

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL
ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) DENGAN METODE *TAIL FLICK***



Oleh :

Sukini
20144225A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL
ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) DENGAN METODE *TAIL FLICK***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Sukini
20144225A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul :

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL
ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) DENGAN METODE *TAIL FLICK***

Oleh :

Sukini
20144225A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2018

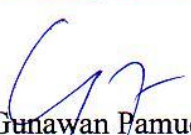
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



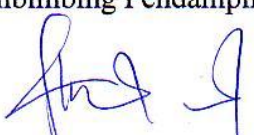
Dekan

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama,


Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,


Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt

Penguji :


1. Dr. Jason Merari P, S.Si., MM., M.Si., Apt

2. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt

3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

4. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt

1) .....

2) .....

3) .....

4) .....

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Man Jadda Wajada, Man Shabara Zhafira, Man Sara Ala Darbi Washala
Siapa yang bersungguh-sungguh pasti berhasil, Siapa yang bersabar pasti beruntung,
Siapa yang menapaki jalan-Nya akan sampai ke tujuan” **(Imam Al Ghoziy)**

“Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki
ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akhirat, maka wajib baginya
memiliki ilmu dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya
memiliki ilmu” **(HR. Turmudzi)**

Karya ini saya persembahkan untuk :

1. Ibu saya Sukasih dan Bapak saya Sukar tercinta yang telah membesarkanku dan mengasihiku dari kecil hingga saat ini, hanya ucapan terima kasih yang setulusnya tersirat di hati yang ingin ku sampaikan atas segala usaha dan jerih payah pengorbanan untuk anakmu selama ini. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat ibu dan bapak bahagia. Dan untuk kakak saya Sukiyono, Suwondo, dan Lisnawati tiada yang paling membahagiakan selain saat berkumpul bersama kalian, terima kasih atas do'a dan semangat yang diberikan selama ini, aku akan selalu berusaha menjadi adik yang terbaik. Keluarga besarku yang telah mendukung dan mendo'akan saya. Terlebih Pak totok, Ibu sumarti, Rachel terimakasih segala bentuk perhatiannya. Mbah sakiyah, mbah sini, mas Anto, bu dhe, pak dhe, om tante semuanya terima kasih dukungannya.
2. Sahabat terbaik ku “Bidadari Surga” Desi, Hilda, Zainab, Icha, Ani, Febrilia, Farha, Putri, Rizki dan sahabat kos wisma java Retno, Lika terima kasih semangat, do'a dan motivasi. Terima kasih telah mendengarkan keluh kesahku, kalianlah sahabat sejati yang hebat.
3. Sahabat-sahabat lama ku di Blora Umi, Ristanti, Rozak, Roy, Pipin, Musya, Kiki. Dan sahabat baru ku di Solo Nova, Cholib, Arin.
4. Teman-teman angkatan 2014 Universitas Setia Budi. Khususnya FKK 1.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah tulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademik maupun hukum.

Surakarta, 28 Juni 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Sukini', with a small 'K' and the number '27' written below it.

Sukini

KATA PENGANTAR

Assalamu alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam tetap tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW beserta pengikutnya.

Skripsi ini berjudul “**Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol, Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Metode *Tail Flick*”**. yang disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar derajat Sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Saya harapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional khususnya.

Keberhasilan penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang tulus kepada :

1. Allah SWT
2. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. Dr. RA. Oetari, S.U., MM., MSc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Dr. Gunawan Pamuji W, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama dan Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Staf perpustakaan dan staf laboratorium USB yang telah memberikan izin penelitian dan banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	6
1. Sistematika	6
2. Sinonim	6
3. Morfologi	6
4. Kandungan kimia	7
5. Khasiat kulit buah manggis	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Pengumpulan sampel	9
3. Pemilihan sampel	9
4. Pengeringan simplisia	9
C. Ekstraksi dan Fraksinasi	9
1. Ekstraksi	9

