptif adalah metode *hot plate*. Metode ini menggunakan panas sebagai sumber nyeri. Mencit diletakkan di atas *hot plate* pada suhu $55^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ setelah pemberian pada masing-masing kelompok, diletakkan

maksimum tidak lebih dari 30 detik (*cut off time*) untuk menghindari terjadinya kerusakan jaringan pada kaki mencit (Jayanthi MK. *et al.*, 2012; Hijazi, 2017). Respon mencit berupa menarik kaki belakang dan melompat dicatat sebagai parameter pengamatan (Suresha RN. *et*

al., 2014). Waktu latensi dicatat menggunakan *stopwatch*. Pengamatan dilakukan selama 2 jam pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 dan 120 (Jayanthi MK. *et al.*, 2012). Selanjutnya dihitung persen daya

antinosiseptif berdasarkan data rata-rata waktu latensi dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Daya Antinosiseptif} = 100 - \frac{\text{AUC Kelompok Kontrol Negatif}}{\text{AUC Kelompok Uji}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data rata-rata waktu latensi tiap kelompok perlakuan dan rata-rata AUC tiap menit yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *software* SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) 21.0 for Window *One way* ANOVA untuk pengujian aktivitas antinosiseptif sehingga dapat diketahui perbedaan signifikansi tiap kelompoknya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi

Pemilihan fraksi n-heksan karena n-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar sehingga dapat melarutkan senyawa non polar yaitu alkaloid seperti mitraginin (Beng *et al.*, 2011). Fraksi n-heksan yang diperoleh berbentuk kental serta berwarna hijau kehitaman. Fraksi n-heksan yang diperoleh sebanyak 21,95 gram dengan rendemen fraksi 21,95%.

Skrining Fitokimia

Penelitian pada fraksi air daun kratom memiliki hasil positif alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan fenol (Nugraha, 2017). Penelitian pada fraksi etil asetat daun kratom memiliki hasil positif alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, fenol dan saponin (Saputra, 2017). Sedangkan pada penelitian fraksi diklorometana daun kratom memiliki hasil positif alkaloid, saponin dan terpenoid/steroid (Islamy, 2017).

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Teoritis ⁽³¹⁾	Hasil Pengamatan	Ket
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	Endapan Putih	+
	Wagner	Endapan Coklat kemerahan	Endapan Coklat kemerahan	+
	Dragendorff	Endapan Oranye	Endapan Oranye	+
Flavonoid	Pita Mg, HCL Pekat	Warna Hijau	Warna Merah	-
Fenol	FeCl ₃ 1%	Warna Hijau/Biru Kehitaman	Warna Hijau Kehitaman	+
Saponin	Aquadest	Terdapat Busa Stabil	Tidak Terdapat Busa	-
Tanin	Gelatin 10%	Endapan Putih	Tidak Ada Endapan Warna Kuning	-
	FeCl ₃ 1%	Warna Biru Kehitaman	Warna Bening	-
	NaCl + Gelatin 10%	Warna Biru Kehitaman		-
Terpenoid/Steroid	Lieberman Burchard	Cincin Merah/Hijau	Cincin Hijau	+

Keterangan :

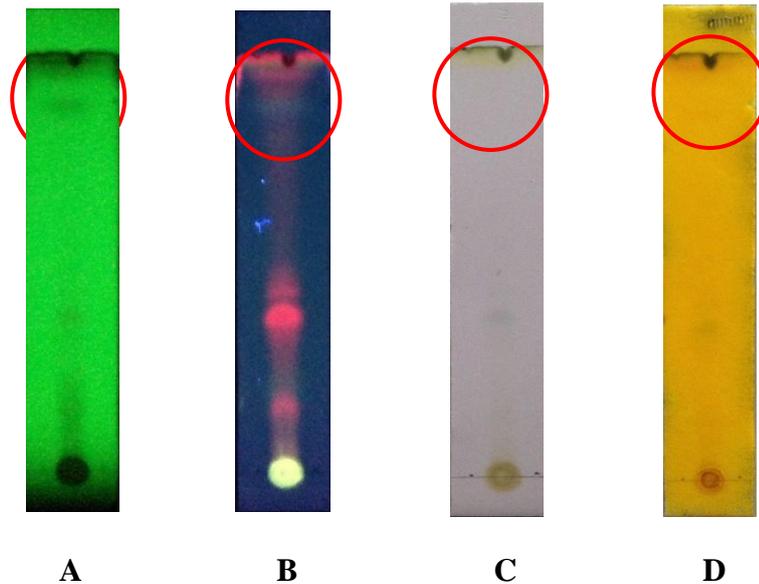
(+) mengandung golongan senyawa, (-) tidak mengandung golongan senyawa.

