

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman

1. Klasifikasi tanaman semanggi bur (*Medicago polymorpha* L.)



Gambar 1. Semanggi bur (Popay, 2013)

Klasifikasi:

Kingdom : Plantae
Filum : Spermatophyta
Subfilum : Angiospermae
Ordo : Fabales
Family : Fabaceae
Genus : *Medicago*
Spesies : *Medicago polymorpha* (Popay, 2013)

2. Sinonim semanggi bur (*Medicago polymorpha* L.)

Medicago polymorpha atau di Indonesia lebih dikenal sebagai semanggi bur (Indonesia) (Widhayasa, 2023). Beberapa negara lain menyebut tanaman ini sebagai *Bur medic* (Australia), *alfalfilla* (Bolivia), *rodajilla* (Kolombia), *Borsten-Schneckenklee* (Jerman), *medica ispida* (Italia), *umagoyashi* (Jepang), *gaejari* (Korea), *ruiger rupsklaver* (Netherland), *tagglusern* (swedia), *hairy medick* (UK) dan *California bur-clover* (USA) (Popay, 2013).

3. Morfologi

Medicago polymorpha atau yang lebih dikenal dengan *Medicago denticulata* (semanggi bur) merupakan tanaman dari keluarga *Fabaceae* merupakan gulma dikotil yang banyak ditemukan di ladang. Tanaman ini memiliki ciri-ciri berbatang lemah dengan tinggi

60-75 cm, serta memiliki susunan bunga majemuk di dekat ujung batangnya. Tanaman ini memiliki bentuk daun trifoliat seperti semanggi dengan tepi daun bergerigi, Tanaman ini mempunyai buah dengan duri di tepinya dan bentuk polong melingkar dengan biji berbentuk seperti ginjal (Yadav *et al.*, 2024).

4. Studi Fitokimia, Manfaat Empiris dan Khasiat

Semanggi bur (*Medicago polymorpha* L.) merupakan kerabat dari keluarga kacang-kacangan *Legumes* (*Fabaceae* atau *Leguminosae*). Tanaman ini berasal dari wilayah Mediterania yang kemudian tersebar ke seluruh dunia (Cui *et al.*, 2021). *Fabaceae* termasuk kelompok *angiospermae* terbesar dengan 751 genera dan 19.400 spesies (Djedid *et al.*, 2021). Tanaman ini termasuk kedalam kelompok tanaman autogami dengan ciri berbiji keras dan berasal dari cekungan Mediterania yang kemudian tersebar luas sebagai tanaman liar. Spesies tanaman ini tersebar luas di wilayah dengan kondisi lingkungan yang mirip dengan Mediterania seperti Afrika Selatan dan Australia. Tanaman ini bersifat penambat nitrogen yang baik untuk kesuburan tanah (Graziano *et al.*, 2010).

Tanaman dari genus ini biasanya digunakan sebagai tanaman pakan yang mudah dicerna yang tinggi protein, tinggi senyawa fenolik, flavonoid, isoflavonoid dan nutrisi lain. Daunnya dapat dimanfaatkan sebagai suplemen kesehatan yang tinggi protein (Ismail *et al.*, 2019). Daun dan batang tanaman ini biasanya digunakan sebagai afrodisiak di Pakistan (Tariq *et al.*, 2024). Tanaman ini mulai banyak dikonsumsi sebagai alternatif makanan bergizi, lezat dan ekonomis (Cui *et al.*, 2021). Kandungan senyawa yang terdapat di semanggi bur seperti kumarin, flavonoid, naftokuinon, alkaloid dan saponin diduga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, peningkat memori, meredakan sakit ginjal, pereda batuk, anti-inflamasi, anti-oksidan, hipolipidemia neuroproteksi, anti-asma, anti-mikroba dan mengobati infeksi leishmania (Ahmad *et al.*, 2021).

5. Simplisia

Simplisia merupakan bahan kering yang belum melalui proses pengolahan. Selama proses ekstraksi, hampir semua pelarut akan menguap dari zat aktif akan tertarik. Maserasi atau perendaman serbuk simplisia dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu ruangan merupakan metode yang sering digunakan untuk menarik komponen kimia dari tanaman (Sutomo *et al.*, 2019).

6. Proses pembuatan simplisia

Menurut Rina Wahyuni, Guswandi (2014) proses pembuatan simplisia terdiri dari beberapa langkah yaitu;

6.1. Pengumpulan bahan baku. Tanaman diambil dan dikumpulkan dari daerah Tawangmangu, Solo, Jawa Tengah. Tumbuhan semanggi bur (*Medicago polymorpha* L.) diambil secara manual pada bagian daun baik yang sudah berbunga maupun yang sudah berbuah dalam kondisi segar. Tanaman kemudian dilakukan identifikasi dan uji organoleptik untuk memastikan bahwa herba yang diambil sudah sesuai.

