

Analgesic Effectiveness of Ethanol Extract of Pegagan Leaves (*Centella asiatica*) on White Mice (*Mus musculus*)

Efektivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*)

Siti Rahmadani ^{a*}, Lukman Hardia ^a, Angga Bayu Budiyananto ^a

^a Department of pharmacy, Faculty of pharmacy, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong, Sorong, Indonesia.

*Corresponding Authors: rahmadanisiti863@gmail.com

Abstract

Background: Pain is an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, representing a major health problem that requires effective management. Although synthetic analgesics are widely used, their long-term administration is often associated with adverse effects, particularly gastrointestinal disturbances, thus driving the search for safer alternatives from natural sources. *Centella asiatica* (pegagan) is a medicinal plant traditionally used for various ailments, containing bioactive compounds with potential analgesic properties. **Objective:** This study aimed to evaluate the analgesic activity of ethanol extract of *Centella asiatica* leaves in male white mice (*Mus musculus*) and to determine the most effective dose. **Methods:** A true experimental study with pretest-posttest control group design was conducted involving 25 male mice randomly assigned into five groups (n=5 each): positive control (paracetamol 65 mg/kgBW), negative control (1% Na-CMC), and three treatment groups receiving ethanol extract at doses of 100, 150, and 200 mg/kgBW. The extract was prepared by maceration using 70% ethanol and subjected to phytochemical screening. Analgesic activity was evaluated using the tail flick method, with latency time measured at 30, 60, 90, and 120 minutes post-administration. Data were analyzed using Wilcoxon signed-rank test and Mann-Whitney U test at 95% confidence level. **Results:** Phytochemical analysis revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins in the extract, while steroids were not detected. The 100 mg/kgBW dose demonstrated the most consistent and significant analgesic activity, with statistically significant differences ($p < 0.05$) observed at 60, 90, and 120 minutes compared to pre-test values. This dose achieved the highest percentage of analgesia (63.09%) at 120 minutes, which was significantly superior to the positive control group. The 150 mg/kgBW dose showed inconsistent effects, while the 200 mg/kgBW dose exhibited comparable activity but with less consistency. **Conclusion:** The ethanol extract of *Centella asiatica* leaves possesses significant analgesic activity in mice, with the optimal dose of 100 mg/kgBW. The analgesic effect is likely mediated through the inhibition of cyclooxygenase enzymes and subsequent reduction of prostaglandin synthesis, supported by the presence of flavonoids, alkaloids, and triterpenoid compounds. These findings support the potential development of *Centella asiatica* as a standardized herbal analgesic agent.

Keywords: *Centella asiatica*, analgesic, ethanol extract, mice, tail flick.

Abstrak

Latar Belakang: Nyeri merupakan pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan kerusakan jaringan aktual maupun potensial, sehingga memerlukan penanganan yang efektif. Meskipun analgesik sintesis banyak digunakan, penggunaannya dalam jangka panjang sering dikaitkan dengan efek samping, terutama gangguan saluran cerna, sehingga mendorong pencarian alternatif yang lebih aman dari bahan alam. *Centella asiatica* (pegagan) merupakan tanaman obat yang secara tradisional digunakan untuk berbagai penyakit, mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi memiliki aktivitas analgesik. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas analgesik ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) serta menentukan dosis yang paling efektif. **Metode:** Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *pretest-posttest control group* dilakukan menggunakan 25 ekor mencit yang dialokasikan secara acak ke dalam lima kelompok (n=5 masing-masing): kontrol positif (parasetamol 65 mg/kgBB), kontrol negatif (Na-CMC 1%), dan tiga kelompok perlakuan yang menerima ekstrak etanol dengan dosis 100, 150, dan 200 mg/kgBB. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dan dilakukan skrining fitokimia. Aktivitas analgesik dievaluasi menggunakan metode *tail flick*, dengan pengukuran waktu latensi pada menit ke-30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian. Data dianalisis menggunakan uji *Wilcoxon signed-rank* dan uji *Mann-Whitney* pada tingkat kepercayaan 95%. **Hasil:** Analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin dalam ekstrak, sedangkan steroid tidak terdeteksi. Dosis 100 mg/kgBB menunjukkan aktivitas analgesik yang paling konsisten dan signifikan, dengan perbedaan bermakna secara statistik ($p < 0,05$) pada menit ke-60, 90, dan 120 dibandingkan nilai *pre-test*. Dosis ini mencapai persentase analgesia tertinggi (63,09%) pada menit ke-120, yang secara signifikan lebih unggul dibandingkan kelompok kontrol positif. Dosis 150 mg/kgBB menunjukkan efek yang tidak konsisten, sedangkan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan aktivitas yang sebanding namun dengan konsistensi yang lebih rendah. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) memiliki aktivitas analgesik yang signifikan pada mencit, dengan dosis optimal 100 mg/kgBB. Efek analgesik tersebut kemungkinan dimediasi melalui penghambatan enzim siklooksigenase dan penurunan sintesis prostaglandin, yang didukung oleh keberadaan senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Temuan ini mendukung potensi pengembangan *Centella asiatica* sebagai agen analgesik herbal terstandar.

