

UJI AKTIVITAS ANALGETIK KITOSAN DARI CANGKANG YUTUK (*Emerita sp.*) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI ASAM ASETAT 1%

TEST OF ANALGETIC ACTIVITY OF CHITOSAN FROM MOLE CRAB (*Emerita sp.*) SHELL IN MALE WHITE MICE (*Mus musculus*) WHICH INDUCED 1% ACETIC ACID

Syifa Churrohmah¹, Laeli Fitriyati^{1*}, Muhammad Husnul Khuluq¹, Naelaz Zukhruf Wakhidatul Kiromah¹

ARTICLE INFO

Submitted: 18-09-2023

Revised: 31-05-2024

Accepted: 21-06-2024

¹Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gombong, Kebumen

*Laeli Fitriyati

Email: laeli.fitriyati.lf@gmail.com

ABSTRAK

Nyeri adalah perasaan dan pengalaman emosional yang tidak menyenangkan akibat adanya kerusakan jaringan. Cangkang yutuk (*Emerita sp.*) mengandung senyawa kitosan yang memiliki manfaat dalam pengobatan salah satunya adalah nyeri. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan subjek penelitian berupa 35 ekor mencit putih jantan. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok kitosan 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB. Penginduksi nyeri yang diberikan adalah asam asetat 1%. Pengamatan dilakukan dengan mengamati geliat mencit yang merupakan respon rasa nyeri. Geliat mencit diamati dan dihitung persen proteksi nyerinya. Data yang diperoleh kemudian diuji statistik *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Games-Howell*. Kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) pada dosis 50, 100, 150, 200 dan 250 mg/kgBB memiliki efek analgetik pada mencit putih jantan dengan hasil persen proteksi berturut-turut sebesar 56,20%, 58,85%, 79,42%, 86,78% dan 88,85% serta memberikan efek yang signifikan ($p < 0,05$) pada mencit yang diinduksi asam asetat. Dosis kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) 250 mg/kgBB memiliki efek analgetik terbaik dengan persen proteksi sebesar 88,85% pada mencit putih jantan dan dinyatakan signifikan dengan nilai $p < 0,05$.

Kata Kunci: Analgetik, kitosan, cangkang yutuk

ABSTRACT

Pain is an unpleasant feeling and emotional experience resulting from tissue damage. Mole crab (*Emerita sp.*) shell contains chitosan compounds which have benefits in treatment, one of which is pain. This study was an experimental study with 35 male white mice as subjects. The test animals were divided into 7 treatment groups, namely negative control, positive control and the chitosan group 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg, 200 mg/kg and 250 mg/kg. The pain inducer given was 1% acetic acid. Observations were made by observing the writhing of mice which is a response to pain. The mice's movements were observed and the percentage of pain protection was calculated. The data obtained was then tested using One Way ANOVA and Post Hoc Games-Howell statistics. Chitosan from mole crab shells (*Emerita sp.*) at doses of 50, 100, 150, 200 and 250 mg/kg BW had an analgesic effect on male white mice with a yield of 56.20%, 58.85%, 79%, respectively. 42%, 86.78% and 88.85% and gave a significant effect ($p < 0.05$) in acetic acid-induced mice. The dose of chitosan from mole crab shell (*Emerita sp.*) 250 mg/kg has the best analgesic effect with a protection percentage of 88.85% in male white mice and is significant with a p value < 0.05 .

Keyword: Analgesic, chitosan, mole crab shell (*Emerita sp.*)

1. PENDAHULUAN

Nyeri merupakan fenomena emosional dan psikologis yang menimbulkan rasa tidak nyaman berhubungan dengan kerusakan jaringan bahkan berpotensi mengakibatkan kerusakan jaringan (Kurniawan, 2015). Pada umumnya berbagai penyakit dapat menimbulkan rasa nyeri. Rasa sakit yang ditandai dengan adanya nyeri dapat mengindikasikan adanya peradangan (rematik, asam urat), infeksi kuman atau kejang otot. Nyeri terjadi akibat adanya rangsangan mekanik atau kimia yang dapat merusak jaringan dan melepaskan beberapa zat disebut mediator (perantara) nyeri seperti bradikinin, serotonin, histamin dan prostaglandin (Suwondo *et al.*, 2017).

Nyeri dapat diatasi dengan obat penghilang rasa nyeri atau analgetik. Analgetik merupakan bahan atau obat yang digunakan untuk menekan atau mengurangi rasa sakit (nyeri) tanpa menyebabkan hilangnya kesadaran (Noviani & Nurilawati, 2017). Berbagai jenis analgetik yang dapat diberikan pada penderita nyeri yaitu analgetik non-opioid, analgetik ajuvan, dan analgetik opioid. Penggunaan obat kimiawi dinilai kurang memuaskan dari segi efek samping seperti sakit perut, mual, muntah, sembelit dan keracunan (Tjay & Rahardja, 2015). Alternatif lain yang dapat digunakan untuk mengatasi efek samping karena penggunaan analgetik opioid dan non-opioid adalah dengan obat herbal (Hasan *et al.*, 2015).

