

# Uji Aktivitas Analgesik Tablet Asam 4-(Klorometil)Salisilat pada Mencit Putih dengan Metode *Writhing Test* dan *Hotplate*

Angela Tiffany<sup>1\*</sup>, Meidelin Ribka<sup>1</sup>, Kuncoro Foe<sup>1</sup>, Yudy Tjahjono<sup>1</sup>, Caroline<sup>1</sup>,  
Senny Yesery Esar<sup>1</sup>, Wuryanto Hadinugroho<sup>1</sup>

## Artikel Penelitian

**Abstract:** *Acetylsalicylic acid is an analgesic drug that still popularly used. However, acetylsalicylic acid may result undesirable side effect of gastrointestinal as it can cause gastric ulcer to bleeding. Previous research has succeeded synthesizing new compound derived from salicylic acid, namely 4-(chloromethyl)salicylic acid which has the potential to reduce its side effects with a better pharmacological effect than acetylsalicylic acid. In its development, the formulation of the compound in tablet dosage form has been carried out. However, until now there has not been a pharmacological test to determine whether it still provides a greater effect than acetylsalicylic acid after being formulated. This study is to test the analgesic activity of 4-(chloromethyl)salicylic acid tablets in albino mice using writhing test and hotplate methods. Analgesic activity test using hotplate method was carried out on albino mice which given the suspension of the tablet sample and the observations were made in a periodic of time. Analgesic activity test using writhing test method was carried out in 0.6% acetic acid-induced albino mice, where the suspension of the tablet was administered 30 minutes before administration of acetic acid. Analgesic activity was assessed by counting the number of writhing and the results were statistically compared with a one-way ANOVA. Tests were also performed on acetylsalicylic acid as a positive control and suspension as a negative control group. There were significant differences ( $P < 0.05$ ) of the analgesic activity observed among groups. Both methods show that 4-(chloromethyl)salicylic acid tablets provide stronger analgesic activity than acetylsalicylic acid.*

**Keywords:** *tablets, 4-(chloromethyl)salicylic acid, albino mice, writhing test, hotplate method*

**Abstrak:** Asam asetilsalisilat merupakan obat analgesik yang masih populer digunakan. Namun asam asetilsalisilat dapat menimbulkan efek samping tukak lambung hingga pendarahan. Penelitian terdahulu telah berhasil mensintesis senyawa baru turunan asam salisilat yaitu asam 4-(klorometil)salisilat yang dapat memberikan efek samping lebih ringan dengan efek farmakologis yang lebih baik dibandingkan asam asetilsalisilat. Dalam perkembangannya telah dilakukan pula formulasi senyawa dalam bentuk tablet. Namun sampai saat ini belum dilakukan uji aktivitas farmakologi untuk memastikan apakah setelah diformulasi masih memberikan efek analgesik yang lebih baik dari asam asetilsalisilat. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas analgesik tablet asam 4-(klorometil)salisilat pada mencit putih dengan metode *hotplate* dan *writhing test*. Uji aktivitas analgesik dilakukan dengan metode *hotplate* dilakukan pada mencit putih yang diberikan suspensi tablet uji dan pengamatan dilakukan pada rentang waktu periodik. Uji aktivitas analgesik dengan metode *writhing test* dilakukan pada mencit putih yang diinduksi asam asetat 0,6%, dimana suspensi dari tablet uji diberikan 30 menit sebelum pemberian asam asetat. Aktivitas analgesik yang diukur adalah frekuensi geliat dan hasil uji dibandingkan secara statistik dengan *one-way ANOVA*. Dilakukan pula uji pada asam asetilsalisilat sebagai kontrol positif dan pembawa suspensi sebagai kelompok kontrol negatif. Secara statistik dibuktikan bahwa adanya perbedaan bermakna ( $P < 0,05$ ) pada aktivitas analgesik antar kelompok. Sebagai kesimpulan, dari kedua metode tersebut nampak bahwa tablet asam 4-(klorometil)salisilat memberikan aktivitas analgesik yang lebih baik dibandingkan asam asetilsalisilat.

**Kata kunci:** *tablet, asam 4-(klorometil)salisilat, mencit putih, writhing test, hotplate*

<sup>1</sup> Program Studi S-1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi,  
Universitas Katolik Widya  
Mandala, Surabaya,  
Indonesia

### Korespondensi:

Angela Tiffany  
angela.tiffany00@gmail.com



## Pendahuluan

Nyeri merupakan salah satu gejala penyakit yang paling umum, dan dapat mengurangi kualitas hidup pasien. Persepsi nyeri ini merupakan suatu mekanisme awal perlindungan tubuh ketika merespons stimulus berbahaya (1). Seiring berjalannya waktu nyeri akut yang tidak diobati dengan baik dapat menjadi nyeri kronik (3). Penderita nyeri diobati dengan obat-obatan analgesik (2). Dalam meningkatkan kemampuan menahan nyeri analgetika dapat bekerja secara sentral dengan meningkatkan nilai ambang persepsi rasa sakit dan perifer dengan menghambat impuls pada daerah nyeri (4)(2). Berdasarkan mekanisme kerjanya, analgesik dibagi menjadi dua golongan yaitu analgetika narkotika dan analgetika non-narkotika (2). Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs (NSAID) adalah obat yang sering digunakan di seluruh dunia, kurang lebih 30 juta orang per hari di seluruh dunia mengkonsumsi NSAID (5).