Hasil skrining fitokimia pada **tabel 1** menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun kratom terdapat senyawa alkaloid, fenol, dan terpenoid/steroid, dikarenakan fraksi n-heksan bersifat non polar sehingga senyawa yang bersifat polar tidak terbawa dalam pelarut non polar seperti n-heksan.

Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pola kromatogram dari fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.). Fase diam yang digunakan yaitu plat silika GF₂₅₄. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana : etil asetat (3:7) (Shamima *et al*, 2012).

Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada **Gambar 1**. memiliki pola kromatogram yang sama antara ekstrak methanol dan fraksi n-heksan daun kratom. Plat (B) menghasilkan pola kromatogram berwarna kehijauan. Plat (D) menghasilkan warna oranye yang menandakan adanya senyawa alkaloid. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian yang telah dilakukan Parthasarathy dkk (2009) bahwa menggunakan standar mitraginin memiliki pola kromatogram kehijauan dibawah UV 366 nm dan berwarna oranye setelah di semprot pereksi *dragendorff* (Parthasarathy *et al*, 2009).



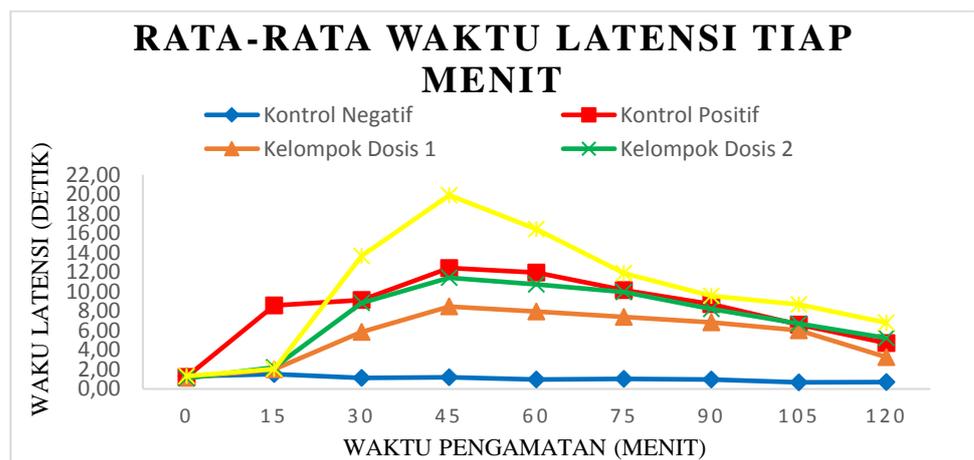
Gambar 1. Penampakan Pola Kromatogram Alkaloid

Keterangan : A. Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm ; B. Pengamatan dibawah sinar UV 366 nm ; C. Setelah dielusi ; D. Setelah disemprot pereaksi

Uji Aktivitas Antinosiseptif

Pengujian antinosiseptif menggunakan metode *hot plate* sebagai sumber nyeri. Alasan menggunakan metode *hot plate* karena cocok

untuk menguji aktivitas analgesik yang bekerja pada sistem saraf pusat salah satunya morfin (Majunatha, 2015).



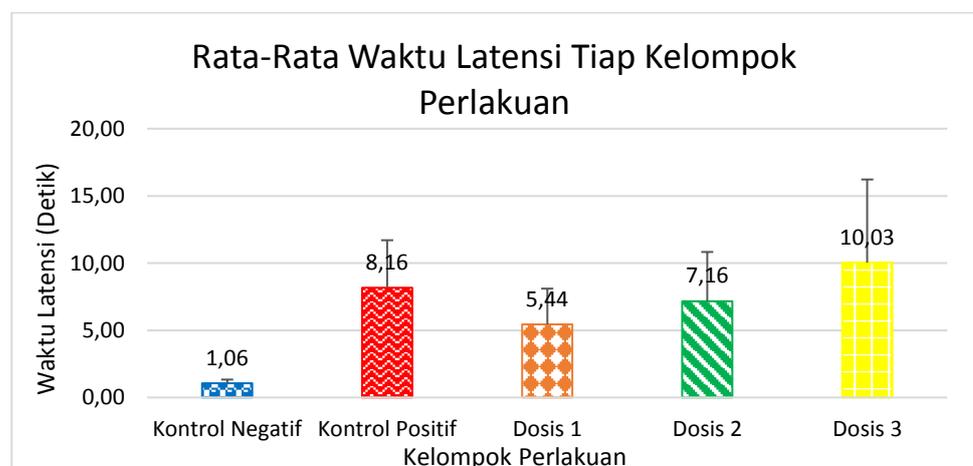
Gambar 2. Grafik Rata-Rata Waktu Latensi Tiap Menit

