

## Uji Efektivitas Analgesik Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Licking Time* Mencit yang Diinduksi Formalin

### *The Analgesic Effectiveness Test of Cocoa Husk (Theobroma cacao L.) Extract to Licking Time of Mice Induced by Formalin*

Yuli Lusiana Sari<sup>1</sup>, Desie Dwi Wisudanti<sup>2</sup>, Muhammad Ali Shodikin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

<sup>2</sup>Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

<sup>3</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37, Jember, Indonesia, 68121

e-mail korespondensi: desie.fk@unej.ac.id

#### Abstrak

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan bahan industri yang sering dimanfaatkan dalam produksi coklat, namun bagian yang dimanfaatkan adalah biji sehingga kulitnya menumpuk sebagai limbah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas analgesik ekstrak kulit kakao terhadap *licking time* mencit yang diinduksi formalin. Penelitian ini menggunakan sampel berjumlah 28 ekor mencit yang dibagi menjadi tujuh kelompok. Kelompok K<sub>(-)</sub> diberikan NaCMC 1%, K<sub>(+)</sub> diberikan 0,0048 mg/gBB natrium diklofenak, serta kelompok K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>, dan K<sub>5</sub> diberikan variasi dosis ekstrak kulit kakao, yaitu 0,25 mg/gBB, 0,5 mg/gBB, 1 mg/gBB, 2 mg/gBB dan 4 mg/gBB secara peroral 30 menit sebelum injeksi subkutan 200 µL formalin 2,5% pada kaki belakang. Grafik *dose response* data *licking time* fase pertama bersifat fluktuatif dengan persentase inhibisi tertinggi terjadi pada kelompok ekstrak dosis 0,5 mg/gBB dan 1 mg/gBB, yaitu 68,750% sedangkan pada data *licking time* fase kedua bersifat bifasik dengan persentase inhibisi tertinggi terjadi pada kelompok ekstrak dosis 1 mg/gBB, yaitu 94,052%. Analisis *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) pada data *licking time* fase pertama, namun menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada data *licking time* fase kedua. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak kulit kakao dapat menurunkan *licking time* fase kedua, yaitu fase inflamasi secara signifikan.

**Kata kunci:** kakao, analgesik, *licking time*, formalin, fase inflamasi

#### Abstract

Cocoa (*Theobroma cacao* L) is an industrial material that often used in chocolates production, but the part that used is cocoa bean, so that cocoa husk accumulate as waste. This study aimed to determine effectiveness of cocoa husk extracts to first and second phase of *licking time* of mice induced formalin. This study used 28 mice that divided into seven groups. NaCMC 1% to group K<sub>(-)</sub>, 0.0048 mg/gBW sodium diclofenac to K<sub>(+)</sub>, extracts dose variations, ie 0.25 mg/gBW, 0.5 mg/gBW, 1 mg/gBW, 2mg/gBW and 4 mg/gBW to group K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>, and K<sub>5</sub> administered orally 30 minutes before subcutaneous injection of 200 µl formaldehyde 2.5% on hind paw. Graph of *dose response* on first phase data was fluctuate with highest inhibition percentage occurred on dose group 0,5 mg/gBW and 1 mg/gBW, that is 68,750% while on second phase data was biphasic with highest inhibition percentage occurred on dose group 1mg/gBW, that is 94,052%. *One Way ANOVA* analysis showed no significant difference ( $p > 0.05$ ) on first phase, but showed significant difference ( $p < 0,05$ ) on second phase. This results indicated that cocoa husk extracts can decrease secondphase, inflammatory phase significantly.

**Keywords:** cocoa, analgesic, *licking time*, formaldehyde, inflammatory phase

## Pendahuluan

Indonesia merupakan produsen kakao terbesar ketiga di dunia setelah negara *Pantai Gading* dan *Ghana*. Luas lahan tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) di Indonesia kurang lebih 992.448 Ha dengan produksi biji kakao sekitar 456.000 ton per tahun. *Theobroma cacao* L merupakan bahan industri yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan coklat, namun bagian yang dimanfaatkan dari tanaman tersebut adalah biji sehingga bagian kulitnya menumpuk sebagai limbah, yaitu mencapai 75% dari total produksi (DEPPERIN, 2007 dan Wahyudi *et al.*, 2008).