Asam asetilsalisilat (AAS) merupakan turunan asam salisilat yang tergolong analgetika non narkotika atau NSAID yang dapat memberikan efek untuk menekan atau mengurangi peradangan dan nyeri (6)(7). Sebagai antiinflamasi dan analgesik, asam asetilsalisilat bekerja dengan menghambat prostaglandin yang dibentuk dari metabolisme asam arakidonat dengan katalisator enzim siklooksigenase (COX) (8). Efek samping dari asam asetilsalisilat yang sering terjadi adalah iritasi lambung. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Pratiwi pada tahun 2009 telah ditemukan senyawa turunan dari AAS yaitu asam 4-(klorometil)salisilat (4KM). 4KM merupakan senyawa hasil modifikasi dari asam asetilsalisilat dengan penambahan gugus 4-klorometil benzoil klorida. Senyawa 4KM memiliki aktivitas analgesik yang lebih baik dibandingkan dengan asam asetilsalisilat karena sifat lipofiliknya yang lebih besar sehingga mudah untuk menembus membran dan bereaksi dengan reseptor (9). Mempertimbangkan bahwa senyawa cukup potensial sebagai analgesik, maka telah dilakukan formulasi tablet 4KM. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik dari tablet 4KM pada mencit putih dengan metode *Hotplate* dan metode *Writhing test*.

## Bahan dan Metode

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah tablet 4KM yang dicetak sendiri, tablet AAS (PT. Bayer, Indonesia), 4-(klorometil)benzoil klorida (Sigma Aldrich, Jerman), asam salisilat (Sigma Aldrich, Jerman), piridin (Sigma Aldrich, Jerman), asam asetat glasial (Sigma Aldrich, Jerman), WFI (PT. Otsuka, Indonesia), Pulvis Gummi Arabicum (PGA), Ac-Di-Sol, sodium lauryl sulphate, neusilin, Avicel PH 102, spray-dried lactose, PVP K-30, sodium starch glycolate, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (Merck Millipore, Germany), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (Merck Millipore, Germany), etanol 70% v/v (PT. Brataco Chemika, Indonesia), Akuades (PT. Brataco Chemika, Indonesia).

### Alat

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, timbangan mencit (Lion Star, Indonesia), spuit 1 ml (Terumo, Filipina), jarum oral (feeding needle), jarum suntik 27G (Terumo, Filipina), gelas ukur (Iwaki, Jepang), gelas beaker (Iwaki, Jepang), batang pengaduk, labu takar, kertas saring Whatmann 0,45 µm dan filter holder (Millipore), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi tipe U-1900, Jepang), pH meter (Metrohm 620, Swiss), mikropipet, chamber dan plat kromatografi lapis tipis, dan alat pendukung lainnya.

### Metode

#### *Uji Kemurnian Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis*

Pemeriksaan Kromatografi lapis tipis dilakukan dengan menotolkan senyawa pada fase diam silica gel F254 menggunakan tiga macam fase gerak etil asetat : etanol (2:1, v/v), kloroform : etanol (4:1, v/v), dan n-heksana : etanol (1:2, v/v).

#### *Preparasi dan Pengujian Tablet 4KM*

Tablet 4KM dibuat dengan dosis 300 mg per tablet. Bahan aktif dimasukkan ke dalam mortir secara bersamaan dengan neusilin pada perbandingan 1 : 0,25 (b/b) dan selanjutnya dihomogenkan. Ac-Di-Sol, Sodium lauryl sulphate, Avicel PH-102, dan Spray dried lactose dimasukkan ke dalam mortir dan dicampur hingga homogen. Setelah massa tablet yang dihasilkan telah homogen, ditetapkan waktu alir

dan *Hausner ratio* dari massa tablet. Pembuatan tablet dilakukan dengan mesin kempa tablet *single punch*. Mutu fisik tablet yang diuji meliputi uji keragaman bobot, kekerasan, dan waktu hancur tablet.

#### *Penetapan Kadar Tablet 4KM*

Kurva kalibrasi senyawa 4KM dalam dapar fosfat pH 6,8 dibuat pada seri konsentrasi 5, 10, 20, 30, 40 µg/mL. Spektrum UV dari larutan baku kerja 3 atau larutan baku senyawa 4KM pada konsentrasi tengah diamati menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 200-400 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum senyawa. Serapan larutan tersebut kemudian ditentukan pada panjang gelombang maksimum. Kadar bahan aktif dalam tablet dilakukan dengan mengambil 10 tablet secara acak, kemudian digerus halus hingga menjadi serbuk. Timbang sebanyak 80 mg serbuk sampel lalu ditambahkan 25 ml etanol p.a., dikocok hingga homogen, lalu disaring. Hasil saringan dipipet sebanyak 0,1 ml dan diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 6,8 hingga batas tanda di dalam labu takar 5 ml, serta dikocok hingga homogen, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum masing-masing senyawa.