Indonesia merupakan negara maritim dengan sumber kekayaan biota pantai dan laut yang sangat melimpah. Yutuk (*Emerita sp.*) merupakan salah satu jenis udang-udangan (*Crustaceae*) berbentuk oval yang terkenal di masyarakat pesisir selatan pulau Jawa yang tersebar diberbagai daerah dengan nama lokal yang berbeda-beda. Sebaran hewan yutuk (*Emerita sp.*) di pesisir selatan provinsi Jawa Tengah paling banyak terutama di Kabupaten Cilacap dan Kebumen (Muzammil *et al.*, 2015). Yutuk (*Emerita sp.*) yang banyak ditemukan di pesisir belum dimanfaatkan secara maksimal oleh masyarakat. Sejauh ini masyarakat pesisir di Kebumen memanfaatkan yutuk (*Emerita sp.*) sebagai umpan pancing dan diolah dalam bentuk “peyek yutuk” sebagai oleh-oleh khas masyarakat pesisir (Desi *et al.*, 2020). Yutuk (*Emerita sp.*) mempunyai nilai ekonomi yang tinggi bagi lima komponen masyarakat di wilayah pesisir Kabupaten Kebumen, yaitu kelompok penangkap (nelayan), pengumpul, pengolah, pedagang, dan konsumen (Bhagawati *et al.*, 2016). Potensi ekonomi dari penjualan yutuk di Kabupaten Kebumen mencapai Rp. 5.720.000 (Mahsar & Wardiatno, 2016).

Yutuk (*Emerita sp.*) memiliki kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan dan memiliki berbagai aktivitas farmakologi (Song *et al.*, 2021). Yutuk (*Emerita sp.*) diketahui mengandung senyawa kitin dan kitosan dengan kualitas yang sangat baik. Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang isolasi kadar kitin dan kitosan menunjukkan bahwa kualitas kitosan dari yutuk tergolong sangat baik dibandingkan dengan beberapa jenis *Crustaceae* lain seperti udang, lobster, dan beberapa jenis kepiting dengan kadar kitin sebesar 66,4% dan kitosan sebesar 94,3% (Wittriansyah *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang uji analgetik kitosan dari cangkang udang dengan kualitas kitosan sebesar 54,9% yang dilakukan oleh (Putri & Darmawan, 2022) menunjukkan hasil bahwa kitosan dari cangkang udang memiliki potensi analgetik paling besar dibandingkan natrium diklofenak pada dosis 100 mg/kgBB pada tikus arthritis yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) dengan hasil persentase sebesar 35,29%. Kandungan pada yutuk (*Emerita sp.*) yang berpotensi sebagai analgetik adalah senyawa kitosannya karena kitosan memiliki struktur mirip glukosamin yang memiliki aktivitas analgetik dengan mekanisme kerja menurunkan produksi enzim siklooksigenase sehingga terjadi pengurangan prostaglandin sebagai mediator nyeri di jalur asam arakidonat yang akan mencegah terbentuknya radang sehingga dapat mengurangi timbulnya rasa nyeri (Putri & Darmawan, 2022).

Metode uji analgetik yang digunakan adalah metode rangsang kimia. Metode rangsang kimia merupakan metode yang menggunakan zat kimia yang diinduksikan pada hewan uji. Parameter yang diamati pada metode ini yaitu parameter yang diamati adalah total waktu yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekor. Penelitian tentang pemanfaatan kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) sebagai analgetik belum pernah dilakukan. Berdasarkan prevalensi tingginya kualitas kitosan dari yutuk dan adanya potensi hewan yutuk (*Emerita sp.*) sebagai analgetik alami, sehingga peneliti akan melakukan penelitian aktivitas analgetik kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur swiss yang diinduksi asam asetat 1%.

2. METODE

Alat

Blender (*Philips*), erlenmeyer (*Iwaki pyrex*), batang pengaduk, beaker glass (*Iwaki pyrex*), gelas ukur (*Iwaki pyrex*), tabung reaksi (*Iwaki pyrex*), ayakan 100 mesh, cawan porselen, bejana kaca, corong kaca, labu ukur (*Iwaki pyrex*), pipet tetes, timbangan analitik (*Biobase*), FTIR (ATR), *magnetic stirrer*, oven, timbangan menciit, kandang hewan, botol minum menciit, tempat pakan menciit, kain hitam, spuit injeksi i.p, spuit injeksi oral, jarum sonde, *stopwatch*, *counter*, alat tulis, laptop, serta kamera untuk proses dokumentasi.