6.2. Sortasi basah. Sortasi basah bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan bahan asing lainnya dari herba sebelum proses pencucian. Bagian-bagian yang tidak diperlukan pada tanaman misalnya batang daun tidak diperlukan dan akan dibuang sebelum proses pengeringan sehingga didapatkan herba yang baik untuk digunakan. Proses ini dilakukan secara manual.

6.3. Pencucian. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan pengotor pada herba seperti tanah dan debu yang menempel. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti air dari mata air, air sumur atau air PAM. Dalam proses pencucian harus dipastikan bahwa proses dilakukan secepat mungkin untuk menghindari zat aktif yang terkandung dalam herba tidak hilang.

6.4. Perajangan. Proses perajangan bertujuan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum dilakukan perajangan, herba dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan menggunakan pisau atau mesin perajangan khusus untuk mendapatkan irisan tipis atau ukuran potongan yang diinginkan.

6.5. Pengeringan simplisia. Proses pengeringan terdiri dari tiga cara yaitu; kering angkinkan, memaparkan heba pada cahaya matahari langsung, atau menggunakan oven. Pengeringan ini dilakukan hingga kadar air tidak lebih dari 10%.

6.6. Sortasi kering. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor yang masih tersisa pada simplisia kering. Pada proses ini dilakukan secara manual.

6.7. Pengemasan dan penyimpanan. Simplisia dapat rusak selama penyimpanan. Untuk menghindari reaksi dan penyimpangan

warna, bau dan rasa, maka dapat dilakukan dengan memilih bahan atau wadah yang tidak beracun serta tidak bereaksi dengan simplisia. Wadah yang digunakan harus tahan panas dan terlindung dari cahaya seperti wadah aluminium foil, kaleng, maupun botol gelap. Penyiapan simplisia kering biasanya dilakukan pada suhu kamar yaitu antara suhu 150°C - 300°C.

7. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan langkah awal dalam memisahkan komponen dalam produk herbal yang diinginkan dari bahan baku. Metode ekstraksi dibagi menjadi empat yaitu metode ekstraksi pelarut, destilasi, pengepresan dan sublimasi. Metode ekstraksi yang paling umum digunakan yaitu metode ekstraksi pelarut. Proses ekstraksi bahan herbal terdiri dari empat tahap yaitu pertama, pelarut akan masuk kedalam matriks padat. Kedua, zat terlarut akan larut kedalam pelarut yang sesuai. Ketiga, zat terlarut akan berdifusi keluar melalui matriks padat. Lalu yang keempat, zat terlarut yang diekstraksi akan dikumpulkan. Efisiensi dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sifat pelarut ekstraksi, ukuran partikel bahan baku, perbandingan jumlah pelarut yang digunakan, suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018).

7.1 Metode maserasi. Maserasi merupakan proses peredaman serbuk kasar bahan alami dalam pelarut yang sesuai. Proses ini dilakukan pada suhu kamar atau dengan suhu yang lembut untuk memungkinkan bahan aktif berdifusi kedalam pelarut. Maserasi adalah metode yang sederhana dan efektif untuk mengekstraksi komponen aktif, namun metode ini memakan banyak waktu dan hasil yang didapat kurang. Maserasi cocok digunakan untuk produk alami yang rentang terhadap panas dan mengandung banyak pati, lendir, serta pektin (Zhang *et al.*, 2023).

7.2 Metode fraksinasi Ekstrak Tanaman. Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran senyawa khususnya yang terdapat pada tumbuhan melalui proses pemisahan berdasarkan sifat fisika-kimia seperti reaktivitas kimia, kelarutan, ukuran molekul, muatan listrik dan suhu muatan listrik misalnya titik didih serta titik beku (Al-Haj Ibrahim, 2019). Metode reaksi berdasarkan tingkat kepolaran digunakan untuk memisahkan kelompok bahan kimia dalam ekstrak. Fraksinasi menggunakan dua pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat umumnya menggunakan pelarut

yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya sehingga memungkinkan senyawa dengan polaritas berbeda tertarik pada pelarut yang sesuai. Dalam fraksinasi senyawa yang memiliki sifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, senyawa semi polar akan terlarut dalam pelarut semi polar, sedangkan senyawa non polar akan tertarik dalam senyawa non polar (Putri *et al.*, 2023).

8. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi menentukan polaritas pada senyawa pada ekstrak. Prinsip ekstraksi dengan pelarut seperti *like dissolve like*, yang artinya suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama (Verdiana *et al.*, 2018) .

8.1. Air. Air adalah pelarut yang paling polar dan digunakan untuk mengekstraksi berbagai macam senyawa polar. Manfaat penggunaan air sebagai pelarut yaitu air merupakan pelarut yang tidak beracun, murah, tidak mudah terbakar dan sangat polar. Namun kekurangan dari pelarut ini yaitu dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri dan jamur, tidak cocok untuk senyawa yang mengalami hidrolisis dan memerlukan panas yang tinggi untuk dapat memekatkan ekstrak (Abubakar & Haque, 2020).

8.2. *n*-heksan. *n*-heksana merupakan pelarut yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi herba. Pelarut *n*-heksan memiliki sifat mudah menguap, stabil dan selektif yang membuatnya cocok untuk mengekstraksi senyawa non-polar seperti steroid, alkaloid dan flavonoid (Larasati & Djannah, 2024).

8.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan senyawa aromatic semipolar dengan rumus $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ sehingga dapat menarik senyawa polar dan nonpolar (Artini *et al.*, 2013). Etil asetat merupakan pelarut yang ideal untuk ekstraksi karena mudah diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas rendah. Etil asetat memiliki kemampuan untuk menarik senyawa seperti alkaloid, tanin dan fenol pada herba (Nursyamsi *et al.*, 2015).

8.4. Etanol. Etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan karena pelarut ini lebih efektif untuk membunuh kuman dan kapang dalam konsentrasi diatas 20%. Selain itu, pelarut etanol memiliki sifat netral, tidak beracun, mudah bercampur dengan air pada segala perbandingan, serta tidak memerlukan panas tinggi untuk memekatkan ekstrak. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap,

glikosida, kurkumin, kumarin, anrakinon, flavonoid, steroid, dammar dan klorofil (Hayatus Sa`adah & Nurhasnawati, 2015).

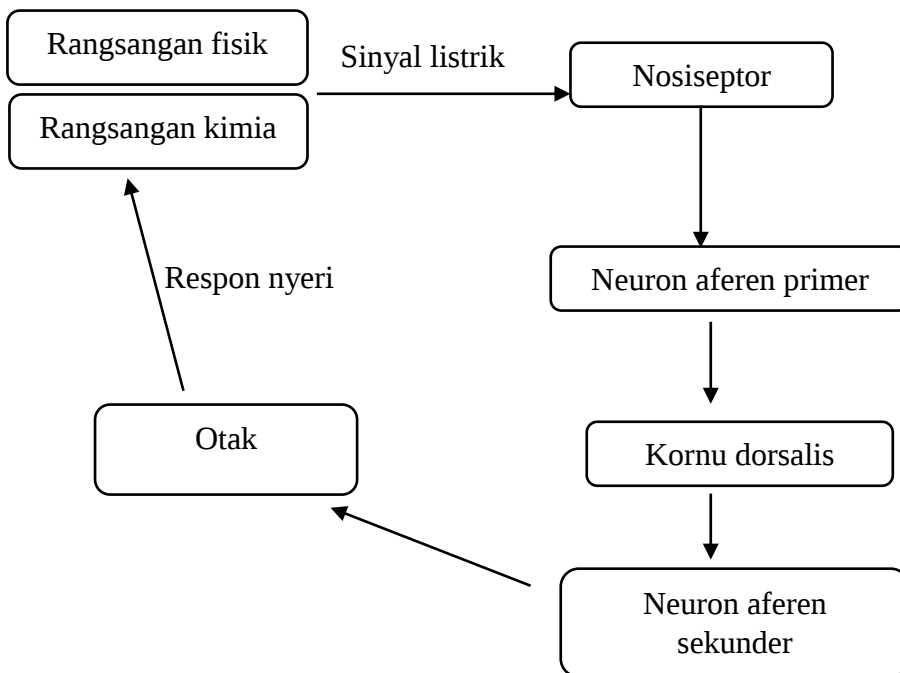
B. Efek Analgesik

1. Pengertian nyeri

Berdasarkan pernyataan *International Association for the Study of Pain* (IASP) menjelaskan bahwa nyeri merupakan pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan terkait dengan kerusakan jaringan, baik aktual maupun potensial (International Association for the Study of Pain, 2020). Peradangan akut merupakan respon langsung terhadap luka yang ditandai dengan adanya eksudasi cairan dan protein plasma serta akumulasi leukosit neutrofil yang dominan. Peradangan kronis merupakan proses peradangan yang berlangsung selama berminggu-minggu atau berbulan-bulan yang mana saat peradangan ini terjadi diikuti dengan adanya peradangan aktif, kerusakan jaringan dan upaya dalam memperbaiki jaringan (Ayanaw & Yesuf, 2023)