Kulit kakao mengandung zat fenolik yang konsentrasinya lebih tinggi dibandingkan dengan biji kakao (Kumari *et al.*, 2011). Senyawa fenolik dalam kulit kakao terdiri dari polifenol, katekin, epikatekin, prosianidin polimer, prosianidin B2, dan jenis molekul flavonoid lainnya. Senyawa tersebut dapat menghambat reaksi imun pro-inflamasi penginduksi nyeri, misalnya polifenol dapat menghambat efek PGE2, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$ , epikatekin dapat menghambat TNF- $\alpha$  dan IL-6, serta prosianidin B2 dan katekin dapat menurunkan TNF- $\alpha$  (Andujar *et al.*, 2011).

Nyeri merupakan suatu respons peradangan akibat sensasi perangsangan sistem saraf (Price *et al.*, 2006). Sensitisasi respons nyeri perifer dimodulasi oleh mediator proinflamasi yang diproduksi oleh sel imun, seperti IL-5, serotonin, dan histamin yang diproduksi oleh sel mast. Sedangkan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL 6 diproduksi oleh sel mast, neutrofil, dan makrofag. Selain itu, juga terdapat PGE2 yang diproduksi oleh makrofag dan sel *innate* lainnya. Mediator-mediator tersebut akan merangsang neuron nosiseptor sehingga menimbulkan nyeri (Ribeiro *et al.*, 2016).

Analgesik merupakan istilah medis yang digunakan untuk suatu bahan yang mengurangi nyeri tanpa menyebabkan hilangnya kesadaran (Dorland, 2012). Golongan analgesik non opioid yang paling sering digunakan adalah ibuprofen, asam mefenamat, dan natrium diklofenak. Penggunaan analgesik yang tidak terkontrol dapat menyebabkan efek samping pada pencernaan secara signifikan. Salah satu efek samping penggunaan *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) dalam dosis tinggi pada sistem pencernaan, yaitu kerusakan mukosa lambung. Hal itu terjadi karena NSAID menghambat enzim *cyclooxygenase-1* (COX-1), enzim katalisator dalam produksi prostaglandin yang berfungsi untuk

melindungi mukosa lambung (Syarif *et al.*, 2012).

Pusat penelitian kopi dan kakao (Puslit Koka) Jember merupakan salah satu pusat penelitian kopi dan kakao di Indonesia yang telah mengalami nasionalisasi, yaitu suatu perusahaan milik swasta yang telah diambil alih oleh negara (DEPPERIN, 2007) Kondisi tersebut sangat mendukung adanya kegiatan penelitian terkait pemanfaatan tanaman *Theobroma cacao* L.

Pada penelitian ini dilakukan uji efektivitas analgesik ekstrak kulit kakao dilihat dari akumulasi waktu yang dibutuhkan untuk respons menjilat (*licking time*) pada kaki belakang mencit yang diinduksi formalin. Pada uji *paw licking time*, hewan coba akan mengalami efek perilaku dalam dua fase respons nosiseptif. Substansi P dan bradikinin berperan penting dalam respons nyeri fase pertama, yaitu fase neurogenik (3-5 menit setelah injeksi formalin) yang terjadi karena stimulasi direkt serat saraf sensori. Mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, prostaglandin, dan bradikinin berperan penting dalam respons nyeri fase kedua, yaitu fase inflamasi (Chang *et al.*, 2010 dan Shibata *et al.*, 1989). Peneliti berharap hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru bagi dunia kesehatan bidang farmakologi dan bagi masyarakat.

## Metode Penelitian

Penelitian ini sudah mendapatkan perijinan *ethical clearance* dari Komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Identifikasi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dilakukan di Laboratorium Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Proses ekstraksi kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan larutan aseton dan akuades dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kandungan yang terdapat pada kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) diambil dengan menggunakan proses ekstraksi. Ekstraksi tersebut menggunakan larutan aseton dan akuades dengan metode maserasi. Prosedur pengekstrakan dilakukan melalui tahap pemisahan kulit dengan biji kakao, pencucian, pemotongan, pengeringan di dalam inkubator 60°C selama lima hari, penghalusan menggunakan blender, dan pengayakan sehingga didapatkan serbuk halus kulit kakao (*Theobroma cacao* L.). Sebanyak 400 gram serbuk halus dimaserasi dengan

larutan 4 L aseton/akuades v/v 50/50 pada suhu kamar selama 24 jam. Maserat disaring menggunakan kertas *buchner* dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm. Filtrat diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kim *et al.*, 2004).