Bahan

Cangkang yutuk (*Emerita sp.*), hewan uji menciit putih jantan (*Mus musculus*) galur swiss sebanyak 35 ekor, glukosamin (*Medikon*), CMC-Na (*Sigma Aldrich*), asam asetat glasial (*Merck*), HCl (*Merck*), NaOH (*Merck*), akuades, pakan standar, kertas label, kertas saring, *handscoon*, *aluminium foil* dan tisu.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia Cangkang Yutuk (*Emerita sp.*)

Sampel pada penelitian ini yaitu cangkang yutuk (*Emerita sp.*). Yutuk diperoleh di pesisir pantai selatan daerah Kebumen. Sebanyak 1000gram cangkang yutuk (*Emerita sp.*) yang diperoleh dicuci sampai bersih untuk menghilangkan kotoran. Cangkang yutuk (*Emerita sp.*) selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari langsung. Cangkang yutuk (*Emerita sp.*) yang sudah kering kemudian dihancurkan dengan blender sampai diperoleh serbuk halus dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*). Serbuk halus cangkang yutuk (*Emerita sp.*) yang dihasilkan kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 100 *mesh* untuk mendapatkan partikel yang seragam (Wittriansyah *et al.*, 2018).

Pembuatan Kitosan Cangkang Yutuk (*Emerita sp.*)

1. Demineralisasi

Sebanyak 100gram serbuk cangkang yutuk (*Emerita sp.*) ditambah HCL 1,5 M menggunakan perbandingan 1:10 sambil dipanaskan dengan suhu 80°C selama satu setengah jam. Rendemen yang didapat kemudian disaring dan dicuci lalu dibilas dengan aquadest sampai pH netral (7). Hasil tahap demineralisasi berupa tepung cangkang yutuk (*Emerita sp.*) kemudian disiapkan untuk tahap (Wittriansyah *et al.*, 2018).

2. Deproteinasi

Serbuk cangkang yutuk (*Emerita sp.*) yang sudah di demineralisasi selanjutnya ditambah larutan NaOH 4% untuk tahap deproteinasi. Kemudian dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirer* dengan suhu 70°C selama dua jam. Selanjutnya didinginkan, didekantasi dan disaring dengan kertas saring lalu dibilas menggunakan akuades sampai pH netral yaitu pH 7 dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C. Hasil akhir yang diperoleh setelah melalui tahap deproteinasi disebut kitin atau tepung (Wittriansyah *et al.*, 2018).

3. Deasetilasi

Tepung kitin (*Emerita sp.*) dideasetilasi untuk mendapatkan senyawa kitosan dengan penambahan NaOH 50% (b/v), dengan perbandingan 1:20 kemudian dipanaskan dengan suhu 60°C selama satu jam. Selanjutnya didinginkan, didekantasi kembali, dibilas dengan aquades sampai pH netral (7). Keringkan dan timbang untuk mendapatkan produk akhir berupa tepung kitosan (Wittriansyah *et al.*, 2018).

Pengujian Sifat Fisika Kitosan

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik kitosan dilakukan berdasarkan penilaian alat indera meliputi kenampakan, warna, bau, dan konsistensi/tekstur (Imtihani *et al.*, 2020).

2. Uji Kadar Air

Sebanyak 0,5 g sampel yang berada dalam cawan yang telah diketahui beratnya ditimbang. Kemudian sampel dimasukkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 1- 2 jam. Selanjutnya dinginkan dalam desikator kurang lebih 30 menit dan ditimbang, kemudian dipanaskan lagi dengan oven, lalu didinginkan dalam desikator hingga diperoleh berat konstan (Imtihani *et al.*, 2020).

3. Uji Kadar Abu

Sebanyak 0,5 g sampel kitosan dalam cawan porselen ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam *furnace* untuk proses pengabuan. Temperatur *furnace* untuk pengabuan diatur dalam dua tahap yaitu dinaikkan perlahan

hingga mencapai 400°C dan selanjutnya temperatur dinaikkan hingga 600°C. Setelah abu terbentuk, perlahan-lahan turunkan temperatur *furnace* diturunkan dan pindahkan cawan porselen dalam desikator untuk menghindari kontaminasi dan molekul air di udara yang dapat diserap oleh abu (Imtihani *et al.*, 2020).

Pengujian FTIR (Fourier Transform Infra Red)

Kitosan *Emerita sp.* dianalisa menggunakan FTIR. Serapan sampel kitosan diukur menggunakan FTIR. Gugus fungsi kitosan dan nilai Derajat Deasetilasi (DD) dapat dianalisa menggunakan data serapan yang dihasilkan. (Wittriansyah *et al.*, 2018).

Pengujian Aktivitas Analgetik

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang sudah mendapat *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Hewan uji akan diperlakukan secara manusiawi, dipelihara dengan baik, menjamin hewan uji dari rasa lapar dan haus serta meminimalisasi perlakuan yang dapat menyakiti hewan uji selama proses penelitian berlangsung.