Nyeri menjadi masalah global yang terus meningkat. Diperkirakan terdapat 20% orang dewasa yang menderita nyeri dan terdapat 10% orang didiagnosa menderita nyeri kronis setiap tahun. Nyeri menjadi alasan lebih dari 80% pasien menemui dokter (Ayanaw & Yesuf, 2023). Data terbaru menyatakan bahwa prevalensi nyeri banyak dialami oleh lansia (Jamal *et al.*, 2022). Penanganan nyeri merupakan upaya yang dilakukan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa nyeri yang dialami oleh pasien baik pada pasien pediatri, dewasa, dan geriatri (Yudiyanta *et al.*, 2019).

2. Patofisiologi nyeri



Gambar 2. Mekanisme nyeri (Karcz *et al.*, 2024)

Sistem nyeri merupakan sekumpulan jaringan saraf yang bertanggung jawab terhadap proses dan respon rasa sakit. Sistem ini melibatkan neuron sensorik (neuron aferen primer) dan reseptor khusus (nosiseptor) yang terletak pada bagian perifer. Jalur pemrosesan nyeri dimulai dari adanya sinyal nyeri dari nosiseptor yang kemudian akan diteruskan menuju neuron aferen primer. Neuron aferen primer kemudian akan melanjutkan sinyal ke kornu dorsalis sumsum tulang belakang. Sinyal yang telah diterima pada sumsum tulang belakang selanjutnya diproses oleh neuron aferen sekunder untuk diteruskan ke otak (sistem saraf pusat). Proses pengolahan sinyal nyeri (nosisepsi) terdiri dari empat tahap yaitu; transduksi, transmisi, modulasi dan persepsi. Transduksi merupakan tahap awal nosisepsi yang terjadi karena perubahan sinyal dari rangsangan fisik atau kimia menjadi sinyal listrik yang kemudian akan diteruskan oleh nosiseptor. Transmisi merupakan serangkaian proses penghantaran sinyal listrik dari saraf perifer kemudian sumsum tulang belakang sampai ke otak. Modulasi merupakan pengaturan respon nyeri dengan cara memperkuat (eksitasi)

atau mengurangi (inhibisi) oleh sistem saraf yang pada tahap transmisi dengan melepaskan hormon endorfin. Sementara itu, persepsi merupakan respon subjektif yang muncul dari hasil interpretasi otak terhadap respon nyeri yang ditransmisikan, respon ini dapat berupa refleks tubuh untuk menghindari sumber bahaya (Karcz *et al.*, 2024).

3. Klasifikasi nyeri

Nyeri dapat diklasifikasikan menurut durasi dan mekanisme atau proses terjadinya nyeri. Beberapa penggolongan nyeri diantaranya sebagai berikut:

3.1 Berdasarkan durasi nyeri yang terjadi. Respon nyeri digolongkan menjadi dua yaitu sebagai berikut;

3.1.1 Nyeri akut. Muncul sebagai respon tubuh yang terjadi akibat kerusakan jaringan, respon ini berfungsi sebagai tanda peringatan adanya proses bahaya yang sedang berlangsung seperti kondisi medis atau cedera. Nyeri jenis ini biasanya mereda setelah penyebab utamanya ditangani dan jaringan yang rusak telah mengalami penyembuhan (Liu & Kelliher, 2022).

3.1.2 Nyeri kronis. Merupakan nyeri yang berlangsung atau berulang selama lebih dari tiga bulan bahkan setelah waktu penyembuhan jaringan. Nyeri kronis bersifat melemahkan dan sering kali berkaitan dengan depresi, gangguan sosial dan masalah perilaku. Nyeri kronis dapat semakin memburuk apabila tidak ditangani lebih lanjut (Liu & Kelliher, 2022).