#### *Penetapan Profil Disolusi Tablet 4KM*

Pengukuran profil disolusi menggunakan apparatus I USP, sebagai mediumnya adalah dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 900 mL. Suhu medium disolusi dijaga konstan pada  $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$  dan alat disolusi dioperasikan dengan kecepatan pengadukan 150 rpm. Cuplikan sampel sebanyak 5 mL disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman 0,45 µm dan *filter holder*, yang selanjutnya dianalisis dengan metode spektrofotometri UV untuk penetapan jumlah senyawa 4KM yang terlarut. pada menit ke 10, 20, 30, 45, dan 60. Setiap kali pengambilan sampel, diganti dengan larutan medium yang baru sebanyak 5 ml.

#### *Perlakuan Hewan Coba*

Mencit putih jantan (usia 2-3 bulan, dengan berat badan 20-25 gram) diadaptasikan selama 7 hari pada suhu  $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$ . Mencit diberi makan pellet BR-2 dan minum air matang *ad libitum*. Hewan coba dipuasakan semalaman sebelum diberi

perlakuan. Sebanyak 24 mencit dikelompokkan kedalam 4 kelompok perlakuan: kontrol negatif, kelompok uji kelompok uji tablet 4KM, dan kelompok pembanding AAS. Pengujian efek analgesik pada penelitian ini menggunakan metode *Hotplate* dan *Writhing test*.

Kelompok kontrol negatif, diberikan campuran tablet plasebo dan larutan PGA 3%. Kelompok perlakuan diberikan tablet 4KM masing-masing pada dosis 1,23 mg/20 g BB, dan pemberian tablet AAS pada dosis 2,05 mg/20 g BB sebagai kelompok kontrol positif (pembanding).

#### *Uji Aktivitas Analgesik Tablet 4KM*

Metode *Hotplate* dilakukan untuk menguji aktivitas obat analgesik secara sentral. Metode ini dilakukan 10 menit setelah senyawa diberikan pada hewan coba. Mencit diletakkan pada *Hotplate* untuk menginduksi nyeri pada suhu  $50-55^{\circ} \text{C}$ . *Cut off time* yang diberikan pada adalah 15 detik. Pengamatan dilakukan selama 60 menit, masing-masing pada waktu ke-10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit setelah pemberian suspensi. Indikator yang digunakan pada uji ini adalah respon kaki belakang mencit (10).

Metode *Writhing test* dilakukan untuk menguji aktivitas obat analgesik perifer mengurangi atau mencegah geliatan pada mencit setelah diinduksi larutan asam asetat (11). Metode ini dilakukan dengan memberikan suspensi uji pada setiap hewan coba diberikan secara per oral. 30 menit setelah pemberian sampel, mencit diinduksi dengan injeksi intraperitoneal asam asetat 0,6% volume 0,01 ml/g BB, kemudian jumlah geliat mulai diamati dan dihitung 5 menit setelahnya. Frekuensi geliat diukur selama 10 menit. Geliat ditandai dengan respon berupa refleks peregangan dan ekstensi kaki belakang kaki mencit.

#### *Analisa Data*

Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik menggunakan program komputer SPSS versi 25 for Windows. Analisa secara statistik hasil masing-masing kelompok dilakukan dengan menggunakan metode *one-way ANOVA*. Apabila terdapat perbedaan bermakna, analisis data dilanjutkan dengan metode *post-hoc Tukey* untuk melihat apakah terdapat perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) pada frekuensi geliat mencit antara

kelompok kontrol negatif, kelompok uji 4KM, dan kelompok pembanding AAS.

## Hasil dan Diskusi

### Hasil Uji Kemurnian Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis

Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis dinyatakan dengan membandingkan nilai faktor retardasi ( $R_f$ ) dari senyawa 4KM dengan senyawa penyusunnya menggunakan tiga macam fase gerak yang ditunjukkan pada **Tabel 1**. Hasil uji KLT pada **Gambar 1** menunjukkan bahwa noda yang terbentuk adalah noda tunggal dan nilai  $R_f$  senyawa 4KM tidak sama dengan nilai  $R_f$  asam salisilat dan prekursor 4-(klorometil)benzoil klorida. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa 4KM merupakan zat murni.