Penelitian ini menggunakan sampel berjumlah 28 ekor mencit jantan dengan berat 20-30 gram dan umur 2-3 bulan. Sampel dibagi menjadi tujuh kelompok, yaitu satu kelompok kontrol negatif (K<sub>(-)</sub>), kelompok kontrol positif (K<sub>(+)</sub>) dan lima kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.). Pemberian NaCMC 1% pada kelompok K<sub>(-)</sub>, 0,00448 mg/gBB natrium diklofenak yang dilarutkan dalam NaCMC 1% pada kelompok K<sub>(+)</sub>, dan variasi dosis ekstrak kulit kakao pada lima kelompok perlakuan diberikan secara peroral 30 menit sebelum injeksi subkutan 200 µL formalin 2,5% pada kaki belakang mencit. Variasi dosis ekstrak kulit kakao yaitu, 0,25 mg/gBB (K<sub>1</sub>), 0,5 mg/gBB (K<sub>2</sub>), 1 mg/gBB (K<sub>3</sub>), 2 mg/gBB (K<sub>4</sub>), dan 4 mg/gBB (K<sub>5</sub>).

Pengambilan data dilakukan dengan menghitung akumulasi waktu menjilat mencit (*licking time*) selama 1-5 menit pertama setelah injeksi formalin (fase pertama) dan 15-45 menit setelah injeksi formalin (fase kedua). Setelah itu, dilakukan perhitungan persentase inhibisi dari data rata-rata *licking time* mencit fase pertama dan kedua pada masing-masing kelompok. Persentase inhibisi merupakan kemampuan natrium diklofenak pada kelompok kontrol positif dan ekstrak pada kelompok perlakuan dalam menghambat respons nyeri (Jakaria *et al.*, 2015).

Analisis data dilakukan secara komputerisasi dengan SPSS. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* kemudian dilakukan uji homogenitas. Setelah itu, dilakukan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.

### Hasil Penelitian

Setelah dilakukan pengujian daya analgesik sesuai dengan kelompok perlakuan, didapatkan hasil berupa *licking time* fase pertama dan fase kedua pada masing-masing mencit, kemudian dilakukan perhitungan persentase inhibisi pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Rata-rata

*licking time* dan persentase inhibisi tiap kelompok pada fase pertama dan kedua dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Rata-rata *licking time* mencit tiap kelompok pada fase pertama

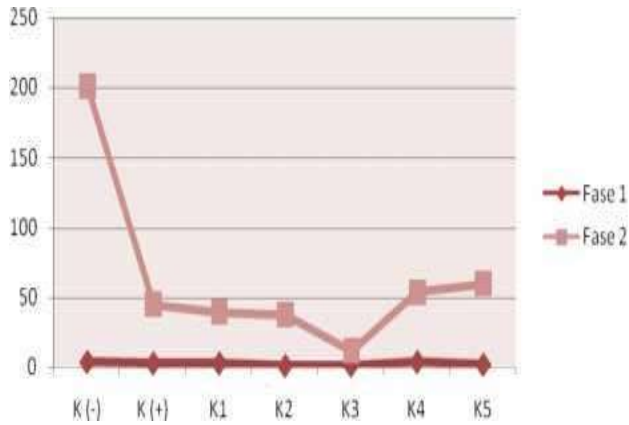
Kelompok	Rata-rata waktu menjilat (detik) (X ± SEM)	% inhibisi
K <sub>(-)</sub>	4,00 ± 0,408	-
K <sub>(+)</sub>	3,00 ± 2,121	25,00
K <sub>1</sub>	3,00 ± 0,707	25,00
K <sub>2</sub>	1,25 ± 0,479	68,75
K <sub>3</sub>	1,25 ± 0,479	68,75
K <sub>4</sub>	4,00 ± 1,472	0,000
K <sub>5</sub>	2,00 ± 0,707	50,00

Pada Tabel 1. terlihat bahwa rata-rata waktu menjilat mencit menurun pada kelompok K<sub>2</sub> dan K<sub>3</sub>, namun meningkat kembali pada kelompok K<sub>4</sub> dan K<sub>5</sub>. Persentase inhibisi tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak kulit kakao dosis 0,5 mg/gBB dan 1 mg/gBB, yaitu sebesar 68,75 % kemudian tidak menunjukkan adanya persentase inhibisi pada kelompok K<sub>4</sub>.