3.2 Berdasarkan mekanisme atau proses terjadinya nyeri. Dibedakan menjadi berikut;

3.2.1 Nyeri nosiseptif. Pada nyeri fisiologis terdapat nosiseptor atau suatu sistem saraf sensorik tubuh yang bekerja sebagai pemberi respon terhadap rangsangan yang berpotensi membahayakan. Dua jenis utama dari *nociceptor* yaitu serabut A δ dan C yang tersebar di kulit, otot, sendi, tulang dan organ dalam. Serabut ini mendeteksi adanya rangsangan kimia, mekanik, dan termal yang berpotensi merusak (Liu & Kelliher, 2022). Fungsi protektif yang menuntut perhatian dan respon segera terjadi melalui aktivasi refleks penarikan, rasa tidak nyaman yang secara alami ditimbulkan dan reaksi emosional yang menyertainya. Ketika nyeri nosiseptif aktif, sistem ini cenderung mengesampingkan seluruh fungsi saraf lainnya (Woolf, 2010).

3.2.2 Nyeri neuropatik. Nyeri ini terjadi akibat cedera atau gangguan pada saraf dan sering disertai dengan allodynia (rasa sakit

akibat rangsangan yang seharusnya tidak menimbulkan nyeri). Kondisi ini terjadi karena sensitisasi akibat rangsangan berulang dan dianggap sebagai nyeri patologis karena tidak memiliki fungsi perlindungan bagi tubuh. Sensitisasi sentral yang terjadi secara berulang menjadi penyebab kerusakan saraf somatik, baik di sistem saraf pusat (SSP) maupun perifer. Secara neurokimia, cedera yang terjadi pada akson memicu reaksi kompleks, termasuk peningkatan eksitabilitas saraf. Dalam kondisi ini, nociceptor menunjukkan perubahan ekspresi saluran ion terutama saluran natrium yang mengatur eksitabilitas neuron dan transmisi sinyal nyeri (Liu & Kelliher, 2022).

3.3 Nyeri inflamasi atau peradangan. Nyeri merupakan respon alami tubuh terhadap rangsangan bahaya untuk menghilangkan sel mati dan mulai perbaikan jaringan. Neutrophil menjadi responden pertama kemudian diikuti dengan pelepasan mediator kimia lainnya. Peradangan dapat menyebabkan *hyperalgesia*, *allodynia* dan nyeri simpatis. Selain itu, aktivasi sel mast menyebabkan pelepasan PSF dan 5-HT dari trombosit. Ciri khas peradangan yaitu munculnya kemerahan, bengkak, nyeri, demam dan kehilangan fungsi akibat peningkatan aliran darah, permeabilitas pembuluh serta aktivasi neuron nyeri. Proses ini memicu pelepasan asam arakidonat yang diubah menjadi prostaglandin melalui jalur COX. Nyeri inflamasi dibedakan menjadi dua yaitu; nyeri akut dan kronis. Inflamasi akut bersifat tajam dan sementara (Liu & Kelliher, 2022).

Aktivasi sistem nyeri pada kondisi ini sering disertai dengan peningkatan kepekaan terhadap rangsangan suatu proses yang dikenal sebagai sensitisasi. Sensitisasi dapat terjadi di tingkat perifer (nosiseptor) maupun di tingkat pusat (tanduk dorsal sumsum tulang belakang). Sensitisasi perifer ditandai dengan peningkatan responsivitas dan penurunan ambang aktivasi neuron nosiseptif perifer. Sementara itu, sensitisasi sentral terjadi ketika neuron nosiseptif dalam sistem saraf pusat menunjukkan peningkatan kepekaan (Liu & Kelliher, 2022).

3.4 Berdasarkan lokasi. Nyeri dikategorikan menjadi dua yaitu nyeri somatik dan visceral maupun gabungan keduanya tergantung pada jenis jaringan yang terlibat. Nyeri somatik berasal dari sendi, otot atau kulit biasanya mudah dikenali lokasinya secara tepat. Sebaliknya, nyeri visceral yang berasal dari organ dalam cenderung tidak jelas letaknya dan menyebar. Pada nyeri visceral sinyal nyeri berasal dari banyak segmen tulang belakang dan adanya konvergensi

dari organ-organ yang berdekatan, selain itu, nyeri visceral sering ditandai dengan nyeri alih yang terjadi akibat pertemuan antara jalur saraf eferen somatik dan visceral. Nyeri ini sering disertai dengan gejala otonom karena serabut saraf visceral melewati pleksus otonom di tingkat tulang belakang (Liu & Kelliher, 2022).