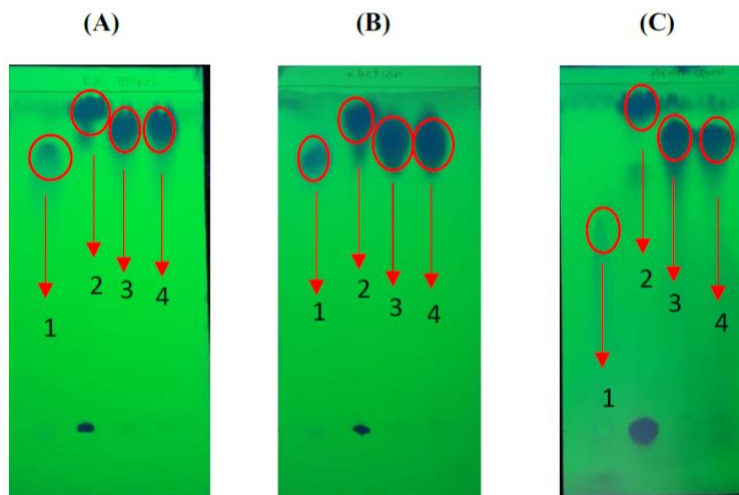
### Hasil Uji Tablet 4KM

Hasil uji mutu fisik massa tablet meliputi kecepatan alir dan *Hausner ratio*. Kecepatan alir massa tablet 4KM yaitu 10,59 g/detik sehingga memenuhi syarat karena kecepatan alir  $\geq 10$  g/detik. Hasil uji *Hausner ratio* massa tablet 4KM adalah  $1,18 \pm 0,00$  menandakan hasil uji memenuhi spesifikasi, yaitu tidak lebih dari 1,25. Nilai *Hausner ratio* diperoleh melalui perbandingan antara bobot jenis mampat dengan bobot jenis ruahan (12).

Hasil uji mutu fisik tablet meliputi uji keragaman bobot, kekerasan, dan waktu hancur tablet. Uji keragaman bobot yang diperoleh menunjukkan Nilai Penerimaan (NP) tablet adalah 0,19 sehingga memenuhi persyaratan menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2020) yaitu  $NP \leq 15$ .

**Tabel 1.** Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis senyawa 4KM dengan berbagai macam fase gerak

Fase Gerak	Nilai $R_f$			
	Asam Salisilat (a)	4-(klorometil) benzoil klorida (b)	Asam 4-(klorometil) salisilat (c)	Asam 4-(klorometil) salisilat terdahulu (d)
Etil asetat : etanol (2:1 v/v)	0,61	0,90	0,85	0,86
n-Heksana : etanol (1:2 v/v)	0,78	0,91	0,81	0,82
Kloroform : etanol (4:1 v/v)	0,50	0,96	0,86	0,85



**Gambar 1.** Hasil Hasil Kromatografi Lapis Tipis dengan Fase Gerak Etil Asetat : Etanol ( 2 : 1 v/v ) (A), n-heksan : Etanol ( 2 : 1 v/v ) (B) dan Kloroform : Etanol (4 : 1 v/v ) (C) (Keterangan : 1. Asam Salisilat; 2. 4-klorometil benzoil klorida; 3. Asam 4-(klorometil)salisilat; 4. Asam 4-(klorometil)salisilat terdahulu)



Hasil uji kekerasan tablet yang diperoleh menunjukkan bahwa kekerasan rata-rata tablet adalah 6,5 Kp sehingga memenuhi kriteria mutu tablet yang baik menurut Hadisoewignyo dan Fudholi (2016) yaitu antara 4-8 Kp. Hasil pengamatan waktu hancur tablet yang diperoleh adalah 34,95 detik, sehingga hasil uji memenuhi kriteria menurut Rudnic and Schwartz (2005) yaitu kurang dari 30 menit.

### Hasil Uji Penetapan Kadar Tablet

Panjang gelombang serapan maksimum atau  $\lambda$  maks yang teramati pada senyawa 4KM adalah 242 nm. Kurva baku digunakan untuk menghitung kadar bahan aktif dalam tablet diperoleh dengan cara membuat larutan serbuk 4KM dalam dapar fosfat dengan lima macam konsentrasi yang kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dari hasil tersebut dilakukan perhitungan dan didapatkan persamaan regresi  $y = 0,6691 + 0,5666x$  dengan nilai korelasi  $r = 0,9991$ . Hasil pengujian kadar bahan aktif senyawa 4KM pada tablet adalah 99,31%. Dari persyaratan kadar tablet asam asetil salisilat yang tertera dalam Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2020, kadar bahan aktif dalam tablet tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%.