Kata Kunci: *Centella asiatica*, analgesik, ekstrak etanol, mencit, tail flick.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 28/03/20026,
Revised: 02/06/20026,
Accepted:02/06/20026,
Available Online: 21/062026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i2.1602>

Pendahuluan

Nyeri didefinisikan sebagai suatu respons sensorik dan emosional yang timbul akibat terjadinya kerusakan pada jaringan tubuh, yang pada akhirnya berdampak pada penurunan kenyamanan seseorang. Dalam dunia medis, kondisi ini umumnya diatasi dengan pemberian analgesik, yaitu sejenis obat yang bekerja dengan cara meredam intensitas nyeri yang dirasakan tanpa memengaruhi tingkat kesadaran pasien [9]. Analgesik sendiri terbagi ke dalam dua kategori utama, yakni kelompok opioid dan kelompok non-opioid [19]. Proses terjadinya nyeri merupakan mekanisme yang kompleks dan melibatkan berbagai perubahan fisiologis, antara lain nosisepsi, sensitisasi perifer, perubahan fenotip, sensitisasi sentral, eksitabilitas ektopik, reorganisasi struktural, serta berkurangnya mekanisme inhibisi. Rangsangan akibat cedera jaringan akan diproses melalui empat tahap utama, yaitu transduksi, transmisi, modulasi, dan persepsi, hingga akhirnya diinterpretasikan sebagai sensasi nyeri oleh sistem saraf pusat [2].

Salah satu tanaman yang dinilai memiliki potensi sebagai agen analgesik adalah pegagan (*Centella asiatica*). Dalam penelitiannya Berliana (2022) mengungkapkan bahwa tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, di antaranya flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Flavonoid berperan sebagai analgesik melalui mekanisme penghambatan enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2), sehingga mengurangi sintesis prostaglandin yang berperan dalam proses inflamasi dan persepsi nyeri [20]. Senyawa terpenoid, khususnya asam asiatic (Asiatic acid) yang merupakan triterpenoid pentasiklik dari daun pegagan terbukti secara ilmiah dapat menekan ekspresi COX-2, NF- κ B, serta menurunkan kadar TNF- α dan IL-1 β yang memediasi respon inflamasi dan nosisepsi [18]. Pemberian serbuk ekstrak daun pegagan mampu mempercepat pemulihan luka sayat pada mencit dengan dosis efek 100 mg/KgBB secara lebih signifikan dibandingkan dengan penggunaan NaCl 0,9% maupun povidone iodine [18].

Mengacu pada berbagai temuan penelitian terdahulu, salah satunya penelitian Sari *et al.*, 2024 yang membuktikan bahwa ekstrak daun pegagan memiliki aktivitas analgesik sentral dan perifer secara bermakna pada mencit melalui metode *tail flick* dan *writhing test*, maka peneliti merasa tertarik untuk mengevaluasi lebih lanjut efektivitas analgesik. Penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi sejauh mana efektivitas analgesik yang dimiliki ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dengan menggunakan mencit putih jantan sebagai hewan uji.

Metode Penelitian

Jenis Penelitian

Penelitian ini menerapkan pendekatan kuantitatif, sebuah eksperimen yang dirancang untuk diadakan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong (UNIMUDA). Kegiatan ini dilaksanakan dari bulan Februari hingga April 2026, desain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu desain *pretest-posttest control group*. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan metode *tail flick*. Hasil yang diperoleh di analisis menggunakan uji *paired t-test* dan *independent t-test*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada periode Februari hingga April 2026 di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong (UNIMUDA), Papua Barat Daya. Populasi penelitian berupa tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang berasal dari Desa

Sisipan, Kabupaten Sorong, Provinsi Papua Barat Daya. Sampel yang digunakan adalah daun pegagan yang diperoleh dari lokasi tersebut dan dipilih berdasarkan karakteristik morfologi khas tanaman, yaitu tumbuhan herba menjalar yang bersifat perennial, tidak berbentuk semak maupun pohon, serta memiliki kemampuan tumbuh dan menyebar dengan cepat melalui stolon. Daun yang digunakan sebagai sampel dikumpulkan dalam kondisi segar, bebas dari kerusakan fisik, tidak menunjukkan tanda-tanda kontaminasi jamur, dan memenuhi kriteria mutu bahan baku penelitian sehingga layak untuk digunakan dalam tahapan analisis selanjutnya.

Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan terdiri atas alat dan bahan yang mendukung seluruh tahapan penelitian. Peralatan yang digunakan meliputi aluminium foil, ayakan, hot plate, batang pengaduk, desikator, kandang atau tempat hewan uji, spuit, sonde oral 1 mL, kertas saring, labu ukur, lumpang dan alu, mangkuk ekstraksi, penjepit tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung reaksi, rotary evaporator, stopwatch, tabung reaksi, neraca analitik, serta berbagai wadah yang digunakan selama proses ekstraksi dan pengujian. Adapun bahan yang digunakan meliputi daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai bahan utama penelitian, etanol 70% sebagai pelarut ekstraksi, aquadest, Na-CMC 1% sebagai suspending agent, paracetamol sebagai penginduksi, mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan uji, serta berbagai reagen untuk skrining fitokimia, yaitu asam klorida 2 N, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, besi(III) klorida (FeCl_3), timbal(II) asetat [$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$], reagen Mayer, dan reagen Bouchardat. Seluruh bahan yang digunakan memiliki kualitas pro analisis dan digunakan sesuai dengan prosedur penelitian yang telah ditetapkan.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Pembuatan ekstrak dari daun pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan melalui metode perendaman yang melibatkan etanol 70% sebagai pelarut. Sebanyak 250 g serbuk daun pegagan ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah untuk proses maserasi. Kemudian, tambahkan 1000 mL etanol 70% dengan rasio 1:4 sehingga sampel keadaan terendam sepenuhnya. Proses perendaman berlangsung selama 72 jam di dalam wadah tertutup yang terhindar dari sinar matahari, sambil diaduk secara rutin. Pada hari ketiga, campuran disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu kemudian, lakukan remaserasi dengan menambahkan 1000 mL etanol 70% (rasio 1:4) selama 2×24 jam guna memaksimalkan hasil ekstraksi senyawa. Gabungkan filtrat yang dihasilkan dari tahapan maserasi hingga remaserasi kemudian diuapkan dengan menggunakan *evaporator rotary* pada temperatur 40°C sampai diperoleh ekstrak yang kental [19].

Uji Kandungan Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*). Pengujian alkaloid dilakukan dengan melarutkan 2 mL sampel ke dalam 2 mL HCl 2%, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah didinginkan dan disaring, filtrat yang diperoleh ditambahkan masing-masing 2 tetes pereaksi Mayer dan Bouchardat. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih kekuningan pada pereaksi Mayer serta endapan coklat kehitaman pada pereaksi Bouchardat [10]. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram sampel ke dalam 2 mL metanol, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 5 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau oranye pada larutan uji [5]. Pengujian tanin dilakukan dengan menambahkan pereaksi FeCl_3 ke dalam 2 mL sampel, dimana hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi biru tua atau hijau kehitaman akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dan ion Fe^{3+} [7]. Identifikasi saponin dilakukan dengan menambahkan 10 mL air mendidih ke dalam 2 mL sampel, kemudian dikocok hingga terbentuk busa. Setelah didiamkan selama 10 menit dan ditambahkan 1 tetes HCl 2N, busa yang tetap stabil menandakan adanya senyawa saponin [1]. Pengujian steroid/terpenoid dilakukan dengan menambahkan 2 tetes reagen Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat) dan 1 tetes H_2SO_4 pekat ke dalam 2 mL sampel. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu atau merah yang kemudian berubah menjadi hijau kebiruan, yang mengindikasikan adanya senyawa terpenoid [10].

Pengujian Efek Analgesik

Sebelum proses pengujian dimulai, seluruh hewan uji terlebih dahulu menjalani periode puasa selama 8 jam, meskipun akses terhadap air minum tetap diberikan sepanjang waktu tersebut. Setelah itu, masing-masing hewan uji ditimbang bobotnya, kemudian dibagi secara merata ke dalam lima kelompok perlakuan,

dengan setiap kelompok terdiri atas lima ekor mencit. Sebelum pemberian perlakuan dimulai, setiap mencit terlebih dahulu diuji menggunakan alat *analgesy meter* guna memperoleh data waktu reaksi awal yang dicatat sebagai nilai (T_0). Selanjutnya, masing-masing kelompok diberikan sediaan uji secara oral sesuai dengan dosis dan volume yang telah ditetapkan berdasarkan hasil perhitungan. Setelah melewati interval waktu 30 menit, mencit kembali diuji menggunakan alat *analgesy meter*, dengan parameter pengamatan berupa waktu yang dibutuhkan mencit untuk menarik atau menjentikkan ekornya sebagai respons terhadap rangsangan. Pengujian ini dilaksanakan secara berulang pada interval waktu menit ke-30, ke-60, ke-90, dan ke-120. Untuk mencegah kerusakan jaringan akibat paparan panas berulang, ekor mencit diperiksa secara visual setelah setiap pengujian, dan diberikan jeda pemulihan selama minimal 5 menit antar pengukuran. Pengamatan pada menit ke-90 dan ke-120 dilakukan secara hati-hati dan dipertimbangkan sebagai keterbatasan penelitian ini [16].