Metode yang digunakan untuk uji analgetik pada penelitian ini adalah rangsang kimia. Sebelum dilakukan percobaan mencit dipuaskan terlebih dahulu selama kurang lebih 18 jam namun masih tetap diberi minum supaya kondisi mencit sama dan mengurangi pengaruh dari makanan (Sasongko *et al.*, 2016). Percobaan diawali dengan menimbang masing-masing mencit lalu dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan dimana masing-masing terdapat 5 mencit pada setiap kelompok perlakuan. Kontrol positif yang digunakan berupa glukosamin dan kontrol negatif menggunakan CMC-Na 1%. Dosis kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) yang digunakan adalah 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan 1000 gram cangkang yutuk basah yang telah dibersihkan dikeringkan di bawah sinar matahari didapatkan cangkang kering 300 gram dan diserbuk menghasilkan serbuk cangkang yutuk 279 gram.

Tabel 1. Pembuatan Kitosan Cangkang Yutuk (*Emerita sp.*)

Perlakuan	Berat (gram)	Rendemen	Literatur (Agustina <i>et al.</i> , 2015)
Demineralisasi	42,17	42,17%	47,5%
Deproteinasi	15,93	37,78%	36,76%
Deasetilasi	12,59	79,03%	67,08%

Isolasi kitosan diawali dengan tahap demineralisasi. Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan kalsium karbonat yang merupakan komponen utama dari *crustacea* (Imtihani *et al.*, 2020). Tahap demineralisasi dilakukan menggunakan senyawa asam klorida encer (HCl) 1,5 untuk menghindari hidrolisis kitin. Bukti pemisahan mineral yang terkandung dalam cangkang yutuk yaitu ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara. Terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara mengindikasikan berlangsungnya reaksi pemisahan mineral antara asam klorida dengan garam mineral yang terkandung dalam cangkang yutuk. Berdasarkan **Tabel 1** memperlihatkan bahwa serbuk hasil proses demineralisasi pada penelitian ini mengalami penyusutan dari 100gram serbuk menjadi 42,17gram dengan rendemen sebesar 42,17%.

Serbuk cangkang yutuk (*Emerita sp.*) hasil proses demineralisasi selanjutnya dilakukan proses deproteinasi untuk menghilangkan ikatan protein pada cangkang yutuk (*Emerita sp.*). Protein yang terkandung dalam cangkang yutuk (*Emerita sp.*) larut dalam basa. Pada tahap deproteinasi serbuk cangkang yutuk sebanyak 42,17gram direaksikan dengan larutan NaOH 4% sebanyak 421,7 ml dan dipanaskan selama 2 jam pada suhu 70°C sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm. Proses pengadukan dan pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH sehingga proses degradasi dan pengendapan protein berlangsung sempurna (Agustina *et al.*, 2015). Pada reaksi deproteinasi terjadi pemutusan ikatan protein yang ditandai dengan perubahan larutan menjadi sedikit mengental dan berwarna kemerahan. Hal ini sesuai dengan penelitian Rochmawati *et al.*, (2018) bahwa dalam proses deproteinasi bukti protein yang terkandung dalam kitin terlepas yaitu larutan akan berubah menjadi mengental dan berwarna kemerahan. Protein akan terlepas dan berikatan dengan Na⁺ membentuk natrium proteinat yang dapat larut pada saat proses pencucian. Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan serbuk kitin hasil proses deproteinasi yang dihasilkan sebanyak 15,93gram dengan rendemen sebesar 37,78%.

Proses perubahan kitin menjadi kitosan melalui proses deasetilasi dimana proses ini mengalami penghilangan gugus-gugus asetil ($-\text{COCH}_3$) yang terkandung dalam kitin melalui reaksi dengan larutan alkali. Penambahan larutan alkali ini bertujuan untuk memutus ikatan antara gugus asetil dengan gugus nitrogen agar berubah menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$). Pada penelitian ini menggunakan serbuk hasil deproteinasi sebanyak 15,93gram yang direaksikan dengan larutan alkali NaOH 50% sebanyak 318,6 ml dengan pemanasan pada suhu 60°C selama satu jam. Tingginya konsentrasi larutan alkali dan suhu pada proses deasetilasi mempengaruhi besarnya derajat deasetilasi yang dihasilkan. Konsentrasi tinggi larutan NaOH yang digunakan menyebabkan depolimerisasi pemutusan ikatan rangkap pemutusan ikatan rangkap pada gugus karboksil dengan nitrogen sehingga akan meningkatkan besarnya derajat deasetilasi. Besarnya konsentarsi NaOH ini juga sebagai parameter keberhasilan proses deasetilasi. Eliminasi gugus asetil akan meningkat jika konsentrasi NaOH yang digunakan tinggi sehingga interaksi antara ion dengan gugus asetamida pada kitin akan meningkat dan akan semakin banyak gugus amina yang terbentuk (Agustina *et al.*, 2015). Hasil dari proses deasetilasi yaitu serbuk kitosan berwarna putih kecokelatan sebanyak 12,59gram dengan rendemen sebesar 79,03% seperti yang tertera pada [Tabel 1](#).