C. Pengobatan Farmakologis

1. Obat analgesik

Analgesik merupakan obat yang digunakan untuk mengurangi rasa nyeri. Obat analgesik dibagi menjadi dua kelompok yaitu analgesik non-opioid dan analgesik opioid. Penjelasan mengenai kedua kelompok obat tersebut yaitu sebagai berikut;

1.1.1 Analgesik Non-opioid terdiri dari; pertama asetaminofen (Paracetamol) merupakan merupakan obat yang banyak digunakan untuk mengatasi demam dan nyeri ringan hingga sedang, namun tidak efektif untuk nyeri neuropatik. Mekanisme asetaminofen belum diketahui secara pasti. Namun, asetaminofen dikategorikan bersama NSAID karena memiliki kemampuan yang sama. Asetaminofen bekerja dengan menghambat jalur siklooksigenase (COX) di Sistem Saraf Pusat (SSP), tetapi tidak memiliki efek antiinflamasi perifer. Obat ini tidak berikatan langsung dengan enzim COX-1 atau COX-2 melainkan hanya menurunkan sintesis prostaglandin di SSP. Selain itu, asetaminofen atau metabolitnya yaitu AM404 diduga berperan dalam memberikan efek analgesik dengan mengaktivasi sistem kanabinoid dan memodulasi transmisi sinaptik di tanduk dorsal medula spinalis melalui aktivasi reseptor TRPV1 (Gerriets *et al.*, 2021). Kedua, NSAID, merupakan obat digunakan untuk mengobati nyeri inflamasi ringan hingga sedang. Karena sifat analgesik, antiinflamasi dan antipiretiknya yang kuat, obat golongan NSAID banyak digunakan masyarakat. NSAID bekerja dengan menghalangi enzim siklooksigenase (COX) yang bertanggung jawab atas biosintesis prostaglandin (PG) dan tromboksan (TX). PGs dan TXs berfungsi sebagai mediator penting untuk menghasilkan respon demam, nyeri dan peradangan (Gunaydin & Bilge, 2018).

1.1.2 Antidepresan seperti duloxetine dan amitriptin, merupakan obat yang direkomendasikan sebagai terapi pertama dalam penanganan nyeri neuropatik dan pasien dengan gangguan psikologis (Queremel Milani & Davis, 2021).

1.1.3 Antiepileptik seperti gabapentin dan pregabalin, merupakan obat yang efektif untuk mengurangi nyeri neuropatik melalui penghambatan pelepasan neurotransmitter (Queremel Milani & Davis, 2021).

1.1.4 Anestesi lokal seperti lidokain, merupakan obat yang digunakan untuk mengurangi nyeri neuropatik perifer seperti neuralgia dan nyeri pasca herpes (Queremel Milani & Davis, 2021).

1.2 Analgesik opioid, merupakan obat yang sangat efektif untuk mengatasi nyeri berat baik nyeri akut maupun nyeri kronis. Namun, penggunaannya harus dibatasi karena dapat menyebabkan ketergantungan dan memicu efek samping lain. Penggunaan opioid menurut rekomendasi *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) hanya boleh digunakan apabila manfaat yang didapat lebih besar dibandingkan dengan risikonya dengan dosis efektif terendah dan durasi sesingkat mungkin (Queremel Milani & Davis, 2021).

D. Metode Uji

1. Metode uji analgesik

1.1. Uji *hot plate*. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengukur efek nosisepsi pada tikus dan mencit adalah dengan menggunakan *hot plate test* atau uji pelat panas. Pengujian ini dilakukan dengan menempatkan tikus atau mencit diatas plat panas tertutup dan mengukur latensi yang timbul ketika hewan uji menjilat kaki belakang atau melompat dari kandang (Gunn *et al.*, 2011). Uji plat panas dilakukan dengan memasukkan tikus kedalam ruang silinder terbuka yang terdiri dari plat logam yang telah dipanaskan dengan cairan mendidih. Dalam proses ini menghasilkan dua perilaku hewan uji yang dapat diukur dalam satuan waktu. Kedua reaksi seperti menjilat kaki belakang atau melompat dari kandang merupakan respon supraspinal yang terintegrasi (Dzoyem *et al.*, 2017).

1.2. Uji *tail flick*. Uji latensi jentik ekor atau *tail flick* merupakan pengujian yang digunakan untuk mengukur respon nosiseptif. Pengujian ini menggunakan berkas cahaya yang diarahkan ke ekor hewan uji, kemudian hewan uji akan mengalami sensasi panas yang menyakitkan sehingga hewan uji akan mengalami refleks untuk menggerakkan ekornya. Penilaian respon nyeri dihitung dari jumlah waktu yang dibutuhkan sebelum ekor bergerak menyamping. Perlu diperhatikan bahwa usia, jenis kelamin dan berat badan dapat

berdampak pada respon yang dihasilkan sehingga hewan uji yang digunakan tidak boleh bervariasi untuk menghindari hasil bias (Breed & Moore, 2016). Percobaan dilakukan pada titik 2,4, dan 4 cm secara berurutan. Setiap percobaan akan melibatkan peningkatan suhu linear pada 1,8°C dari suhu penahan 34°C hingga suhu tertinggi (TF atau 52°C) dalam waktu kurang dari 10,6 detik (Heinricher *et al.*, 2001).