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics dan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik. Analisis statistik dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati. Uji *Wilcoxon Signed-Rank Test* digunakan untuk membandingkan dua kelompok data yang berpasangan, seperti data sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok yang sama [16]. Sementara itu, *Mann-Whitney U Test* digunakan untuk menganalisis perbedaan antara dua kelompok yang bersifat independen atau tidak berpasangan. Pengambilan keputusan pada kedua uji dilakukan berdasarkan nilai signifikansi (*p-value*) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sedangkan nilai $p > 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok yang dibandingkan [4]. Hasil analisis selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam mengevaluasi efektivitas perlakuan yang diberikan selama penelitian.

Hasil Dan Pembahasan

Tabel 1. Hasil rendemen daun pegagan (*Centella asiatica*)

Simplisia	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Berat sampel (Kg)	Rendemen (%)
Daun Pegagan	250g	56,7g	3kg	22,6%

Berdasarkan hasil ekstraksi yang disajikan pada **Tabel 1**, dari 250 gram simplisia daun pegagan diperoleh ekstrak sebanyak 56,7 gram dengan nilai rendemen sebesar 22,6%.

Tabel 2. Hasil uji skrining ekstrak daun pegagan

Golongan senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Ket
Alkaloid	Mayer (-), Burchard (+), Dragendrof (+)	Mayer: endapan putih kekuningan; Burchard: endapan coklat kehitaman; Dragendrof: warna merah jingga	+ (2 dari 3 pereaksi)
Flavonoid	Pb II asetat	Terbentuk endapan kuning	+
Saponin	Hcl 2N / Aquadest	Terbentuk buih stabil	+
Tanin	Fecl 3	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Steroid	Libermann-Burchad	Terbentuk hijau kebiruan	-

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang ditunjukkan pada **Tabel 2**, ekstrak daun pegagan diketahui mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna dan terbentuknya endapan pada masing-masing pereaksi yang digunakan.

Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan bahwa hanya dosis 100 mg/kgBB yang memberikan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada menit ke-60 hingga ke-120, menandakan efek analgesik yang muncul bertahap. Kelompok lainnya tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$), kemungkinan dipengaruhi variasi biologis dan jumlah sampel yang terbatas [15].

Tabel 3. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Pegagan Terhadap Respon Nyeri Hewan Uji

Kelompok Kontrol	Mean±SD (detik) Respon Hambatan Nyeri				
	Pre Test	Menit ke- 30	Menit ke- 60	Menit ke- 90	Menit ke- 120
Kontrol Positif (paracetamol)	5,16±0,97	5,36±1,59	6,93±1,63	4,81±2,18	4,79±0,85
Kontrol Negatif (Na CMC)	6,71±1,38	5,39±0,84	5,96±1,36	5,79±0,93	6,05±0,95
Dosis 100 mg/KgBB	3,88±0,75	5,49±0,91*	5,91±1,9*	4,55±0,34*	5,73±1,49*
Dosis 150 mg/KgBB	3,99±1,56	4,53±0,66	3,35±0,66	4,84±0,40	4,96±2,01
Dosis 200 mg/KgBB	6,61±2,31	9,37±1,80	5,92±0,89	4,79±0,85	5,29±1,36

Ket. Analisis data menggunakan uji Wilcoxon :

* = berbeda signifikan terhadap Pre Test ($p < 0,05$, Uji Wilcoxon) $p < 0,05$ = berbeda signifikan $p \geq 0,05$ = tidak berbeda signifikan**Tabel 4** Perbandingan Efek Analgesik Antara Kelompok Perlakuan

Variabel	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Dosis 100 mg/kgBB	Dosis 150 mg/kgBB	Dosis 200 mg/kgBB
Pre Test	5,16±0,97	6,71±1,38	3,88±0,75	3,99±1,56	6,61±2,31
Δ Post Test (detik)					
30 menit	0,29±0,64	-0,10±1,52	0,89±1,60 ^{ad*}	-1,38±2,20 ^{e*}	0,86±2,53 ^{d*}
60 menit	-0,09±1,14	0,97±2,27	1,35±1,07	-1,06±1,73	1,07±2,33 ^{c*}
90 menit	-0,01±1,20	0,19±1,97	1,21±0,92	-0,05±1,65	0,14±2,11
120 menit	0,05±1,28	1,14±1,84	2,27±1,08 ^{bd*}	1,21±2,81	0,60±3,22
% Δ Posttest (detik)					
30 menit	3,93±10,97	2,85±26,79	32,24±49,100	-18,15±33,37 ^{e*}	26,80±39,10 ^{d*}
60 menit	2,24±22,99	28,03±57,83	39,79±34,44 ^{ad*}	-14,28±27,54	35,34±53,10 ^{c*}
90 menit	3,00±21,29	11,13±38,41	38,38±35,12 ^{a*}	5,61±29,27	14,37±38,27
120 menit	3,12±23,04	29,25±39,96	63,09±28,69 ^{a*}	33,13±67,07	29,44±59,61