Keterangan :

- Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%
- Kontrol Positif : Morfin 5,46 mg/kgBB
- Dosis 1 : Dosis 70 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom
- Dosis 2 : Dosis 140 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom
- Dosis 3 : Dosis 280 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom

Hasil rata-rata waktu latensi tiap menit dapat dilihat pada **Gambar 2**. Grafik rata-rata waktu latensi kontrol negatif pada menit ke-0 hingga menit ke-120 mempunyai grafik yang paling rendah dibandingkan kontrol positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3. Hal tersebut karena pada kontrol negatif nyeri yang disebabkan oleh rangsangan panas hanya akan dihambat oleh sistem opiat endogen (seperti enkefalin, dinorfin, β -endorfin) alami dari tubuh (Koneru *et al.*, 2009). Rata-rata waktu latensi pada kontrol positif (morfin) telah memberikan efek antinosiseptif pada menit ke-15 hingga mencapai puncak pada menit ke-45. Kontrol Positif dapat diasumsikan memiliki onset 15 menit setelah pemberian sediaan uji, hal ini sesuai dengan hasil orientasi yang telah dilakukan sebelumnya. Onset morfin menurut teori untuk sediaan oral memiliki 15-30 menit setelah pemberian (Medscape, 2018). Menit ke-120 kontrol positif masih memiliki aktivitas antinosiseptif terlihat dengan rata-rata waktu latensi yang lebih besar dari kontrol negatif. Morfin menurut teori untuk sediaan oral memiliki durasi 4 jam (Medscape, 2018).

Fraksi n-heksan daun kratom dosis 1, 2 dan 3 seperti terlihat pada **Gambar 2**, terdapat perbedaan rata-rata waktu latensi pada ketiga dosis tersebut. Rata-rata waktu latensi paling besar dimiliki oleh dosis 3, selanjutnya dosis 2 dan dosis 1 secara berturut-turut. Fraksi n-heksan daun kratom untuk ketiga dosis pada menit ke-0 hingga ke-15 belum memberikan aktivitas antinosiseptif karena memiliki rata-rata waktu latensi yang mendekati kontrol negatif. Rata-rata waktu latensi pada ketiga dosis fraksi n-heksan telah memberikan efek antinosiseptif pada menit ke-30 hingga mencapai puncak pada menit ke-45 dengan rata-rata waktu latensi yang lebih tinggi dibanding kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan hasil orientasi yang telah dilakukan sebelumnya bahwa fraksi n-heksan memiliki onset 30 menit setelah pemberian sediaan uji. Menit ke-120 pada dosis 1, 2 dan 3 masih memiliki aktivitas antinosiseptif terlihat dengan rata-rata waktu latensi yang lebih besar dari kontrol negatif, sehingga dapat diasumsikan bahwa fraksi n-heksan memiliki durasi lebih dari 2 jam.



Keterangan :

Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%

Kontrol Positif : Morfin 5,46 mg/kgBB

Dosis 1 : Dosis 70 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom

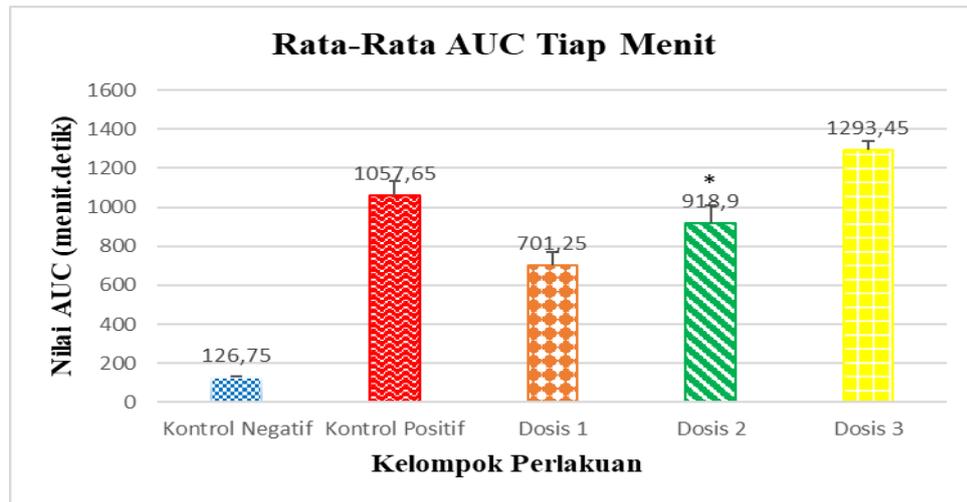
Dosis 2 : Dosis 140 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom

Dosis 3 : Dosis 280 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom

* : Tidak Berbeda Bermakna Dengan Kontrol Positif

Hasil rata-rata waktu latensi tiap kelompok perlakuan pada **Gambar 3**, memiliki nilai lebih tinggi pada kontrol positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 dibanding kontrol negatif. Terdapat tanda bintang pada dosis 2 yang berarti memiliki nilai tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif, hal tersebut

membuktikan bahwa dosis 2 memiliki aktivitas yang sebanding dengan kontrol positif. Dosis 3 memiliki nilai yang paling tinggi diantara ketiga dosis dan kontrol positif, hal tersebut menunjukkan pada dosis 3 memiliki aktivitas antinosiseptif yang paling besar.



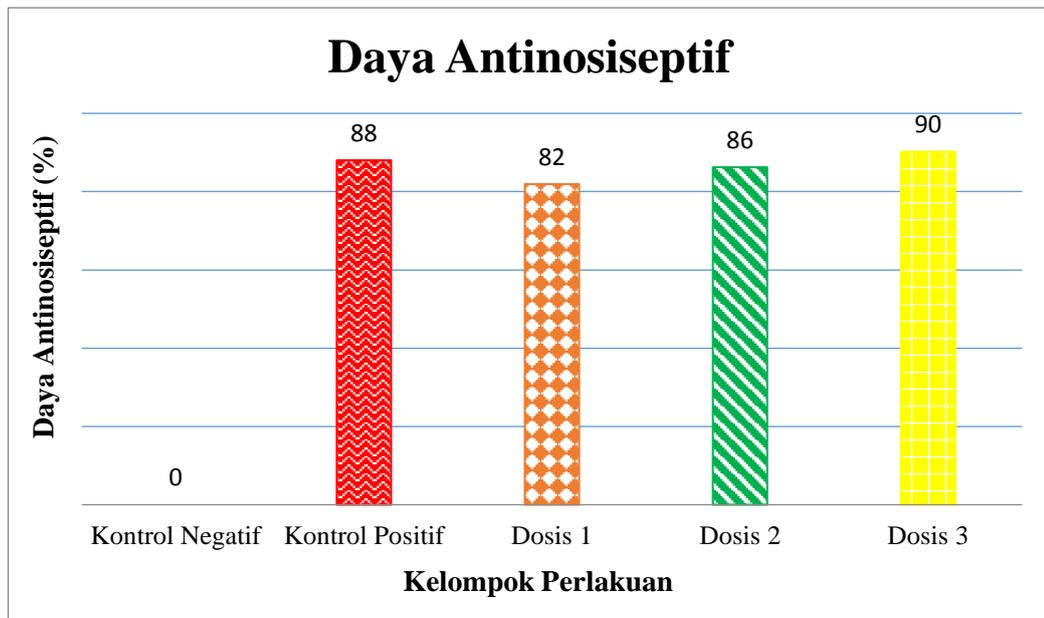
Gambar 4. Nilai Rata-Rata AUC (Area Under Curve)

Keterangan :

- Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%
- Kontrol Positif : Morfin 5,46 mg/kgBB
- Dosis 1 : Dosis 70 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom
- Dosis 2 : Dosis 140 mg/kgBB fraksi n-heksandaun kratom
- Dosis 3 : Dosis 280 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom
- * : Tidak Berbeda Bermakna Dengan Kontrol Positif