1.3. Uji formalin. Uji formalin bertujuan untuk memeriksa kepekaan hewan terhadap rangsangan kimia yang berbahaya. Peneliti akan melakukan pengujian dengan menyuntikkan formalin dan bahan kimia berbahaya ke kaki belakang hewan uji dan menghitung berapa lama hewan uji menghabiskan waktu untuk menjilati, menggigit, atau menarik bagian tubuh yang terkena rangsangan. Pengujian ini dilakukan evaluasi dalam dua fase yang mana fase kedua bertujuan untuk memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh peradangan pada jaringan. Fase pertama dilakukan selama 10 menit setelah dilakukan injeksi, sedangkan fase kedua dilakukan setelah 20 menit hingga 1 jam (Breed & Moore, 2016).

1.4. Uji geliat (*Writhing test*). *Writhing test* atau uji menggeliat merupakan pengujian yang dilakukan dengan memanfaatkan induksi kimia seperti fenilkuinon atau asam asetat untuk menghasilkan nyeri perifer pada tikus. Pemberian asam asetat secara parenteral pada tikus akan menyebabkan lesi karena sifat iritatifnya. Menggeliat adalah respon terhadap rasa sakit yang disebabkan oleh iritasi atau lesi sehingga memicu pelepasan mediator nyeri seperti prostaglandin (Gawade, 2012).

E. Hewan Uji

1. Taksonomi hewan uji

Berikut ini merupakan klasifikasi hewan uji menurut (Dueñas-López & Angel, 2022).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

2. Karakteristik biologis hewan uji

Rodents atau hewan pengerat merupakan kelompok mamalia yang paling beragam dan paling umum digunakan dalam penelitian biomedis. Salah satu alasannya yaitu karena kelompok ini memiliki banyak mutasi yang mengubah dapat mengubah struktur biologisnya (A˘gaç *et al.*, 2024).

Keunggulan mencit dibandingkan hewan uji yang lain yaitu pemberian obat yang relatif mudah dilakukan melalui beberapa rute seperti oral, intratekal, intraperitoneal, subkutan maupun topikal. Pemahaman yang mudah terhadap respon dan efektivitas obat yang diberikan, serta mencit banyak digunakan untuk mengukur konsentrasi obat dan metabolitnya dengan mengumpulkan urin, feses, empedu dan getah bening yang kemudian dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKCT) (Jorgenebert *et al.*, 2007).

Karakteristik mencit yaitu memiliki umur hidup hingga 1-3 tahun. Mencit putih umumnya memiliki berat badan 18-20 gram pada usia 4 minggu dan memiliki bobot 30-40 gram pada usia 6 minggu atau lebih. Mencit memiliki variasi genetik yang cukup besar. Selain itu mencit memiliki sifat anatomis dan mempunyai 27 fisiologis yang telah terkarakterisasi. Morfologi mencit genus *Mus* memiliki waktu generasi yang singkat dengan masa kehamilan sekitar 3 minggu dan biasanya satu siklus mencit hanya diperlukan waktu 9 sampai 11 minggu (Phifer-Rixey & Nachman, 2015).

F. Landasan teori

Nyeri merupakan respon yang tidak diinginkan yang disebabkan karena adanya kerusakan jaringan aktual maupun potensial. Nyeri terjadi ketika terdapat kerusakan jaringan yang kemudian akan mengirimkan sinyal kimia untuk diubah menjadi sinyal listrik dan diteruskan pada nosiseptor. Nosiseptor kemudian akan meneruskan rangsangan nyeri pada sumsum tulang belakang yang selanjutnya akan diteruskan menuju hipotalamus. Rangsangan yang diterima oleh hipotalamus kemudian akan mengirimkan respon untuk menghindari penyebab nyeri (Karcz *et al.*, 2024).

Penanganan nyeri umumnya diberikan obat analgesik non-opioid atau opioid. Analgesik non-opioid seperti paracetamol dan obat golongan NSAID bekerja dengan menurunkan sintesis prostaglandin. Penghambatan prostaglandin terjadi akibat penghambatan jalur

siklooksigenase di sistem saraf pusat (Gunaydin & Bilge, 2018). Analgesik opioid merupakan obat yang efektif untuk mengatasi nyeri berat, namun penggunaannya harus dibatasi karena tingginya risiko ketergantungan sehingga penggunaannya diawasi secara ketat (Queremel Milani & Davis, 2021).