Keterangan :

a = $p < 0,05$ berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol positifb = $p < 0,05$ berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatifc = $p < 0,05$ berbeda signifikan dibandingkan kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBBd = $p < 0,05$ berbeda signifikan dibandingkan kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBBe = $p < 0,05$ berbeda signifikan dibandingkan kelompok perlakuan dosis 200 mg/kgBB

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian perlakuan memiliki pengaruh terhadap peningkatan aktivitas analgesik. Dosis 100 mg/kgBB cenderung memberikan efek analgesik yang paling baik dan konsisten dibandingkan dosis 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, terutama pada pengamatan 60 hingga 120 menit. Hal ini terlihat dari nilai Δ post test maupun % Δ post test yang lebih tinggi serta adanya perbedaan signifikan pada beberapa kelompok perbandingan. Nilai negatif menunjukkan penurunan waktu latensi, yang berarti tidak terjadi efek analgesik atau terjadi hiperalgesia.

Pembahasan

Pembuatan Simplisia

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang masih segar, berwarna hijau, dan tidak rusak atau busuk. Daun pegagan diambil sebanyak 3kg kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan bagian tanaman yang tidak diperlukan. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, serta bagian tanaman yang telah rusak atau tidak diinginkan, karena tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi kualitas simplisia yang dihasilkan [16].

Setelah sortasi basah, daun kemudian dicuci menggunakan air mengalir. Daun yang telah dicuci kemudian dirajang dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45°C. Proses perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan bahan sehingga proses pengeringan dapat berlangsung lebih cepat dan merata. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam bahan sehingga bahan tidak cepat rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan pada suhu 45°C karena suhu yang terlalu tinggi dapat merusak kandungan senyawa aktif, sedangkan suhu yang terlalu rendah tidak mampu menurunkan kadar air hingga batas yang disyaratkan. Penggunaan oven dalam pengeringan simplisia

memiliki keunggulan dibandingkan pengeringan alami, yakni suhu lebih terkontrol, waktu pengeringan lebih singkat, dan risiko kontaminasi lebih kecil [13].

Ekstraksi dan Skrining Fitokimia Daun Pegagan (*Centella asiatica*)

Pada penelitian ini, ekstraksi daun pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena prosesnya sederhana, tidak memerlukan pemanasan tinggi, sehingga mampu meminimalkan kerusakan senyawa aktif yang bersifat termolabil. Selain itu, etanol 70% memiliki keunggulan sebagai pelarut yang bersifat selektif, aman, tidak toksik, dan mampu mengekstraksi senyawa polar maupun semipolar secara optimal. Etanol 70% juga diketahui lebih efektif dibandingkan etanol konsentrasi lebih tinggi (96%) dalam menarik senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin karena kandungan air yang proporsional membantu melarutkan senyawa yang membutuhkan media polar [12].

Hasil ekstraksi dari 250 gram serbuk simplisia daun pegagan menghasilkan ekstrak kental sebanyak 56,7 gram dengan nilai rendemen sebesar 22,6%. Nilai ini tergolong baik karena melampaui batas minimal 10% yang menjadi standar kualitas ekstrak tanaman obat. Nilai rendemen dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain jenis pelarut yang digunakan, lama waktu maserasi, ukuran partikel simplisia, serta kondisi lingkungan tempat tumbuh tanaman. Pada penelitian ini, proses remaserasi dilakukan sebanyak dua kali selama 2×24 jam guna memaksimalkan hasil ekstraksi senyawa aktif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Novi *et al.* (2023) yang menyatakan bahwa remaserasi mampu meningkatkan jumlah senyawa yang terlarut dalam pelarut secara signifikan [14].