1.1	Pengertian ekstrak dan ekstraksi.....	9
1.2	Metode ekstraksi	10
2.	Pelarut.....	11
3.	Fraksinasi.....	12
D.	Nyeri.....	13
1.	Pengertian nyeri	13
2.	Etiologi dan patofisiologi nyeri.....	15
3.	Jenis rangsangan dan reseptor nyeri.....	15
3.1	Stimulasi.	15
3.2	Transmisi.	15
3.3	Persepsi nyeri.	15
3.4	Modulasi.	16
4.	Ambang dan toleransi nyeri.....	16
5.	Klasifikasi nyeri	17
5.1	Nyeri akut	17
5.2	Nyeri kronik.....	17
6.	Obat-obat analgesik.....	17
6.1	Analgetik nonopiod.....	17
6.2	Analgetik opioid.....	17
7.	Asam mefenamat.....	18
8.	Metabolit sekunder tanaman berpotensi analgesik	18
8.1	Flavonoid	18
8.2	Alkaloid.	19
8.3	Xanton.	19
E.	Hewan Uji.....	19
1.	Sistematika hewan.....	20
2.	Biologis mencit	20
3.	Reproduksi mencit.....	20
4.	Karakteristik mencit	20
5.	Jenis kelamin.....	21
6.	Pengambilan dan pemegangan.....	21
F.	Uji Aktivitas Analgetik	21
1.	Rangsangan panas	21
1.1	Metode Woolfe-Mac Donald	21
1.2	Metode Eddy-Leimbach	22
1.3	Metode Grotto Sulman	22
1.4	Metode jentik ekor D'Amour dan Smith atau <i>rat tail flick test</i>	22
2.	Rangsangan tekan (Rendall dan Selito).....	22
3.	Rangsangan listrik (Nielsen).....	22
4.	Rangsangan zat kimia (Siegmond).....	23
G.	Landasan Teori.....	23
H.	Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN		27
A.	Populasi dan Sampel	27

B.	Variabel Penelitian	27
1.	Identifikasi variabel utama	27
2.	Klasifikasi variabel utama	27
2.1	Variabel bebas.....	27
2.2	Variabel tergantung.....	28
2.3	Variabel kendali.....	28
3.	Definisi operasional variabel utama	28
C.	Bahan, Alat, dan Hewan Uji	29
1.	Bahan.....	29
2.	Alat.....	29
3.	Hewan Uji.....	29
D.	Jalannya Penelitian.....	30
1.	Pengambilan bahan	30
2.	Determinasi tanaman	30
3.	Pembuatan serbuk kulit buah manggis	30
4.	Pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis.....	30
5.	Penetapan susut pengeringan	31
6.	Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak kulit buah manggis.....	31
7.	Penetapan bobot jenis ekstrak.....	31
8.	Fraksinasi ekstrak etanol kulit buah manggis	32
9.	Uji kualitatif kandungan senyawa serbuk dan ekstrak kulit buah manggis	34
9.1	Fenolik.....	34
9.2	Flavonoid.....	34
9.3	Tanin.....	34
9.4	Alkaloid.....	34
9.5	Saponin.....	34
9.6	Steroid dan Terpenoid.....	35
10.	Identifikasi golongan senyawa dengan KLT	35
10.1	Flavonoid.....	35
10.2	Tanin.....	35
10.3	Alkaloid.....	35
10.4	Saponin.....	36
10.5	Steroid dan Terpenoid.....	36
10.6	Xanton.....	36
11.	Persiapan pengujian analgesik secara in vivo	36
11.1	CMC-Na 0,5%.....	36
11.2	Suspensi asam mefenamat.....	37
11.3	Pembuatan suspensi ekstrak dan fraksi.....	37
12.	Perhitungan dosis	37
12.1	Dosis asam mefenamat.....	37
13.	Uji aktivitas analgesik	38
14.	Perhitungan daya analgesik	40
E.	Analisis Data.....	40