**Tabel 2.** Rata-rata *licking time* mencit tiap kelompok pada fase kedua

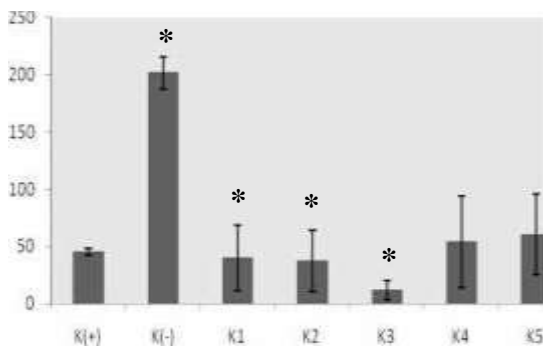
Kelompok	Rata-rata waktu menjilat (detik) (X ± SEM)	% inhibisi
K <sub>(-)</sub>	201,75 ± 14,008	-
K <sub>(+)</sub>	45,5 ± 3,202	77,447
K <sub>1</sub>	40,00 ± 28,577	80,173
K <sub>2</sub>	37,75 ± 26,964	81,289
K <sub>3</sub>	12,00 ± 8,256	94,052
K <sub>4</sub>	54,00 ± 39,931	73,234
K <sub>5</sub>	60,75 ± 35,184	69,888

Pada Tabel 2. rata-rata waktu menjilat mencit menurun secara berturut-turut pada kelompok K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, dan K<sub>3</sub>, namun meningkat kembali pada kelompok K<sub>4</sub> dan K<sub>5</sub>. Persentase inhibisi tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak kulit kakao dosis 1 mg/gBB, yaitu sebesar 94,052%. Data rata-rata akumulasi waktu menjilat mencit tersebut dapat digambarkan secara histogram pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram rata-rata *licking time*

Data rata-rata *licking time* mencit diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan data *licking time* fase pertama dan kedua terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varians data *licking time* fase pertama homogen ( $p > 0,05$ ) dan varians data *licking time* fase kedua tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Setelah itu, dilakukan uji *One Way ANOVA*. Uji analisis *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa data *licking time* fase pertama tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) sedangkan data *licking time* fase kedua signifikan ( $p < 0,05$ ) sehingga analisis data *licking time* fase kedua dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Data terdistribusi normal, namun varians tidak homogen atau heterogen sehingga uji *Post Hoc* yang digunakan adalah *Games-Howell* (Santosa dan Ashari, 2005). Hasil uji *Games-Howell* data *licking time* fase kedua tersebut dapat digambarkan dengan histogram pada Gambar 2.



Gambar 2. Histogram hasil uji *Games-Howell* *licking time* fase kedua. \*signifikan terhadap kontrol negatif ( $p < 0,05$ )

## Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak kulit kakao sebagai analgesik dilihat dari *licking time* mencit yang diinduksi formalin. Efektivitas ekstrak biji kakao sebagai antiinflamasi dan analgesik telah diteliti oleh peneliti-peneliti terdahulu (Kumari *et al.*, 2011 dan Andujar *et al.*, 2011), namun penelitian terkait efektivitas ekstrak kulit kakao sebagai analgesik masih belum pernah dilakukan.

Hasil dan analisis data *licking time* fase pertama menunjukkan natrium diklofenak dapat menurunkan *licking time* fase pertama, namun tidak memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan kelompok K(-). Hal itu serupa dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa pemberian 15 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB natrium diklofenak secara intraperitoneal dapat menurunkan *licking time* mencit fase pertama, namun tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok K(-) (DeRuiter, 2002; Hassani *et al.*, 2011; Hasani *et al.*, 2011). Hasil penelitian Hassani *et al.* (2011) menunjukkan bahwa efek signifikan mulai terlihat pada menit ke 25 (fase kedua). Natrium diklofenak merupakan golongan obat yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakhidonat menjadi PGE<sub>2</sub> terganggu (Syarif *et al.*, 2012). Enzim siklooksigenase dan PGE<sub>2</sub> tersebut berkaitan dengan fase kedua, yaitu fase inflamasi. Oleh karena itu, efek signifikan natrium diklofenak terhadap *licking time* terjadi pada fase kedua (fase inflamasi), meskipun berdasarkan hasil penelitian yang tersebut di atas natrium diklofenak juga dapat menurunkan efek induksi formalin pada fase pertama. Fase pertama disebut juga dengan fase neurogenik karena nyeri pada fase ini ditimbulkan oleh stimulasi direk serat saraf sensori akibat induksi formalin, yaitu 1-5 menit setelah injeksi formalin (Chang *et al.*, 2010).