### Hasil Uji Disolusi Tablet

Jumlah zat aktif terlarut tablet 4KM adalah 86,51% sehingga memenuhi kriteria penerimaan menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2020), yaitu jumlah zat aktif terlarut tidak kurang dari 80%. Hasil konstanta laju

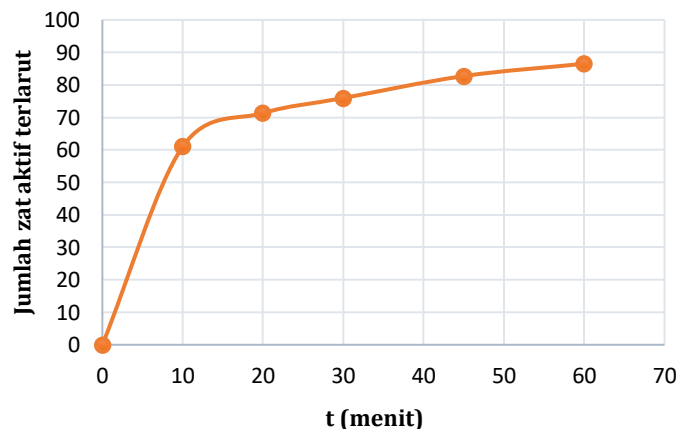
disolusi dan persen efisiensi disolusi (%ED) tablet 4KM adalah  $0,05 \pm 0,01$  dan  $80,18 \pm 1,11\%$ . Jumlah zat aktif tablet 4KM yang terlarut pada setiap menit dapat dilihat pada **Gambar 2**.

### Hasil Uji Aktivitas Analgesik Tablet

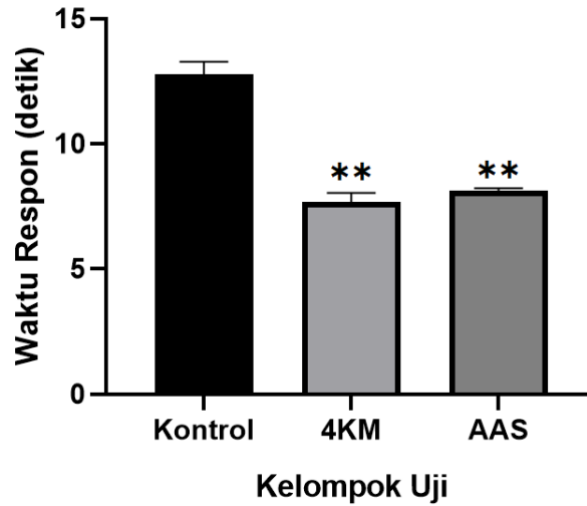
Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok yaitu kontrol negatif (plasebo), tablet uji 4KM, dan pembanding AAS. Dosis tablet 4KM yang digunakan sebagai analgesik adalah 300 mg/60 kg BB, sedangkan dosis AAS yang digunakan adalah 500 mg/60 kg BB (Kanani et.al., 2015). Aktivitas analgesik diuji dengan menggunakan metode *Hotplate* dan *writhing test*.

Pada metode *Hotplate*, induksi diberikan menggunakan plat panas dengan suhu yang diatur pada rentang 50-55° C. Setelah pemberian suspensi, mencit dидiamkan selama 10 menit sebelum dilakukan pengujian aktivitas. Uji akan dilakukan selama 60 menit dengan waktu pengamatan respon pada kaki belakang mencit setiap 10 menit. Kelompok plasebo menunjukkan waktu respon yang terbesar dibandingkan dengan kelompok 4KM dan AAS ( $P < 0,05$ ). Persentase hambatan nyeri pada kelompok 4KM (40,62%) lebih besar dibandingkan kelompok AAS (36,60%) (**Gambar 3**).

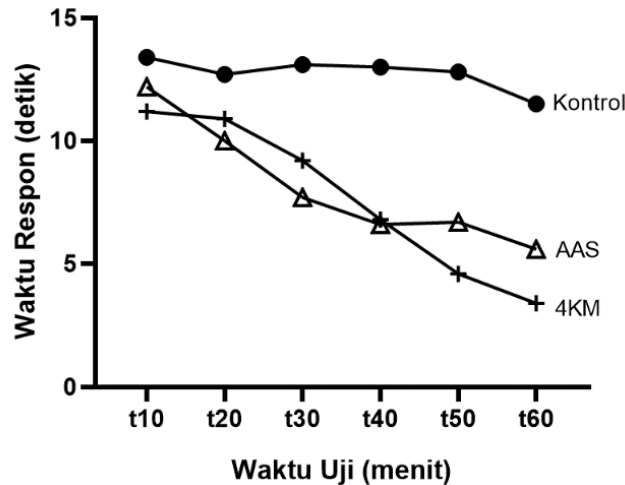
Pada metode *Writhing test*, mencit diberi induksi dengan larutan asam asetat 0,6% pada setiap kelompok. Selanjutnya respon berupa frekuensi geliat mencit diamati selama 10 menit dan frekuensi geliat dari masing-masing kelompok percobaan dibandingkan (**Gambar 5**).



**Gambar 2.** Profil pelepasan tablet 4KM



**Gambar 3.** Perbandingan waktu respon kelompok kontrol, 4KM, dan AAS. Tanda (\*\*) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok uji.



**Gambar 4.** Perbandingan waktu respon kelompok kontrol, 4KM, dan AAS pada waktu 10, 20,30, 40, 50, dan 60 menit setelah pemberian senyawa uji.