Tabel 2. Pengujian Sifat Fisika Kitosan

Nama Uji	Hasil	Standar
Organoleptik	Warna : putih kecokelatan	Warna : putih kecokelatan
	Tekstur : berbentuk serpihan atau bubuk halus	Tekstur : berbentuk serpihan atau bubuk halus (Cahyono, 2018)
Kadar air	1,4188%	$\leq 10\%$ (Rochmawati <i>et al.</i> , 2018)
Kadar abu	3,4332%	$\leq 2\%$ (Rochmawati <i>et al.</i> , 2018)

Pengujian sifat fisika kitosan yang dilakukan yaitu pemeriksaan organoleptis, uji kadar air, dan uji kadar abu total seperti yang tertera pada [Tabel 2](#). Pengujian organoleptis merupakan pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan (Imtihani *et al.*, 2020). Hasil pemeriksaan organoleptis pada kitosan berwarna putih kecokelatan dengan tekstur berbentuk serpihan atau bubuk halus. Hasil pemeriksaan organoleptis pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Cahyono (2018) dengan hasil pemeriksaan organoleptis kitosan berwarna putih kecokelatan dengan tekstur berbentuk serpihan atau bubuk halus.

Pada [Tabel 2](#) menunjukkan bahwa kitosan yang diisolasi dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) memiliki karakteristik sifat fisika kitosan dengan kadar air 1,4188%, kadar abu 3,43312%, dan nilai derajat deasetilasi sebesar 57,62%. Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan air yang ada dalam kitosan dimana dapat diketahui dari banyaknya air yang menguap pada proses pemanasan menggunakan oven. Kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh kelembapan relatif udara di sekitar tempat penyimpanannya, sebab kitosan memiliki sifat mudah menyerap uap air dari udara di sekitarnya. Gugus-gugus polimer kitosan (gugus amina, N-asetil dan hidroksil) akan berikatan hidrogen dengan H_2O dari udara. Faktor lain yang mempengaruhi kadar air yaitu metode pengeringan, lama pengeringan dan permukaan tempat pengeringan kitosan (Dompeipen, 2017). Kadar air pada kitosan yang diisolasi dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) sesuai dengan standar mutu kitosan *Protan Laboratory* yaitu $<10\%$.

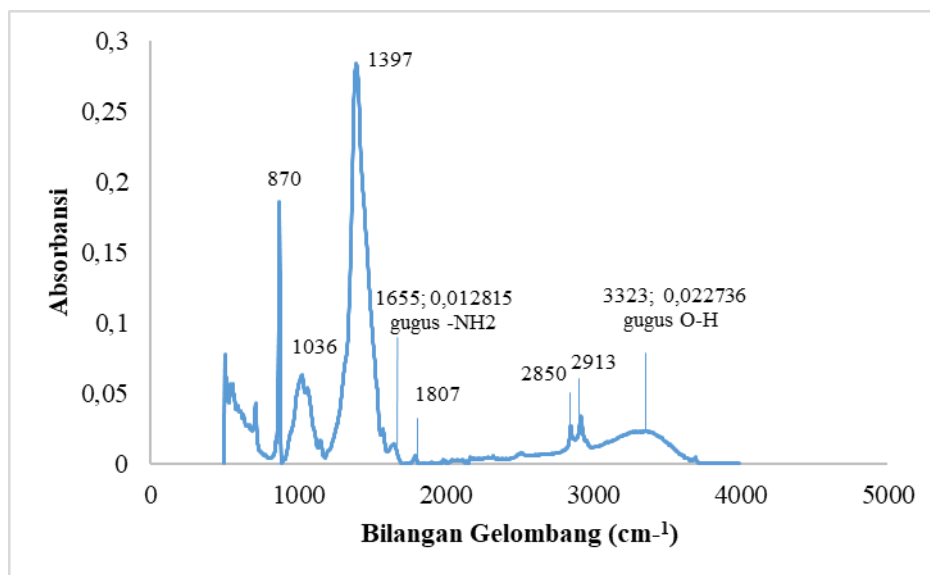
Kadar abu pada kitosan merupakan parameter keberhasilan proses demineralisasi yang dilakukan dan untuk mengetahui kandungan mineral yang ada dalam suatu bahan. Selain itu juga, kadar abu digunakan untuk menunjukkan kemurnian kitosan yang dihasilkan. Semakin rendah kadar abu yang dihasilkan maka semakin rendah juga kandungan mineralnya sehingga mutu dan tingkat kemurnian kitin dan kitosan akan semakin tinggi. Hasil kadar abu pada kitosan hasil penelitian ini yaitu sebesar 3,4332% dan tidak sesuai dengan standar mutu kitosan *Protan Laboratory* yaitu $<2\%$. Dari hasil tersebut mengindikasikan bahwa kandungan mineral yang tersisa pada kitin dan kitosan masih besar. Hal ini mengindikasikan bahwa proses demineralisasi pada proses sintesis kitosan berjalan kurang baik sehingga kandungan mineral yang tersisa masih banyak (Dompeipen, 2017).