Hasil dan analisis data *licking time* fase pertama juga menunjukkan bahwa ekstrak kulit kakao dapat menurunkan *licking time* fase pertama, namun tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan jika dibandingkan kelompok kontrol negatif. Dosis tertentu ekstrak kulit kakao yang dapat menurunkan *licking time* fase pertama ditunjukkan dengan hasil perhitungan persentase inhibisi kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Persentase inhibisi kelompok ekstrak kulit kakao dosis 0,25 mg/gBB

sama dengan persentase inhibisi kelompok  $K_{(+)}$ , yaitu sebesar 25%. Hasil data *licking time* fase pertama menunjukkan kondisi histogram yang fluktuatif. Hal tersebut sesuai dengan penelitian mengenai efektivitas *Combretum leprosum* terhadap *licking time* mencit yang diinduksi formalin. *Combretum leprosum* memiliki kandungan yang serupa dengan ekstrak kulit kakao, yaitu epikatekin. Penelitian tersebut menyatakan bahwa hasil yang tidak signifikan dan grafik *dose response* yang fluktuatif terjadi karena *Combretum leprosum* tidak memiliki pengaruh terhadap bradikinin yang berperan penting dalam respons nyeri fase pertama (Lopes *et al.*, 2010). Selain itu, hal serupa juga terjadi pada penelitian mengenai efek *silymarin* terhadap *licking time* mencit yang diinduksi formalin. Penelitian tersebut menyatakan bahwa *silymarin* yang memiliki kandungan serupa dengan ekstrak kulit kakao, yaitu flavonol (turunan polifenol) tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap fase pertama (fase neurogenik) karena *silymarin* tidak dapat menstimulasi reseptor  $\beta_2$ -adrenergik. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa terdapat dosis tertentu yang menunjukkan adanya hambatan terhadap *licking time* fase pertama, namun grafik *dose response* yang didapatkan fluktuatif. Hal itu terjadi karena hanya dosis tertentu yang memiliki aktivitas anti TNF- $\alpha$  indirek pada saraf perifer sehingga hambatan yang ditimbulkan pada *licking time* fase pertama tidak stabil atau fluktuatif (Hasani *et al.*, 2011). Hasil penelitian mengenai efek ekstrak kulit kakao terhadap *fomalin test* ini juga didukung oleh penelitian yang menyatakan bahwa kulit kakao mengandung senyawa fenolik, yaitu polifenol, katekin, epikatekin, prosianidin, dan senyawa fenolik lainnya yang dapat menghambat mediator proinflamasi pemicu nyeri, seperti PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  sehingga efek signifikan ekstrak tersebut bukan terjadi pada fase pertama (fase neurogenik) (Andujar *et al.*, 2011).

Hasil dan analisis data *licking time* fase kedua pada penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian natrium diklofenak pada mencit yang diinduksi formalin dapat menurunkan *licking time* secara signifikan. Hal itu sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian 10 mg/kgBB dan 15 mg/kgBB natrium diklofenak secara intraperitoneal dapat menurunkan *licking time* mencit fase kedua secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (Jakaria *et al.*, 2015; Hasani *et al.*, 2011; dan Hassani *et al.*, 2015) Pemberian natrium diklofenak dosis 10 mg/kgBB secara intraperitoneal