Hasil rata-rata AUC tiap kelompok perlakuan pada **Gambar 4** memiliki nilai AUC lebih tinggi pada kelompok kontrol positif, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 dibanding kontrol negatif. Nilai AUC (*Area Under Curve*) terbesar dimiliki oleh dosis 3 sebesar 1.293,45 menit.detik, kemudian diikuti oleh kontrol positif, dosis 2 dan dosis 1 dengan nilai AUC masing-masing sebesar 1.057,65 menit.detik; 918,9 menit.detik dan 701,25 menit.detik. Nilai AUC digunakan untuk menggambarkan luas daerah di bawah kurva. Semakin besar nilai AUC yang diperoleh, maka semakin luas daerah dibawah kurva yang menunjukkan semakin besar efek yang dihasilkan. Terdapat tanda

bintang pada dosis 2 yang menunjukkan bahwa dosis 2 tidak berbeda makna terhadap kontrol positif. Nilai rata-rata AUC sejalan dengan hasil rata-rata waktu latensi tiap kelompok bahwa terdapat tanda bintang pada dosis 2. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 2 merupakan dosis yang paling optimal pada fraksi n-heksan daun kratom sebagai antinosiseptif. Sedangkan pada dosis 3 memiliki rata-rata waktu latensi dan rata-rata AUC yang paling besar diantara ketiga dosis dan kontrol positif, dengan kenaikan dosis pada fraksi n-heksan daun kratom maka aktivitas sebagai antinosiseptif semakin besar.



Gambar 5. Daya Antinosiseptif

Keterangan :

- Kontrol Negatif : CMC Na 0,5%
- Kontrol Positif : Morfin 5,46 mg/kgBB
- Dosis 1 : Dosis 70 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom
- Dosis 2 : Dosis 140 mg/kgBB fraksi n-heksandaun kratom
- Dosis 3 : Dosis 280 mg/kgBB fraksi n-heksan daun kratom

Hasil daya antinosiseptif pada **Gambar 5** menunjukkan daya antinosiseptif dosis 1 (82%) dan dosis 2 (86%) memiliki nilai dibawah persen daya antinosiseptif kelompok positif (88%) sehingga aktivitas nya lebih rendah. Hasil yang lebih baik ditunjukkan pada dosis 3 (90%).

Analisis Statistik

Hasil analisis statistik menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif, dosis 1, 2 dan 3 yang memiliki aktivitas antinosiseptif. Dosis 1 (70 mg/kgBB) berbeda signifikan terhadap kontrol positif, hal ini menunjukkan bahwa dosis 1 memiliki efek yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif. Dosis 2 (140 mg/kgBB) pada menit ke-30, 45, 75, 90, 105 dan 120 tidak berbeda signifikan terhadap kontrol positif, hal

ini menunjukkan bahwa dosis 2 memiliki aktivitas antinosiseptif yang sama dengan kontrol positif dimulai pada menit ke-30. Namun berbeda signifikan terhadap kontrol positif pada menit ke-15 dan 60, disebabkan pada menit ke-15 fraksi n-heksan daun kratom belum memiliki aktivitas sebagai antinosiseptif dan pada menit ke-60 masih memiliki aktivitas namun masih lebih rendah dibanding kontrol positif. Dosis 3 (280 mg/kgBB) pada menit ke-30 hingga 120 berbeda signifikan terhadap kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 3 memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding kontrol positif. Kontrol positif, dosis 1, 2 dan 3 saat menit ke-120 berbeda signifikan terhadap kontrol negatif, hal ini diduga menit tersebut masih memiliki aktivitas sebagai antinosiseptif. Aktivitas antinosiseptif yang lebih tinggi dan hampir sama tersebut disebabkan karena n-heksan merupakan jenis

pelarut yang bersifat non polar sehingga n-heksan dapat melarutkan senyawa non polar yaitu alkaloid seperti mitraginin. (Beng *et al*, 2011)