Temuan identifikasi memperlihatkan bahwa hasil ekstraksi etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Flavonoid memiliki cincin benzene dengan gugus hidroksi yang membentuk endapan tersebut. Alkaloid terdeteksi dengan pereaksi dragendroff (endapan jingga) dan Bouchardat (endapan coklat hitam), akibat pembentukan kompleks kalium-alkaloid [11]. Hasil negatif dengan pereaksi Mayer kemungkinan disebabkan oleh rendahnya kadar alkaloid tertentu yang tidak berikatan dengan ion logam dari pereaksi Mayer, namun masih dapat dideteksi oleh pereaksi Bouchardat dan Dragendroff. Berdasarkan kaidah fitokimia, suatu ekstrak dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila setidaknya 2 dari 3 pereaksi memberikan hasil positif, sehingga ekstrak daun pegagan dalam penelitian ini tetap dinyatakan positif mengandung alkaloid (2 dari 3 pereaksi positif). Tanin terdeteksi melalui perubahan warna menjadi hijau kehitaman dengan FeCl_3 , dikarenakan reaksi pembentukan senyawa kompleks antara tanin dan ion Fe^{3+} [7]. Saponin mendapatkan hasil positif yang ditandai terbentuknya busa stabil, akibat kemampuan saponin menurunkan tegangan permukaan air melalui gugus hidrofilik dan lipofiliknya [10]. Sedangkan pada steroid tidak terdeteksi karena tidak memiliki ikatan rangkap pada cincin A dari strukturnya, sehingga tidak menghasilkan perubahan warna khas dengan *Liebermann-Burchard* [10].

Perbandingan Efek Analgesik Antar Kelompok

Pengujian efek analgesik ekstrak etanol daun pegagan dilakukan menggunakan metode *Tail Flick* pada mencit (*Mus musculus*). Metode ini bekerja dengan memberikan rangsangan panas berupa radiasi inframerah pada ujung ekor mencit, lalu mencatat waktu latensi hingga mencit menarik atau menjentikkan ekornya. Semakin panjang waktu latensi, semakin besar efek analgesik yang ditunjukkan oleh perlakuan [15].

Berdasarkan hasil uji *Wilcoxon Signed Rank Test*, hanya kelompok dosis 100 mg/kgBB yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara nilai pre-test dan post-test pada menit ke-60 ($p = 0,043$), menit ke-90 ($p = 0,043$), dan menit ke-120 ($p = 0,043$). Hal ini menandakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pegagan pada dosis 100 mg/kgBB secara konsisten mampu meningkatkan ambang nyeri mencit dibandingkan kondisi awal, dengan efek yang semakin kuat seiring berjalannya waktu pengamatan.

Efek analgesik yang muncul secara bertahap dan semakin kuat pada menit ke-60 hingga ke-120 dapat dijelaskan melalui mekanisme kerja senyawa aktif dalam ekstrak. Flavonoid dan alkaloid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) sehingga menurunkan produksi prostaglandin dari asam arakidonat. Prostaglandin merupakan mediator utama yang meningkatkan sensitivitas nosiseptor terhadap rangsangan nyeri. Dengan berkurangnya produksi prostaglandin, ambang nyeri mencit meningkat secara progresif seiring akumulasi senyawa aktif dalam jaringan target [5]. Saponin triterpenoid dalam pegagan, khususnya asiaticosida, turut berkontribusi melalui penghambatan jalur lipooksigenase yang mengurangi produksi leukotrien sebagai mediator nyeri tambahan [1].

Hasil ini sejalan dengan penelitian Sari *et al.* (2025) yang menguji infusa herba pegagan menggunakan metode *writhing test*, melaporkan bahwa konsentrasi 400 dan 500 mg/kgBB memberikan efek analgesik

signifikan dengan persen efektivitas masing-masing sebesar 65% dan 77,62%. Meskipun metode pengujian dan bentuk sediaan berbeda, kedua penelitian secara konsisten membuktikan bahwa pegagan memiliki aktivitas analgesik yang nyata. Perbedaan dosis yang diperlukan untuk mencapai signifikansi (100 mg/kgBB pada penelitian ini versus 400-500 mg/kgBB pada Sari *et al.*, 2025 kemungkinan disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi: ekstrak etanol menggunakan pelarut organik yang lebih selektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dibandingkan infusa yang hanya menggunakan air, sehingga konsentrasi senyawa bioaktif per satuan berat ekstrak menjadi lebih tinggi. Kelompok kontrol positif (paracetamol 65 mg/kgBB) tidak menunjukkan perbedaan signifikan pada uji *Wilcoxon* ($p > 0,05$) di semua titik waktu pengamatan. Kondisi ini dapat disebabkan oleh variabilitas individual yang tinggi pada kelompok tersebut (SD $\pm 2,18$ pada menit ke-90), serta jumlah sampel yang terbatas ($n = 5$) yang menurunkan kekuatan statistik uji non-parametrik. Namun secara deskriptif, paracetamol menunjukkan peningkatan waktu latensi pada menit ke-30 dan ke-60, konsisten dengan mekanisme kerjanya yang mencapai kadar puncak plasma dalam 30-60 menit pasca pemberian oral.