mulai menurunkan efek formalin secara signifikan pada menit ke 25, yaitu fase kedua respons nyeri (Hasani *et al.*, 2011). Natrium diklofenak memiliki efek signifikan pada fase kedua (fase inflamasi) respons nyeri karena natrium diklofenak merupakan obat NSAID yang tergolong sebagai penghambat COX relatif. Obat ini bekerja dengan menghambat proses inflamasi, yaitu menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakhidonat menjadi PGE<sub>2</sub> terganggu (Syarif *et al.*, 2012). Efek signifikan natrium diklofenak dalam menurunkan *licking time* mencit fase kedua pada penelitian ini juga ditunjukkan dengan tingkat persentase inhibisi sebesar 77,447%.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit kakao pada dosis 0,25 mg/gBB, 0,5 mg/gBB, dan 1 mg/gBB dapat menurunkan *licking time* fase kedua secara signifikan sedangkan pemberian ekstrak kulit kakao dosis 2 mg/gBB dan 4 mg/gBB tidak menunjukkan adanya penurunan *licking time* secara signifikan. Oleh karena itu, hasil pada data *licking time* fase kedua menunjukkan grafik *dose response* yang bifasik. Efek ekstrak kulit kakao dalam menurunkan *licking time* mencit fase kedua juga ditunjukkan dengan tingkat persentase inhibisi dari rata-rata *licking time* mencit. Persentase inhibisi pada  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  lebih besar daripada  $K_{(+)}$ , sedangkan  $K_4$  dan  $K_5$  memiliki persentase inhibisi lebih rendah daripada  $K_{(+)}$ . Hasil tersebut sesuai dengan penelitian mengenai efek pemberian *Combretum leprosum* terhadap *licking time* mencit yang diinduksi formalin. *Combretum leprosum* memiliki kandungan serupa dengan ekstrak kulit kakao, yaitu epikatekin. Penelitian tersebut menyatakan bahwa grafik *dose response* bifasik terjadi karena efek farmakologis maksimal terjadi pada dosis intermediet sehingga efek farmakologis menurun ketika dosis ditingkatkan melebihi dosis intermediet (Lopes *et al.*, 2010). Selain itu, penelitian lain juga menunjukkan bahwa efek *dose response* yang bifasik terjadi pada pemberian ekstrak *Iranian Green tea* terhadap *licking time* hewan coba yang diinduksi formalin. *Iranian Green tea* memiliki kandungan serupa dengan ekstrak kulit kakao, yaitu katekin (Arzi *et al.*, 2012). Pada *fomalin test*, seringkali terjadi fenomena *dose response* yang bifasik ketika dosis dari bahan analgesik yang digunakan sebagai supresor mediator penginduksi nyeri ditingkatkan melebihi dosis pada efek maksimal. Hal itu terjadi karena penurunan mediator inflamasi pada *dose*

response maksimal memicu aktivasi sel imun kembali untuk meningkatkan produksi mediator tersebut sehingga efek farmakologis menurun (Shibata *et al.*, 1989). Ekstrak kulit kakao dapat menurunkan *licking time* fase kedua mencit yang diinduksi formalin secara signifikan karena kulit kakao mengandung senyawa fenolik yang terdiri dari polifenol, katekin, epikatekin, prosianidin polimer, prosianidin B2, dan jenis molekul flavonoid lainnya yang dapat menghambat mediator proinflamasi pemicu nyeri, seperti PGE2, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$ . Ekstrak kakao yang kaya akan polifenol dengan dosis sebesar 500 mg/kgBB atau 0,5 mg/gBB efektif menurunkan kerusakan jaringan kolon akibat proses inflamasi pada kolitis ulseratif akut (Andujar *et al.*, 2011).

Berdasarkan uraian di atas, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit kakao tidak dapat menurunkan *licking time* fase pertama mencit secara signifikan, namun menunjukkan persentase inhibisi yang lebih besar dari kelompok K(+), yaitu sebesar 68,75%. Oleh karena itu, ekstrak kulit kakao dapat dikembangkan dalam penelitian lebih lanjut mengenai efektivitasnya sebagai analgesik yang bekerja pada respons nyeri fase neurogenik dan dibandingkan dengan obat yang memiliki efek dominan pada nyeri sentral, misalnya morfin sebagai kontrol positif. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak kulit kakao dapat menurunkan respons nyeri fase inflamasi secara signifikan dengan persentase inhibisi sebesar 94,052%. Oleh karena itu, ekstrak kulit kakao dapat dikembangkan dalam penelitian lebih lanjut mengenai efektivitasnya sebagai analgesik yang dikombinasikan dengan obat NSAID, misalnya natrium diklofenak.