Fraksi n-heksan daun kratom memiliki aktivitas antinosiseptif diduga karena adanya senyawa golongan alkaloid. Senyawa alkaloid dari tanaman kratom yang berperan aktif dalam aktivitas antinosiseptif yaitu senyawa mitraginin dan 7-hidroksimitraginin. (Adkins *et al*, 2011) Pengujian senyawa mitraginin yang di isolasi menggunakan pelarut petroleum eter yang dilakukan uji dengan GC-MS mendapatkan hasil kadar mitraginin murni sebanyak 98% dan lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan pelarut kloroform sebanyak 70%. Pelarut petroleum eter memiliki nilai indeks polaritas yang sama dengan n-heksan yaitu 0,1 sehingga dapat diduga bahwa pelarut n-heksan lebih banyak dapat menarik senyawa mitraginin. (Beng *et al*, 2011) Mitraginin memiliki aktivitas sebagai antinosiseptif dengan bertindak pada reseptor opioid supraspinal untuk menekan stimulus termal dan berbahaya. (Majunatha *et al*, 2015) Mitraginin bertindak pada reseptor μ -opioid. Morfin dan mitraginin memiliki kesamaan bertindak pada reseptor μ -Opioid sehingga diduga mitraginin memiliki aktivitas yang lebih tinggi dan serupa dengan morfin sebagai antinosiseptif atau analgesik kuat. (Adkins *et al*, 2011)

Senyawa alkaloid selanjutnya 7-hidroksimitraginin telah dilaporkan memiliki aktivitas antinosiseptif yang sama seperti mitraginin sebagai agonis pada reseptor opioid. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antinosiseptif dengan menghambat agregasi platelet, dan menghalangi proses transduksi sinyal pada tingkat intraseluler. (Utar *et al*,

2011) Kandungan metabolit sekunder dari fraksi n-heksan daun kratom yaitu alkaloid dan terpenoid/steroid diduga bersifat sinergis dalam aktivitas antinosiseptif.

Peningkatan dosis fraksi n-heksan daun kratom akan menyebabkan kenaikan persen daya antinosiseptif atau aktivitas antinosiseptif semakin besar. Fraksi n-heksan daun kratom dengan dosis 140 mg/kgBB merupakan dosis paling optimum sebagai agen antinosiseptif dan dosis 280 mg/kgBB memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding kontrol positif (morfin). Rendemen dari fraksi n-heksan yang di dapat lebih banyak dibandingkan rendemen pada fraksi diklorometana dan fraksi etil asetat, sehingga penarikan senyawa pada fraksi n-heksan lebih maksimal.

KESIMPULAN

Fraksi n-heksan daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) pada kelompok dosis 1, 2, dan 3 berpotensi memiliki efek antinosiseptif karena berbeda signifikan terhadap kontrol negatif. Dosis 2 menunjukkan efek yang sebanding dengan kontrol positif dan dosis 3 memiliki efek yang lebih baik dari kontrol positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Adkins, E.J., Boyer, W.E., dan McCurdy, R.C. 2011. *Mitragyna speciosa*, A Psychoactive Tree from Southeast Asia with Opioid Activity. *Curret Topics in Medicinal Chemistry*. 11:1165-1175.
- Beng, G.T., Hamdan, M.R., Siddiqui, M.J., Mordi, M.N., Mansor, S.M. 2011. A Simple and Cost Effective Isolation and Purification Protocol of Mitragynine From *Mitragyna speciose* Korth (Ketum) Leaves. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 15(1): 54-60.