Tabel 3. Hasil Nilai Derajat Deasetilasi Kitosan Cangkang Yutuk (*Emerita sp.*)

Parameter	Hasil	Standar (Masindi & Herdyastuti, 2017)
Derajat deasetilasi	57,62%	$\geq 70\%$

Parameter mutu kitosan yaitu nilai derajat deasetilasi yang ditentukan berdasarkan jumlah gugus asetil yang dapat dihilangkan pada tahap deasetilasi kitin menjadi kitosan. Konsentrasi NaOH yang tinggi dalam larutan

mengakibatkan gugus fungsional amino (-NH₃⁺) yang mensubstitusi gugus asetil kitin di dalam larutan semakin aktif yang menyebabkan semakin baiknya proses deasetilasi, sehingga nilai derajat deasetilasi semakin tinggi (Natalia *et al.*, 2021). Derajat deasetilasi kitosan pada penelitian ini sebesar 57,62% seperti pada Tabel 3. Nilai tersebut masih belum mencapai standar mutu kitosan *Protan Laboratory*. Hal ini dikarenakan kandungan gugus asetil pada kitosan masih tinggi sehingga kitosan yang didapat tidak benar-benar murni. Kemurnian kitosan dipengaruhi oleh adanya mineral yang berada dalam kitosan. Faktor lain yang dapat mempengaruhi kemurnian kitosan yaitu dari perbedaan tempat pengambilan bahan alam untuk pembuatan kitosan, perbedaan lokasi pengambilan bahan juga (Rochmawati *et al.*, 2018).



Gambar 1. Grafik Hasil FTIR

Tabel 4. Hasil FTIR

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis Ikatan (Rumengan <i>et al.</i> , 2018)	Hasil (cm ⁻¹)	Absorbansi
3300-3500	O-H	3323	0,022736
1630-1693	NH ₂	1655	0,012815

Hasil analisa FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) terhadap sampel kitosan ditunjukkan pada Gambar 1. deasetilasi kitosan yaitu dengan metode garis dasar pada hasil FTIR kitosan. Prinsip penentuan derajat deasetilasi adalah perbandingan nilai absorbansi amida dalam gugus asetil dan gugus hidroksil yaitu pada panjang gelombang 1655 cm⁻¹ dan 3450 cm⁻¹ (Natalia *et al.*, 2021). Pita serapan 3323,81 cm⁻¹ pada Tabel 4 merupakan hasil dari vibrasi pembengkokan gugus OH. Pergeseran bilangan gelombang gugus OH dan lebarnya serapan, disebabkan adanya tumpang tindih dengan gugus NH dari amina. Karakteristik kitosan terlihat pada pita serapan gelombang 1655.76 pada Tabel 4 yang menunjukkan vibrasi peregangan N-H dari amida. Hal ini juga menunjukkan perubahan intensitas serapan yang menandakan perubahan dari kitin menjadi kitosan.

Tabel 5. Hasil Persen Proteksi Kitosan dari Cangkang Yutuk (*Emerita sp.*)

No.	Kelompok	Persen proteksi
1.	Kontrol Negatif	0%
2.	Kontrol Positif	65,17%
3.	Kitosan 50 mg/kgBB	56,20%
4.	Kitosan 100 mg/kgBB	58,85%
5.	Kitosan 150 mg/kgBB	79,42%
6.	Kitosan 200 mg/kgBB	86,78%
7.	Kitosan 250 mg/kgBB	88,85%

Penelitian ini telah mendapatkan surat persetujuan etik yang mengikutsertakan hewan coba sebagai subjek penelitian yang dibuktikan dengan nomor lulus uji etik 022301001. Pengujian aktivitas analgetik kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) pada mencit putih jantan dilakukan menggunakan metode rangsang kimia. Mencit putih jantan dipilih sebagai subjek penelitian dikarenakan kondisi biologisnya yang stabil dan memiliki anatomi

fisiologi serta mudah dalam pemeliharaannya. Pemilihan jenis kelamin jantan karena pada mencit jantan memiliki kestabilan hormonal dibanding dengan mencit betina. Mencit betina akan mengalami siklus estrus masa kehamilan dan menyusui sehingga mempengaruhi kondisi psikologi hewan uji sedangkan mencit jantan tidak mengalami siklus estrus masa kehamilan (Isrul *et al.*, 2020). Larutan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu suspensi CMC-Na yang berfungsi sebagai kontrol negatif, suspensi glukosamin sebagai kontrol positif, serta kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 250 mg/kgBB. CMC-Na dipilih sebagai kontrol negatif karena CMC-Na adalah senyawa yang tidak memiliki efek analgetik, sedangkan glukosamin dipilih sebagai kontrol positif karena glukosamin merupakan analgetik yang bekerja dengan mempengaruhi prostaglandin yang berperan dalam respon nyeri (Sherman *et al.*, 2013). Kontrol positif digunakan dengan tujuan untuk membandingkan daya analgetik dengan sampel kitosan yang diteliti. Penginduksi nyeri yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan asam asetat. Asam asetat digunakan sebagai penginduksi nyeri karena asam asetat akan merangsang pembentukan prostaglandin sehingga menimbulkan rasa nyeri pada hewan uji.