Kelompok plasebo menunjukkan frekuensi geliat mencit yang tertinggi. Kelompok 4KM, dan AAS menunjukkan penurunan frekuensi geliat ( $P < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok plasebo. Kelompok uji 4KM (32,22) memberikan frekuensi geliat yang lebih sedikit daripada kelompok AAS (52,83).

**Pembahasan**

Berdasarkan pada hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) melalui proses eluasi dengan menggunakan tiga fase gerak yang berbeda, senyawa asam 4KM yang digunakan pada penelitian ini adalah murni, sebagaimana ditunjukkan dengan noda tunggal pada plat KLT.

Nilai Rf dari senyawa 4KM berbeda dengan nilai Rf senyawa asam salisilat, dan 4-(klorometil) benzoil klorida.

Senyawa 4KM yang telah terbukti murni tersebut diformulasi menjadi bentuk sediaan tablet. Sebelum massa tablet dikempa menjadi tablet, dilakukan pengujian mutu fisik massa tablet. Nilai kecepatan alir dan Hausner ratio dari massa tablet 4KM memenuhi spesifikasi mutu fisik, sehingga proses tabletasi dari massa tablet dapat dilakukan. Selanjutnya, mutu fisik tablet 4KM yang mencakup uji keragaman bobot, kekerasan, dan waktu hancur tablet dilakukan. Pada penelitian ini metode keseragaman sediaan yang digunakan adalah keragaman bobot, karena

tablet 4KM merupakan tablet tidak bersalut dengan dosis  $\geq 25$  mg dan perbandingan zat aktif  $\geq 25\%$  dari bobot tablet (16). Keragaman bobot tablet 4KM memenuhi spesifikasi, sebagaimana terlihat dari nilai NP yang lebih kecil dari 15%. Tablet 4KM memenuhi spesifikasi uji kekerasan tablet karena nilai kekerasan tablet berada di dalam rentang 4-8 Kp. Kekuatan tablet dipengaruhi oleh tekanan kompresi dan sifat bahan yang dikempa, karena tablet dibuat dengan metode cetak langsung (14). Waktu hancur tablet 4KM juga memenuhi spesifikasi yang baik, karena tablet dapat hancur dalam waktu kurang dari 30 menit (15).

Kadar bahan aktif dalam tablet 4KM yang dihasilkan memenuhi spesifikasi. Kadar bahan aktif yang tidak sesuai dengan spesifikasi dapat mempengaruhi efek terapeutik dari obat. Kandungan bahan aktif yang terlalu besar dapat mengakibatkan over dosis, dan jika terlalu kecil maka efek terapi obat yang dikonsumsi tidak akan maksimal (16). Pada uji disolusi tablet 4KM yang dilakukan selama 60 menit, tablet juga telah memenuhi spesifikasi karena persentase zat aktif yang terlarut lebih dari 80% (17). Hasil uji ini berkaitan erat dengan nilai waktu hancur tablet yang cepat. Tablet yang hancur membentuk fragmen yang lebih halus, dapat meningkatkan disolusi obat karena luas permukaan total fragmen tablet yang meningkat secara nyata dan terpapar dengan medium disolusi (20).

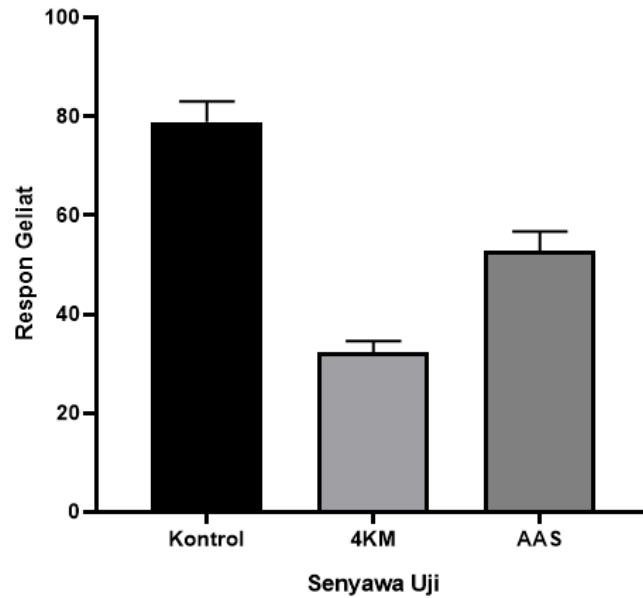
Efek analgesik dari tablet 4KM diuji secara *in vivo* dengan metode *Hotplate* dan *Writhing test*. Metode *Hotplate* dilakukan dengan memberikan induksi nyeri melalui panas. Induksi pada kaki bagian belakang dapat mengaktifkan jalur sinyal nyeri supraspinal yang terjadi pada sistem saraf pusat (10)(21). *Periaqueductal gray* (PAG) merupakan suatu bagian pada otak yang memainkan peran penting pada fungsi autonomus dan respon perilaku terhadap ancaman (28)(29). Neuron PAG akan memproyeksikan aksornya yang terletak pada LC (*Locus Coeruleus*) dan RVM (*Rostral Ventromedial Medulla*) menuju *dorsal horn spinal* sehingga terjadi proses nyeri (22). Membandingkan hasil uji aktivitas pada 3 kelompok uji dimana terjadi penurunan waktu mencit merespon pada

kelompok 4KM dan AAS menunjukkan adanya aktivitas analgesik pada tablet serta tidak ada pengaruh dari bahan tambahan tablet.