Berdasarkan **Tabel 4**, perbandingan efek analgesik antar kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan respons analgesik pada masing-masing kelompok selama waktu pengamatan 30, 60, 90, dan 120 menit setelah perlakuan. Pengukuran dilakukan berdasarkan perubahan waktu respons nyeri (Δ post test) dan persentase perubahan ($\% \Delta$ post test) dibandingkan nilai pre test. Pada pengamatan 30 menit, kelompok dosis 100 mg/kgBB menunjukkan peningkatan respons analgesik dengan nilai Δ post test sebesar $0,89 \pm 1,60$ detik dan berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif serta dosis 150 mg/kgBB ($p < 0,05$). Kelompok dosis 200 mg/kgBB juga menunjukkan peningkatan efek analgesik sebesar $0,86 \pm 2,53$ detik dan berbeda signifikan dibandingkan dosis 150 mg/kgBB. Sementara itu, kelompok dosis 150 mg/kgBB memperlihatkan penurunan waktu latensi nyeri dengan nilai Δ post test sebesar $-1,38 \pm 2,20$ detik, yang menunjukkan tidak terjadinya efek analgesik atau terjadi hiperalgesia pada kelompok ini, dan berbeda signifikan dibandingkan kelompok dosis 200 mg/kgBB. Sejalan dengan nilai negatif tersebut, $\% \Delta$ post test dosis 150 mg/kgBB juga bernilai negatif ($-18,15 \pm 33,37\%$), yang mengonfirmasi tidak adanya efek analgesik pada menit ke-30. Dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB menunjukkan peningkatan persentase analgesik yang lebih besar dibandingkan dosis 150 mg/kgBB. Pada menit ke-60, kelompok dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB masih menunjukkan peningkatan efek analgesik masing-masing sebesar $1,35 \pm 1,07$ detik dan $1,07 \pm 2,33$ detik. Kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan dibandingkan kelompok dosis 100 mg/kgBB ($p < 0,05$).

Berdasarkan persentase perubahan, kelompok dosis 100 mg/kgBB menunjukkan peningkatan tertinggi sebesar $39,79 \pm 34,44\%$, yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 100 mg/kgBB mulai memberikan efek analgesik yang lebih stabil pada menit ke-60. Pada pengamatan 90 menit, seluruh kelompok perlakuan masih menunjukkan efek analgesik, meskipun tidak semua berbeda signifikan. Kelompok dosis 100 mg/kgBB memiliki nilai Δ post test sebesar $1,21 \pm 0,92$ detik dan $\% \Delta$ post test sebesar $38,38 \pm 35,12\%$, berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif. Sementara kelompok dosis 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB menunjukkan efek analgesik yang lebih rendah dibandingkan dosis 100 mg/kgBB pada waktu pengamatan ini. Pada menit ke-120, kelompok dosis 100 mg/kgBB menunjukkan efek analgesik paling tinggi dengan nilai Δ post test sebesar $2,27 \pm 1,08$ detik dan berbeda signifikan dibandingkan kontrol negatif. Persentase perubahan pada kelompok ini juga mencapai $63,09 \pm 28,69\%$, berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis 100 mg/kgBB memberikan efek analgesik yang paling optimal pada akhir waktu pengamatan. Kelompok dosis 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB juga mengalami peningkatan efek analgesik, namun tidak sebesar kelompok dosis 100 mg/kgBB

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica*) menunjukkan aktivitas analgesik yang signifikan pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode uji *tail flick*. Aktivitas analgesik ini dibuktikan melalui peningkatan waktu latensi respons nyeri pada kelompok perlakuan dibandingkan kondisi awal (*pre-test*), yang mengindikasikan adanya peningkatan ambang nyeri akibat pemberian ekstrak. Hasil skrining fitokimia mengonfirmasi keberadaan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang berperan dalam mekanisme analgesik melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) serta penurunan produksi prostaglandin, yang diperkuat oleh kontribusi senyawa triterpenoid seperti asiatikosida dalam menghambat jalur lipooksigenase. Di antara tiga variasi dosis yang diujikan, dosis 100 mg/kgBB menunjukkan efektivitas paling

optimal dengan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) pada menit ke-60, ke-90, dan ke-120, serta persentase perubahan ($\% \Delta$ post test) tertinggi mencapai 63,09% pada menit ke-120, yang secara signifikan lebih unggul dibandingkan kelompok kontrol positif parasetamol. Efek analgesik yang bersifat bertahap (*gradual onset*) dengan peningkatan intensitas seiring waktu pengamatan mengindikasikan adanya proses absorpsi dan distribusi senyawa aktif sebelum mencapai efek farmakologis maksimal pada menit ke-120. Dengan demikian, ekstrak etanol daun pegagan berpotensi dikembangkan sebagai alternatif analgesik herbal yang efektif, aman, dan berbasis bahan alam, sejalan dengan upaya pemanfaatan kearifan lokal dan pengobatan tradisional berbasis bukti ilmiah. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi senyawa aktif spesifik, menguji profil toksisitas, serta memperluas variasi dosis dan jumlah sampel guna memperkuat bukti ilmiah dan mendukung pengembangan sediaan farmasi berbasis ekstrak daun pegagan sebagai agen analgesik terstandar.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak memiliki kepentingan finansial yang bersaing atau hubungan pribadi yang diketahui yang dapat dianggap memengaruhi karya yang dilaporkan dalam artikel tinjauan ini.