- Carpenter, J.M., Criddle, C.A., Craig, H.K., Ali, Z., Zhang, Z., Khan, I.A., Sufka, K.J. 2016 Comparative effects of *Mitragyna speciosa* extract, mitragynine and opioid agonist on thermal nociception in rats. *Fitoterapia*. 109: 87-90.
- Goodman, A., and Gilman, L. 2008. *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. New York: The McGraw-Hill Company.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Hassan, Z., Muzaimi, M., Navaratnam, V., Yusoff, H.M., Suhaimi, F.W., Vadivelu, R., et al. 2013. From kratom to mitragynine and its derivatives: physiological and behavioural effects related touse, abuse, and addiction. *Neurosci Biobehav Rev*. 37(2): 138-151.
- Hidayati, Anna. 2013. Uji Efek Sedatif Ekstrak N-Heksan Dari Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Pada Mencit Jantan Galur BALB/c. [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Hijazi, M.A., El-Mallah, A., Aboul-Ela, M., dan Ellakany, A. 2017. Evaluation of Analgesic Activity of *Papaver libanoticum* Extract in Mice: Involvement of Opioids Receptors. *Hindawi*.
- Islamy, M.R. 2017. Aktivitas Antinosisseptif Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Jayanthi, M.K., Jyoti, M.B. 2012. Experimental animal studies on analgesic and antinociceptive activity of *Alium sativum* (garlic) powder. *IJRRMS*. 2(1): 1-6.
- Koneru, Anupama., Satyanarayana, S., dan Rizwan, S. 2009. Endogenous Opioids: Their Physiological Role and Receptors. 3(3):149-153.
- Majunatha, C.H., dan Ratnakar, S.J. 2015. A Comparative Experimental Study of Antinociceptive Activity of Fluoxetine With Pentazocine in Rodent Models. *The Pharma Innovation Journal*. 4(4):43-46.
- Medscape. Drug Checker 2018 [internet] [dicitasi 01 Agustus 2018]. Tersedia dari www.medscape.com
- Mossadeq, W.M.S., Sulaiman, M.R., Mohamad, T.A.T., Chiong, H.S., Zakaria, Z.A., Jabil, M.L., et al. 2009. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Mitragyna speciosa* Korth. methanolic extract. *Med Princ Prac*. 18: 378-384.
- Nugraha, W.I. 2017. Aktivitas Antinosisseptif Fraksi Air Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Parthasarathy, S., Bin, Azizi. J., Ramanathan, S., et al. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. *Molecules*. 14:3964–3974.
- Peace, K.E. 2009. *Design and analysis of clinical trials with time-to-event endpoint*. New York: CRC Press.
- Prozialeck, W.C., Jivan, J.K., Andurkar, S.V. 2012. Pharmacology of Kratom: An Emeging Botanical Agent With Stimulant, Analgesic and Opioid-Like Effects. *J Am Osteopatn Assoc*. 112(12): 792-799.
- Phongprueksapattana, S., Putalun, W., Keawpradub, N., and Wungsintaweekul, J. 2008. *Mitragyna speciosa*: Hairy root culture for triterpenoid production and high yield of mitragynine by regenerated plants. *Zeitschrift für Naturforschung C. A Journal of Biosciences* 63(9/10): 691–98.

- Raffa, R.B. 2015. *Kratom and Other Mitragynine: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source*. New York: CRC Press.
- Sabetghadam, A., Ramanathan, S., and Mansor, S.M. 2010. The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid, methanolic, and aqueous extracts of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth leaves in rats. *Pharmacognosy Research*. 2: 181-185.
- Shamima, A.R., Fakurazi, S., Hidayat, M.T., Hairuzah, I., Moklas, M.A.M., Arulselvan, P. 2012. Antinociceptive action of isolated mitragynine from *Mitragyna speciosa* through activation of opioid receptor system. *Int. J. Mol. Sci*. 13: 11427-11442.
- Saputra, Aditya. 2017. Aktivitas Antinosiseptif Fraksi Etil Asetat Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss. [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Saifudin, Aziz., Rahayu, Viesa., Teruna, H.D. 2011. Standarisasi Bahan Obat Alam. Edisi Pertama. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Singh, D., Narayanan, S., & Vicknasingam, B. 2016. Traditional and Non-Traditional Uses Of Mitragynine (Kratom): A Survey of The Literature. *Brain Research Bulletin*. 126. 41-46.
- Suresha, R.N., Amoghimath, S., Vaibhavi, P.S., Shruthi, S.L., Jayanthi, M.K., Kalabharathi, H.L. 2014. Evaluation of analgesic activity of perindopril in albino mice. *J. Adv. Pharm. Technol. Res*. 5(3): 129-133.
- Takayama, H. 2004. Chemistry and Pharmacology of Analgesic Indole Alkaloids from the Rubiaceae Plant, *Mitragyna spesiosa*. *Journal Pharmaceutical Society Of Japan*. 52(8): 916-928.
- Utar, Z., Majid, M.I., Adenan, M.I., Jamil, M.F., Lan, T.M. 2011. Mitragynine inhibits the COX-mRNA expression and prostaglandin E2 production induced by lipopolysaccharide in RAW264.7 macrophage cells. *J Ethnopharmacol*. 136(1):75-82.
- Weatherspoon, D. 2017. What is Nociceptive Pain ? [Internet]. Inggris: Danielle Dresden. [dicitasi 07 Februari 2018]. Tersedia dari: <https://www.medicalnewstoday.com>