Hasil penelitian pada Tabel 5 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan kitosan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB mempunyai efek analgetik dengan persen proteksi analgetik di atas 50%. Nilai persen proteksi analgetik kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) pada dosis 50 mg/kgBB sebesar 56,20%, 100 mg/kgBB sebesar 58,85%, 150 mg/kgBB sebesar 79,42%, 200 mg/kgBB sebesar 86,78%, dan efek analgetik paling besar terdapat pada dosis 250 mg/kgBB yaitu sebesar 88,85%.

Cangkang yutuk (*Emerita sp.*) mengandung senyawa kitosan. Kitosan diketahui memiliki efek analgetik dengan mekanisme kerja menghambat terbentuknya enzim siklooksigenase sehingga sintesis prostaglandin terhambat. Prostaglandin merupakan mediator rasa nyeri (Siswanto Syamsul *et al.*, 2016). Hal ini sesuai dengan penelitian Putri & Darmawan (2022) bahwa kitosan dari cangkang udang dengan nilai derajat deasetilasi sebesar 54,9% menunjukkan hasil bahwa kitosan memiliki potensi analgetik paling besar dibandingkan natrium diklofenak pada dosis 100 mg/kgBB pada tikus arthritis yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA).

Hasil uji yang telah didapat selanjutnya dilakukan uji statistik dengan SPSS guna menguji normalitas dan homogenitas serta dilakukan uji statistik dengan *One Way Anova* untuk mengetahui signifikansi hubungan antara ketujuh kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna antara 7 kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan mencari signifikansi antar kelompok dengan menggunakan uji *Post Hoc* dengan uji LSD (*Least Significantly Different*) atau uji *Games Howell* (Putu *et al.*, 2020).

Data yang digunakan untuk uji SPSS adalah data rata-rata geliat tiap mencit. Pada uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil nilai $p > 0,05$ yang dapat diartikan bahwa data yang dianalisis terdistribusi normal. Sedangkan pada uji homogenitas 0,055 nilai p yang diperoleh $> 0,05$ yang menandakan bahwa data yang diamati terdistribusi homogen. Selanjutnya dilakukan analisis dengan *One Way Anova* dan *Post Hoc* dengan uji LSD (*Least Significantly Different*). Pada analisis statistik dengan Anova didapatkan nilai $p < 0,05$. Data dikatakan signifikan bila nilai $p < 0,05$ yang menandakan bahwa data memiliki perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Uji *Post Hoc* dengan LSD (*Least Significantly Different*) dilakukan untuk menunjukkan pada kelompok mana yang mengalami perbedaan yang signifikan. Perbedaan tiap kelompok diketahui dengan membandingkan nilai *mean deference* dan signifikan. Diketahui bahwa semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna pada kontrol negatif. Kelompok kontrol negatif mempunyai efek analgetik yang lemah dengan nilai *mean difference* dan nilai signifikan $p < 0,05$. Efek analgetik semua dosis kelompok kitosan tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif yang dinyatakan dengan nilai $p > 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek analgetik kontrol positif hampir sama dengan semua konsentrasi kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) Akan tetapi kitosan dosis 50 mg/kg BB memiliki perbedaan yang bermakna dengan kitosan dosis 250 mg/kgBB yang dinyatakan dengan nilai $p < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek analgetik paling rendah terdapat pada kitosan dosis 50 mg/kgBB dengan rata-rata geliat sebanyak 19,05 dan efek analgetik paling tinggi terdapat pada kitosan dosis 250 mg/kgBB dengan rata-rata geliat sebanyak 4,85.

4. KESIMPULAN

Kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB memiliki aktivitas analgetik pada mencit putih jantan galur *swiss* yang diinduksi asam