Referensi

- [1] Astika, R. Y., Sani K, F., & Elisma. (2022). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanni*) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), 14–23. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i1.465>
- [2] Bahrudin, M. (2018). Patofisiologi Nyeri (Pain). *Saintika Medika*, 13(1), 7. <https://doi.org/10.22219/sm.v13i1.5449>
- [3] Cahyaningsih, E., & Suwarni, E. (2017). Uji Efek Analgesik Infusa Daun Kayu Putih (*Melaleuca trichostachya* Lindl.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i1.1038>
- [4] Dan, H. A., Selpia, D., Fathurrahman, M., Susilawati, M., & Pratiwi, N. (2024). Penerapan Uji *Mann-Whitney* Dalam Perbandingan Prestasi Akademik Mahasiswa Statiska Universitas. 2(1), 19–28.
- [5] Fabanyo, S. H., Hardia, L., Muslihin, A. M., & Budiyanto, A. B. (2023). Analisis Fitokimia dan Gugus Fungsi Kulit Kayu Akway (*Drymis* sp.) *Phytochemical and Fuctional Group of Akway Bark (Drymis sp.)*. *Jurnal Promotif Preventif*, 6(6), 976–982.
- [6] Indriyanti, I., Sariaty, S., & Ferina, F. (2022). Pengaruh Teknik Relaksasi Genggam Jari Terhadap Penurunan Intensitas Nyeri Pada Ibu Post Sectio Caesarea. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 2(3), 751–761. <https://doi.org/10.34011/jks.v2i3.785>
- [7] Juwita, R., Saleh, C., & Sitorus, S. (2017). Uji Aktivitas Antihiperurisemia dari Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Jurnal Atomik*, 2(1), 162–168.
- [8] Khairunnisa, S., Hakim, A. R., & Audina, M. (2022). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etanol Dari Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* [L] Urban). 3(1), 121–131. <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>
- [9] Lara, A. D., Elisma, & Sani K, F. (2021). Uji Aktivitas Analgesik Infusa Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Indonesian Journal of Pharma Science*, 3(2), 71–80. <https://onlinejournal.unja.ac.id/IJPS/article/view/15383>
- [10] Marjoni, R. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- [11] Maisarah, M., Chatri, M., & Primayani, I. R. (2023). Karakteristik dan fungsi senyawa alkaloid sebagai antifungi pada tumbuhan. *Serambi Biologi*, 10(1), 45–56.
- [12] Nafiisah, Falah Faniyah, Yoga Mulia Pratama (2021) *Anti-Inflammatory Effect of Centella asiatica (L .) Extract by Decreasing TNF- α Serum Levels in Rat Model of Traumatic Brain Injury Efek Anti-Inflamasi Ekstrak Centella asiatica (L .) pada Kadar TNF- α Serum Tikus Model Cedera Otak Traumatik*. (2021). 53(1), 63–66.
- [13] Puspita, A. L., & Susilowati, S. (2021). Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb.) dengan Metode FRAP *Antioxidant Activity of Centella asiatica (L) Urb . Leaves Fraction Using FRAP Method*. 8(2), 154–159.

- [14] Purba, N., Harianja, B. A., Akbar, K., & Harefa, K. (2022). Anti-Inflammatory Activity Test of Lime Leaf (*Citrus Aurantiifolia*) Ethanol Extract in Male Mice (*Mus Musculus*) Induced Carrageenan on 2022. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 5(1), 14–21.
- [15] Rabbani, F. F., Elsa, F. S., & Andini, A. F. (2024). Penggunaan Uji *Wilcoxon Signed Rank Test* untuk Menganalisis Pengaruh Tingkat Motivasi Belajar Sebelum dan Sesudah Diterima di Universitas Impian. 2(1), 581–587.
- [16] Rohmania, S., Budiyanto, A. B., & Astuti, R. A. (2024). Efektivitas Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida* L.) Sebagai Analgesik <http://journal.unpacti.ac.id/index.php/JPP>. 7(3), 607–616.
- [17] Sari, A. P., Hasanah, S., & Nursalman, M. (2024). Uji Normalitas dan Homogenitas dalam Analisis Statistik. 8(2012), 51329–51337.
- [18] Sari, N., Harissa, N., & Abdillah, M. H. (2025). *Sains Medisina*. 4(2), 198–203. <https://doi.org/10.63004/snsmed.v4i2.866>
- [19] Tamimi, A. A. ., De Queljoe, E., & Siampa, J. P. (2020). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon*, 9(3), 325. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.3001>