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
A.	Hasil Determinasi dan Identifikasi Kulit Buah Manggis	42
1.	Determinasi tanaman	42
2.	Deskripsi tanaman	42
B.	Hasil Pembuatan Serbuk Kulit Buah Manggis	43
C.	Hasil Penetapan Susut Pengerinan Serbuk Kulit Buah Manggis	43
D.	Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Manggis	44
E.	Ekstraksi dan Fraksinasi Kulit Buah Manggis.....	45
1.	Hasil pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis.....	45
2.	Penetapan susut pengeringan ekstrak	45
3.	Penetapan kadar air ekstrak	46
4.	Hasil penetapan bobot jenis ekstrak etanol kulit buah manggis.....	46
5.	Hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit buah manggis.....	47
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak dengan reaksi warna	47
7.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi secara KLT.....	48
7.1	Flavonoid.	49
7.2	Alkaloid.	49
7.3	Tanin.	49
7.4	Saponin.	49
7.5	Steroid/Terpenoid.....	49
7.6	Xanton.	50
F.	Uji Efek Analgesik Ekstrak, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air	50
1.	Hasil penetapan dosis efektif ekstrak	50
2.	Pengujian aktivitas analgesik.....	51
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	59
A.	Kesimpulan	59
B.	Saran.....	59
	DAFTAR PUSTAKA	60
	LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	7
Gambar 2. Mekanisme terjadinya nyeri	16
Gambar 3. Struktur Asam mefenamat	18
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak dan fraksinasi kulit buah manggis	34
Gambar 5. Skema uji analgesik ekstrak dan fraksi.....	39
Gambar 6. Data rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas vs waktu pada ekstrak.....	53
Gambar 7. Data-rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas vs waktu pada fraksi.....	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kelompok pelakuan hewan uji untuk ekstrak	38
Tabel 2. Kelompok pelakuan hewan uji untuk fraksi.....	38
Tabel 3. Rendemen berat kulit buah manggis kering terhadap berat kulit buah manggis basah.....	43
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk kulit buah manggis	44
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis	44
Tabel 6. Hasil rendemen ekstrak etanol kulit buah manggis	45
Tabel 7. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak kulit buah manggis	46
Tabel 8. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol kulit buah manggis	46
Tabel 9. Hasil penetapan berat jenis ekstrak kulit buah manggis	47
Tabel 10. Hasil fraksinasi ekstrak kulit buah manggis.....	47
Tabel 11. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol kulit buah manggis.....	48
Tabel 12. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi-fraksi secara KLT	48
Tabel 13. Hasil penetapan dosis efektif ekstrak etanol kulit buah manggis.....	50
Tabel 14. Data nilai AUC pada kelompok perlakuan	55
Tabel 15. Persentase hambatan nyeri pada kelompok perlakuan	55

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Tanaman	69
Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji	70
Lampiran 3. Surat Kelayakan Hewan Uji	71
Lampiran 4. Foto Jalannya Penelitian.....	72
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	74
Lampiran 6. Penetapan Susut pengeringan Serbuk dan Ekstrak	75
Lampiran 7. Perhitungan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak	76
Lampiran 8. Penetapan Berat Jenis Ekstrak	77
Lampiran 9. Skrinning fitokimia serbuk & ekstrak dengan metode tabung	78
Lampiran 10. Hasil Pengujian dengan menggunakan KLT	80
Lampiran 11. Perhitungan dosis ekstrak dan fraksi pada hewan uji.....	85
Lampiran 12. Perhitungan Volume Pemberian untuk Mencit.....	89
Lampiran 13. Data hasil orientasi dosis efektif.....	90
Lampiran 14. Hasil uji analgesik ekstrak dan fraksi kulit buah manggis	92
Lampiran 15. Data AUC	94
Lampiran 16. Hasil prosentase hambatan nyeri	95
Lampiran 17. Uji statistik nilai AUC seluruh kelompok uji selama 3 jam pada orientasi dosis efektif ekstrak.	96
Lampiran 18. Uji statistik AUC seluruh kelompok uji selama 3 jam pada ekstrak dan fraksi.	99
Lampiran 19. Uji statistik persen hambat nyeri seluruh kelompok uji selama 3 jam.	102
Lampiran 20. Uji statistik persen hambat nyeri seluruh kelompok uji selama 3jam pada fraksi.....	104

DAFTAR SINGKATAN

NSAIDs	<i>Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs</i>
OHT	<i>Obat Herbal Terstandar</i>
SSP	<i>Susunan Saraf Pusat</i>
COX	<i>Cyclooxygenase</i>
KLT	<i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
GF ₂₅₄	<i>Gypsum Fluororesence</i>
UV	<i>Ultra Violet</i>
LB	<i>Lieberman Bourchard</i>
Rf	<i>Retension Factor</i>
Mg	<i>Magnesium</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
Na CMC	<i>Natrium Carboxy Methyl Celullosa</i>

INTISARI

SUKINI., 2018, UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) DENGAN METODE *TAIL FLICK*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Nyeri merupakan suatu pengalaman sensorik maupun emosional yang berkaitan dengan kerusakan jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek analgesik ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol kulit buah manggis dan mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas analgesik yang paling baik.