asetat 1%. Kitosan dari cangkang yutuk (*Emerita sp.*) pada dosis 250 mg/kgBB memiliki efek analgetik terbaik dengan hasil persen proteksi sebesar 88,85% pada mencit putih jantan dan dinyatakan signifikan dengan nilai $p < 0,05$.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terimakasih kepada Laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gombong yang telah membantu dalam proses pelaksanaan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Swantara, I. M. D., & Suartha, I. N. (2015). Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278.
- Bhagawati, D., Anggoro, S., Zainuri, M., & Sya'rani, L. (2016). Kontribusi Taksonomi dalam Pendayagunaan Spesies: Kajian Atribut Morfologi dan Kunci Dikotomi Kepiting Yutuk (Crustacea:Hippoidea) dari Pesisir Cilacap. *Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan UNDIP, 2014*, 550–564.
- Cahyono, E. (2018). Karakteristik Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Windu (*Panaeus monodon*). *Akuatika Indonesia*, 3(2), 96. <https://doi.org/10.24198/jaki.v3i2.23395>
- Desi, T., Suryanti, S., & Widyorini, N. (2020). Habitat Preference and Abundance of Mole Crab Based on Sea Tides in Coastal Area of Kebumen Regency. *Aquasains*, 9(1), 893. <https://doi.org/10.23960/aqs.v9i1.p893-902>
- Dompeipen, E. J. (2017). Isolasi dan Identifikasi Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) dengan Spektroskopi Inframerah. *Majalah Biam*, 13(1), 31–41.
- Hasan, M. Y., Al-Mahamud, R., Rahman, S., Ahmad, I., & Rahmatullah, M. (2015). A Preliminary Report On Antihyperglycemic And Analgesic Properties Of Methanol Extract Of Brassica Oleracea L.Var. Italica Sprouts. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 4(09), 225–234.
- Imtihani, H. N., Wahyuono, R. A., & Permatasari, S. N. (2020). *Biopolimer Kitosan dan Penggunaannya Dalam Formulasi Obat* (1st ed.). Surabaya: Penerbit Graniti.
- Isrul, M., Dewi, C., & Wahdini, V. (2020). Uji Efek Antiinflamasi Infusa Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(2), 97–103. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i1.61>
- Kurniawan, S. N. (2015). Nyeri Secara Umum. In *Continuing Neurological Education 4, Vertigo dan Nyeri* (pp. 48–111). UB Press, Universitas Brawijaya Malang.
- Mahsar, A., & Wardiatno, Y. (2016). Biomassa Sesaat Sumber Daya Perikanan Undur-Undur Laut (Crustacea: Decapoda: Hippidae) di Pantai Berpasir Cilacap dan Kebumen, Jawa Tengah. *Marine Fisheries*, 7(2), 211–218.
- Masindi, T., & Herdyastuti, N. (2017). Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*). *UNESA Journal of Chemistry*, 6(3), 137–142.
- Muzammil, W., Wardiatno, Y., & Butet, N. A. (2015). Rasio Panjang-Lebar Karapas, Pola Pertumbuhan, Faktor Kondisi, dan Faktor Kondisi Relatif Kepiting Pasir (*Hippa adactyla*) di Pantai Berpasir Cilacap dan Kebumen. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 20(1), 84.
- Natalia, D. A., Dharmayanti, N., & Roswita Dewi, F. (2021). Produksi Kitosan dari Cangkang Rajungan (*Portunus sp.*) pada Suhu Ruang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 301–309. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i3.36635>
- Noviani, N., & Nurilawati, V. (2017). *Buku Ajar Farmakologi* (1st ed.). Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Jakarta Selatan.
- Pasita, E. (2018). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del*) pada Mencit Putih (*Mus musculus L*) dengan Metode Witkin. In *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
- Putri, D. K., & Darmawan, E. (2022). Analgesic Activity of Chitosan in Arthritis Rats Induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 19(01), 132–141.
- Putu, N., Darmayanti, O., Putu, N., Artini, R., Yudhistira, P., & Setiawan, B. (2020). Uji Aktivitas Analgetik Eksrak Etanol 96 % Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L .*) dengan Metode Geliat Pada Mencit Putih (*Mus musculus L*) Galur Swiss Webster.
- Rochmawati, Z. N., Nabila, F., & Ainurrohman, C. (2018). Karakterisasi Kitosan yang Diisolasi dari Cangkang Internal Cumi-Cumi. *Jurnal Sains Dan Teknologi*, 16(1).
- Rumengan, I. F. M., Suptijah, P., Salindeho, N., Wullur, S., & Luntungan, A. H. (2018). *Nanokitosan Dari Sisik Ikan : Aplikasinya Sebagai Pengemas Produk Perikanan*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Saam Ratulangi, Manado.

- Sasongko, H., Sugiyarto, Farida, Y., Efendi, N. R., Pratiwi, D., Setyawan, A. D., & Widiyani, T. (2016). Analgesic Activity of Ethanolic Extracts of Karika Leaves (*Carica pubescens*) In Vivo. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, *01*, 83–89.
- Sherman, A. L., Correal, G. O., & Mena, J. (2013). Use of glucosamine and chondroitin in persons with osteoarthritis. *Osteoarthritis Supplement*, *4*, p. S110.
- Siswanto Syamsul, E., Andani, F., & Budianti Soemarie, Y. (2016). Analgesic Activity Study of Ethanolic Extract of *Callicarpa longifolia* Lamk. In Mice. *Majalah Obat Tradisional*, *21*(2), 99–103. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.12824>
- Song, X., Liu, L., Wu, X., & Liu, Y. (2021). Chitosan-Based Functional Films Integrated with Magnolol : Characterization , Antioxidant and Antimicrobial Activity and Pork Preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 1–15.
- Suwondo, B. S., Meliala, L., & Sudadi. (2017). *Buku Ajar Nyeri 2017*. Perkumpulan Nyeri Indonesia. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2015). *Obat-Obat Penting : Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya* (7th ed.). Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Wittriansyah, K., Handayani, M., & Dirgantara, D. (2018). Karakterisasi Kitin Dan Kitosan *Emerita sp* . Dari Pantai Pesisir Widarapayung, Cilacap, Jawa Tengah. *Jurnal Ilmiah Samudra Akuatika*, *2*, 45–51.