Kelemahan penelitian ini adalah keterbatasan jumlah pengamat sehingga dalam waktu bersamaan satu pengamat mengamati dua kelompok perlakuan yang berbeda. Kelemahan lain dalam penelitian ini adalah pengeringan kulit dilakukan dalam waktu yang cukup lama, yaitu 5 hari karena kondisi kulit yang memiliki banyak kandungan air.

### Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat menurunkan *licking time* fase kedua mencit yang diinduksi formalin secara signifikan, namun tidak menurunkan *licking time* fase pertama secara signifikan.

Penelitian selanjutnya yang perlu dilakukan adalah penelitian mengenai efektivitas ekstrak kulit kakao

(*Theobroma cacao* L.) sebagai analgesik, khususnya terhadap *licking time* fase pertama mencit yang diinduksi formalin dengan menggunakan morfin sebagai kontrol positif. Penelitian terkait efektivitas ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dikombinasikan dengan natrium diklofenak juga perlu dilakukan.

### Daftar Pustaka

- Andújar MI *et al.* 2011. Inhibition of ulcerative colitis in mice after oral administration of a polyphenol-enriched cocoa extract is mediated by the inhibition of STAT1 and STAT3 phosphorylation in colon cells. *J. Agric. Food Chem.* 59: 6474–6483.
- Arzi A, B Ghorbanzadeh, dan ZN Khorasgani. 2012. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of Iranian Green tea in the formalin test in rats. *Jundishapur Journal of Natural.* 8(1): 10-14.
- Chang HY *et al.* 2009. Analgesic effects and the mechanisms of anti-inflammation of hispolon in mice. *Hindawi Publishing Corporation.* 2010: 1-8.
- Departemen Perindustrian. 2007. *Gambaran Sekilas Industri Kakao*. Jakarta Selatan: DEPPERIN Jakarta.
- DeRuiter J. 2002. Principles of drug action. 2<sup>nd</sup> ed. *Fall.* 1-25.
- Dorland WAN. 2012. *Dorland's pocket Medical Dictionary*. Twenty Eighth Edition. Michigan: Elsevier. Terjemahan oleh A. A. Mahode. 2012. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Hasani AS *et al.* 2011. Preemptive analgesic effect of diclofenac: Experimental study in rats. *M.E.J. Anesth.* 21(3): 355-359.
- Hassani *et al.* 2015. Effects of silymarin on neuropathic pain and formalin induced nociception in mice. *Iranian Journal of Basic Medical Science.* 18: 715-720.
- Jakaria M *et al.* 2015. Investigations of analgesic activity of the methanol extract of *haldina*

- cordifolia* (Roxb.) bark by using *in vivo* animal model studies. *Research Journal of Botany*. 10(3): 98-103.
- Kim KH *et al.* 2003. Extraction and fractionation of glucosyltransferase inhibitors from cacao bean husk. *Elsevier*. 39 (2004) 2043-2046.
- Kumari IPNP dan DC Abeysinghe. 2011. Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Beans, Bean Husks, and Pod husks of Cocoa (*Theobroma cacao L.*). *Proceedings of 11th Agricultural Research Symposium*. 362-366.
- Lopes LS *et al.* 2010. Antinociceptive effect on mice of the hydroalcoholic fraction and (-)epicatechin obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 43(12): 1184-1192.
- Price SA dan LM Wilson. 2006. *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. Sixth Edition. Michigan: Elsevier. Terjemahan oleh B. U. Pedit, H. Hartanto, P. Wulansari, dan D. A. Mahanani. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Ribeiro FAP, WA Verri, dan IM Chiu. 2016. Nociceptor sensory neuron-immune interactions in pain and inflammation. *Trends in Immunology*. 1-6.
- Santosa BP dan Ashari. 2005. *Analisis Statistik dengan Microsoft Excel & SPSS*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Shibata M *et al.* 1989. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*. 38(3): 347-352.
- Syarif A *et al.* 2012. *Farmakologi dan Terapi*. 5<sup>th</sup> ed. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Wahyudi T, TR Panggabean, dan Pujiyanto. 2008. *Panduan Lengkap Kakao*. Jakarta: Penebar Swadaya.