Serbuk kulit buah manggis dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Uji aktivitas analgesik menggunakan metode *tail flick* menggunakan 40 ekor mencit putih jantan galur balb/c yang dibagi menjadi 8 kelompok yaitu kontrol negatif (CMC Na), kontrol pembanding (Asam mefenamat 65 mg/kg BB), ekstrak etanol kulit buah manggis (dosis 70 mg/kg BB, dosis 140 mg/kg BB, dan dosis 280 mg/kg BB), fraksi *n*-heksana (dosis 7,14 mg/kg BB), fraksi etil asetat (dosis 88,41 mg/kg BB), fraksi air (dosis 184,45 mg/kg BB). Pengamatan dilakukan tiap 30 menit selama 3 jam setelah induksi oral. Analisis data menggunakan uji *Shapiro-wilk* lalu uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji *posthoc* LSD.

Hasil Penghambatan nyeri ekstrak etanol (dosis 70 mg 48,41%, dosis 140 mg 44,51%, dan dosis 280 mg 69,88%), asmev sebesar 75,75 %, fraksi *n*-heksan 51,01%, etil asetat 74,99%, dan fraksi air 67,68%. Hasil uji penelitian kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan kontrol negatif, tetapi fraksi etil asetat tidak berbeda signifikan dengan kontrol pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi mempunyai aktivitas analgesik dan fraksi etil asetat yang mempunyai aktivitas analgesik paling baik.

Kata kunci: kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.), ekstrak, fraksi, analgesik, metode *tail flick*.

ABSTRACT

SUKINI., 2018, TEST OF ANALGESIC ACTIVITY OF ETANOLIC EXTRACT, *n*-HEXANE FRACTIONS, ETHYL ACETATE, AND WATER FRACTIONS FROM ETANOLIC EXTRACT MANGOSTEEN FRUIT RIND (*Garcinia mangostana* L.) WITH *TAIL FLICK* METHOD, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Pain is defined as a sensory and emotional experience that not associated with tissue damage. This aims of this research were to determine analgesic effects of etanolic extract, *n*-hexane fractions, ethyl acetate, and water fractions from etanolic extract mangosteen rind and determine showed most good analgesic activity from fractions.

Mangosteen rind powder was extracted by maceration method used 96% ethanol solvent and the fractionation used *n*-hexane, ethyl acetate and water solvent. This research with *tail flick* metod used 40 male with mice strain balb/c divided in 6 groups, negative control (CMC Na), comparison control (mefenamic acid 65 mg/kg BW), etanolic extract mangosteen rind (dose 70 mg/kg BW, dose 140 mg/kg BW, and dose 280 mg/kg BW), *n*-hexane fractions (dose 7,14 mg/kg BW), ethyl acetate fractions (dose 88,41 mg/kg BW), water fractions (dose 184,45 mg/kg BW). In this research the measured every thirty minutes until 3 hours after orally. Data analysis used *Shapiro-wilk* test and *one-way* ANOVA test and continued with LSD poshoc test.

The result of pain inhibition, ethanol extract (dose 70 mg 48,41%, dose 140 mg 44,51%, and 280 mg 69,88%), asmef 75,75% fraction of *n*-heksan 51,01%, ethyl acetate 74,99%, and water fraction 67,68%. The results of this research all group was different significantly compared to negative control, but ethyl acetate fractions was not different significantly compared to comparison control. It was indicated etanolic extract and fractions have analgesic activity and ethyl acetate fractions showed most good analgesic activity.