Pada metode *Hotplate*, persentase hambatan nyeri dihitung berdasarkan waktu respon mencit dimana kelompok 4KM memiliki persentase sebesar 40,62% dan AAS sebesar 36,60%. Hasil persentase hambatan nyeri ini sesuai dengan waktu respon mencit pada kelompok uji 4KM yang lebih kecil dibandingkan AAS (**Gambar 3, Gambar 4**).

Pada metode *Writhing test* dilakukan pemberian asam asetat sebagai induktor nyeri secara intraperitoneal yang dapat memproduksi respon inflamasi lokal yang melibatkan reseptor peritoneum lokal yang dimediasi oleh pelepasan asam arakidonat bebas dari fosfolipid jaringan. Enzim siklooksigenase (COX) akan mensintesis asam arakidonat menjadi prostaglandin, khususnya prostaglandin E2 (PGE2) yang sensitif terhadap obat NSAID (22)(23)(24)(25). Adanya persinyalan PGE2 yang bekerja pada neuron sensorik perifer di dalam medula spinalis akan menghasilkan nyeri (27). Dari data frekuensi geliat yang diperoleh, terlihat bahwa kelompok uji selalu memiliki frekuensi geliat yang paling rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menandakan bahwa senyawa 4KM dan AAS yang diformulasi dalam bentuk tablet tetap menunjukkan aktivitas analgesik yang baik, dan efektivitas senyawa bahan aktif tidak terlalu dipengaruhi oleh bahan tambahan dalam proses pembuatan tablet.

Pada metode *Writhing test*, nilai persentase hambatan nyeri pada kelompok uji dihitung dari data frekuensi geliat pada mencit, yang mana kelompok uji tablet 4KM dan AAS berturut-turut sebesar 58,99%, dan 32,98%. Nilai persentase hambatan nyeri yang ditunjukkan oleh tablet 4KM adalah lebih besar daripada tablet AAS. Hal ini sejalan dengan frekuensi geliat yang teramati pada mencit, yaitu kelompok 4KM menunjukkan frekuensi geliat yang lebih rendah daripada kelompok AAS (**Gambar 5**). Berdasarkan hasil uji aktivitas analgesik dengan kedua metode tersebut, terlihat tablet 4KM memiliki aktivitas analgesik yang lebih kuat daripada AAS..



**Gambar 5.** Hasil frekuensi geliat pada mencit. Perbandingan frekuensi geliat pada masing-masing kelompok uji (plasebo, tablet 4KM, dan tablet AAS). Tanda (\*), (\*\*), menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok uji.

Hal ini mendukung teori bahwa sifat lipofilik yang lebih tinggi pada senyawa turunan daripada AAS meningkatkan kemampuan senyawa untuk menembus membran sehingga jumlah senyawa yang dapat berinteraksi dengan reseptor akan meningkat (9)

### Kesimpulan

Penelitian ini melaporkan bahwa tablet 4-(klorometil)salisilat memiliki aktivitas analgesik dan menunjukkan aktivitas analgesik yang lebih tinggi dibandingkan tablet asam asetilsalisilat.

### Ucapan Terima Kasih

Artikel ini telah dipaparkan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia tahun 2022. Peneliti juga ingin memberi ucapan terima kasih kepada LPPM Unika Widya Mandala Surabaya dan Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya atas bantuan pendanaan.

### Referensi

1. Swieboda P, Filip R, Prystupa A, Drozd M. Assessment of Pain: Types, Mechanism, and Treatment. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2013;1:2-7.
2. Lee MC, Abrahams M. Pain and Analgesic. In

Bennet PN, Brown MJ, Sharma P, editors. *Clinical Pharmacology*. 11th ed. London: Churchill Livingstone; c2012. p. 278-294.

3. Voscopoulos C, Lema M. When Does Acute Pain Become Chronic. *British Journal of Anaesthesia*. 2010;105:69-85.
4. Shreedhara C, Vaidya V, Vagdevi H, Latha K, Muralikrishna K, Krupanidhi A. Screening of *Bauhinia purpurea* Linn. for Analgesic and Anti-inflammatory Activities. *Indian Journal of Pharmacology*. 2009;41(2): 75-79.
5. Bhala N, Emberson J, Merhi A, Abramson S, Arber N, Baron JA, Bombardier C, Cannon C, Farkouh ME, FitzGerald GA, Goss P, Halls H, Hawk E, Hawkey C, Hennekens C, Hochberg M, Holland LE, Kearney PM, Laine L, Lanus A, Lance P, Laupacis A, Oates J, Patrono C, Schnitzer TJ, Solomon S, Tugwell P, Wilson K, Wittes J, Baigent C. Vascular and Upper Gastrointestinal Effects of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Meta-analyses of Individual Participant Data from Randomised Trials, *Lancet*. 2013;382(9894):769-779.
6. Vane JR, Botting RM. The Mechanism of Action of Aspirin. *Thrombosis Research*.