Tanaman semanggi bur telah lama digunakan sebagai antidiabetes, peningkat memori, pengobatan alternatif sakit ginjal, meredakan batuk, sebagai anti-inflamasi, anti-oksidan, hipolipidemia, neuroproteksi, anti-asma, anti-mikroba dan dapat digunakan untuk mengobati leishmania. Kandungan yang terdapat dalam daun semanggi bur seperti kumarin seperti kumarin, flavonoid, naftokuinon, alkaloid dan saponin diduga memberikan aktivitas terapi dalam semanggi bur. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa semanggi bur memiliki aktivitas sebagai analgesik yang diuji dengan 3 metode berbeda yaitu metode dengan menggunakan asam asetat, menggunakan formalin dan menggunakan pelat panas. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa dosis 300 mg/kg memiliki penghambatan nyeri menggunakan metode induksi asam asetat sebanyak 71,79%, kemudian dengan dosis yang sama daun semanggi burr memiliki persentase efek penghambatan nyeri menggunakan metode *hot plate* sebesar 67,39%. Persentase penghambatan nyeri juga ditunjukkan dengan metode berbeda seperti induksi formalin, efek penghambatan nyeri yang ditunjukkan pada fase pertama dan kedua dengan dosis 300 mg/kg secara berturut-turut yaitu 62,90% dan 70,89% (Ahmad *et al.*, 2021).

Penelitian ini dilakukan dengan ekstraksi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan metode ECC. Metode ECC dalam penelitian ini menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda seperti *n*-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar. Prinsip kerja metode ECC yaitu *like dissolve like* yang artinya senyawa polar akan tertarik kedalam pelarut polar dan sebaliknya. Senyawa yang memiliki aktivitas dalam daun kemuning seperti senyawa golongan alkaloid, tannin, glikosida dan flavonoid terekstraksi dalam pelarut semi polar atau etil asetat (Jaya *et al.*, 2025). Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi terhadap penghambatan respon nyeri. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun semanggi bur dengan dosis 300 mg/kg yang kemudian akan dilakukan

fraksinasi menggunakan pelarut yang memiliki polaritas berbeda seperti fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air.

Metode pengujian yang dilakukan yaitu menggunakan metode uji geliat dengan induksi asam asetat 3% yang akan menyebabkan lesi pada mencit, reaksi menggeliat yang ditunjukkan merupakan respon terhadap nyeri akibat pelepasan mediator prostaglandin (Gawade, 2012). Uji pelat panas menggunakan analgesiometer digunakan untuk mengukur efek nosisepsi pada mencit. Hewan uji yang diletakkan dalam analgesiometer akan menimbulkan respon nyeri seperti menjilat kaki belakang atau melompat karena adanya respon integrasi supraspinal akibat induksi panas (Dzoyem *et al.*, 2017).

Pengujian yang dilakukan terbagi menjadi 2 tahap yaitu pengujian pertama yaitu pengujian analgesik dengan menggunakan metode uji geliat atau *writhing test*. Pengujian ini dilakukan dengan memberikan larutan stok uji setara 300 mg/kg ekstrak daun semanggi bur pada masing-masing kelompok uji, kemudian dilakukan induksi menggunakan asam asetat 3% setelah diberi perlakuan dengan larutan uji. Melakukan pengamatan selama 5 hingga 15 menit terhadap terjadinya gerakan menggeliat atau peregangan yang muncul pada hewan uji. Pengujian kedua dilakukan dengan menentukan waktu latensi awal tikus dengan meletakkan tikus selama 10 detik pada analgesiometer. Kemudian, hewan uji akan diberikan larutan stok sesuai kelompok masing-masing. Kelompok uji fraksi yang digunakan setara dengan 300 mg/kg ekstrak daun semanggi bur. Pengamatan latensi dilakukan dengan meletakkan hewan uji pada analgesiometer selama 20 detik untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan dan dilakukan pada jam ke-0, 0.5, 1 dan 2 setelah perlakuan (Reza *et al.*, 2021).

G. Hipotesis

Pertama, fraksi daun semanggi bur (*Medicago polymorpha*) memiliki aktivitas analgetika sentral dan perifer terhadap mencit putih jantan.

Kedua, fraksi daun semanggi bur (*Medicago polymorpha*) yang memiliki aktivitas analgetika paling tinggi terhadap mencit putih jantan adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, fraksi daun semanggi bur (*Medicago polymorpha*) menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap analgetika perifer.