- 2003;110:255-258.
7. Cadavid AP. Aspirin: The Mechanism of Action Revisited in the Context of Pregnancy Complications. *Frontiers in Immunology*. 2017;8(261):1-8.
  8. Vane JR, Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature New Biology*. 1971;231(25):232-235.
  9. Tamayanti WD, Widharma RM, Caroline, Soekarjo B. Uji Aktivitas Analgesik Asam 2-(3-(Klorometil)benzoioksi)benzoat dan Asam 2-(4-(Klorometil)benzoioksi) benzoat pada Tikus Wistar Jantan dengan Metode Plantar Test. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2016;13(1):15-22.
  10. Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviours in Rodents. *Frontiers in Molecular Biology*. 2017;10(284): 1-17.
  11. Yimer T, Birru EM, Adugna M, Geta M, Emiru YK. Evaluation of Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of 80% Methanol Root Extract of *Echinops kebericho* M. (Asteraceae). *Journal of Inflammation Research*. 2020;13: 647-658.
  12. USP Convention. 2012. United States Pharmacopoeia-National Formulary. USP30-NF25. United States: Rockville.
  13. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
  14. Hadisoewignyo L, Fudholi A. 2016. *Sediaan Solida Edisi Revisi*. Jakarta: Pustaka Pelajar.
  15. Rudnic E, Schwartz J. Oral Solid Dosage Forms. In Troy D, editors. 2005. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 889-928.
  16. Chaudary J, Jain A, and Saini A. Simultaneous Estimation of Multicomponent Formulation UV-Visible Spectroscopy: An Overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 2011; 2(12): 81-83.
  17. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia. Edisi V*. 2020. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
  18. Zhao J, Koo O, Pan D, Wu Y, Morkhade D, Rana S, Saha P, Marin A. The Impact of Disintegrant Type, Surfactant, and API Properties on the Processability and Performance of Roller Compacted Formulations of Acetaminophen and Aspirin. *The AAPS Journal*. 2017;19(5), 1387-1395.
  19. Chaudary J, Jain A, Saini A. Simultaneous Estimation of Multicomponent Formulation UV-Visible Spectroscopy: An Overview. *International Research Journal of Pharmacy*. 2011;2(12): 81-83.
  20. Zhao N, Augsburg LL. Functionality Comparison of 3 Classes of Superdisintegrants in Promoting Aspirin Tablet Disintegration and Dissolution. *AAPS Pharmscitech*. 2005;6(4):E634-E640.
  21. Vaello PB, Castany S, Homs J, Perez, BA, Deulofeu M, Verdu E. Neuroplasticity of Ascending and Descending Pathways After Somatosensory System Injury: Reviewing Knowledge to Identify Neuropathic Pain Therapeutic Targets. *Spinal Cord*. 2016;54:330-340.
  22. Collier HOJ, Dinneen LC, Johnshon CA, Schneider C. The Abdominal Constriction Response and Its Suppresion by Analgesic Drugs in the Mouse. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. 1968;32(2): 295-310.
  23. Duarte ID, Nakamura M, Ferreira SH. Participation of the Sympathetic System in Acetic Acid-Induced Writhing in Mice. *Brazillian Journal of Medical and Biological Research*. 1988;21(2): 341-343.
  24. Khan H, Saeed M, Gilani AUH, Khan MA, Dar A, Khan I. The Antinociceptive Activity of *Polygonatum verticillatum* Rhizomes in Pain Models. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010;127(2): 521-527.
  25. Kumar T, Jain V. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Bridelia retusa* Methanolic Fruit Extract in Experimental Animals. *The Scientific World Journal*. 2014;2014: 1-12.
  26. Niu X, Li Y, Li W, Hu H, Yao H, Li H, Mu Q. The Anti-inflammatory Effects of *Caragana tangutica* Ethyl Acetate Extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014;152(1): 99-105.

27. Funk CD. Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology. *Science*. 2001;294(5548): 1871-1875.
28. Deng H, Xiao X, Wang Z. Periaqueductal Gray Neuronal Activities Underlie Different Aspects of Defensive Behaviors. *The Journal of Neuroscience*. 2016;36(29):7580-7588.
29. Faull OK, Subramanian HH, Ezra M, Pattinson KTS. The Midbrain Periaqueductal Gray as an Integrative and Interoceptive Neural Structure for Breathing. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2019;98:135-144.