Keywords: mangosteen fruit rind (*Garcinia mangostana* L.), extract, fraction, analgesic, *tail flick* method.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

International Assosiation for the Study of Pain (IASP) mendefinisikan nyeri sebagai perasaan yang tidak menyenangkan dan pengalaman emosional yang ditandai dengan potensi kerusakan jaringan. Rasa nyeri merupakan stresor yang dapat menimbulkan stress dan ketegangan dimana individu dapat berespon secara biologi dan perilaku yang menimbulkan respon fisik dan psikis. Respon fisik meliputi perubahan keadaan umum, wajah, denyut nadi, pernafasan, suhu badan, sikap badan, dan apabila nafas makin berat dapat menyebabkan kolaps kardiovaskuler dan syok, sedangkan respon psikis akibat nyeri dapat merangsang respon stress yang dapat mengurangi sistem imun dalam peradangan, serta menghambat penyembuhan respon yang lebih parah akan mengarah pada ancaman merusak diri sendiri (Priliana 2014). Nyeri juga merupakan penyebab salah satu aspek dalam bidang medis dan menjadi penyebab tersering yang mendorong seseorang untuk mencari pengobatan (Hartwig dan Wilson 2012).

Pemberian obat analgesik *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAIDs) sering digunakan untuk mengobati gejala nyeri dan inflamasi, namun pengobatan ini dapat disertai efek samping seperti kerusakan gastrointestinal dan disfungsi platelet (Aygün *et al.* 2012). Inhibisi sintesis prostaglandin oleh NSAIDs dalam mukosa gaster sering menyebabkan kerusakan gastrointestinal (dispepsia, mual, dan gastritis), adanya tukak pada gastrointestinal dan terjadi perdarahan (Dipiro 2008; Neal 2006). Dengan berbagai efek samping tersebut, maka pengobatan dengan menggunakan obat herbal atau jamu pun diharapkan masih menjadi alternatif pengobatan yang diharapkan memiliki efek samping yang lebih kecil. Sekarang ini, penggunaan obat tradisional semakin diminati karena maraknya gerakan kembali ke alam (*back to nature*). Kecenderungan untuk kembali ke alam membuat masyarakat memilih menggunakan obat alami yang diyakini tidak memiliki efek samping seperti obat kimia, dan harga yang lebih terjangkau daripada obat sintetik (Hernani 2011).

Salah satu tanaman yang telah lama dipergunakan oleh masyarakat sebagai bahan obat-obatan adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Kulit buah manggis merupakan tumbuhan dari famili Guttiferales yang telah dikenal luas. Secara tradisional kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) digunakan untuk mengobati kolesterol, penyakit jantung koroner, antikanker, rematik, antibakteri, antifungi, pewarna alami (Hariana 2013), antidiabetes (Pasaribu *et al.* 2012), antimalaria (Iqbal 2013) dan bahkan anti-HIV (Khare 2007), antiinflamasi (Prasetya 2013; Aditya *et al.* 2015; Lutfiyah *et al.* 2016), antikanker (Akao *et al.* 2008).

Kulit buah manggis di Thailand sudah menjadi ramuan tradisional turun temurun untuk mengobati infeksi pada kulit, luka, dan diare. Bahkan di negara maju seperti di Amerika Serikat, ekstrak dari kulit buah manggis sudah menjadi suplemen diet yang dianjurkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) atau Badan Pengawas Obat dan Makanan Pemerintah Amerika Serikat karena potensial sebagai antioksidan (Jung *et al.* 2006). Di Indonesia, ekstrak dari kulit buah manggis menjadi jamu dan obat herbal terstandar (OHT) seperti Garcia dan Mastin yang digunakan untuk penyakit jantung, diabetes, kanker, dan tumor (Hariana 2013).

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung sejumlah zat yang terkandung dan bermanfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah xanton. Xanton memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan yang kuat dan diduga dapat menghambat nyeri yang memiliki mekanisme yang sama dengan analgesik kimiawi (Cui *et al.* 2009), xanton juga menghambat jalur lipooksigenase serta senyawa lain seperti tanin dan katekin (golongan flavonoid) juga memiliki aktivitas antiinflamasi karena tanin dan katekin dapat menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotrien. Penekanan jumlah tersebut mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal yang akan berpengaruh pada migrasi sel-sel radang (Agni 2013). Selain xanton, kandungan

kimia yang terdapat dalam kulit buah manggis di antaranya saponin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan polifenol (Praptiwi & Poeloengan 2010; Dewi *et al.* 2012; Windarini *et al.* 2013). Flavonoid mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgesik, antialergik, dan antiviral (Kaloso *et al.* 2010). Flavanoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan cara bekerja terhadap reseptor khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (dikurangi) (Safitri 2013).

Penelitian ekstrak kulit buah manggis sebagai analgesik pernah dilakukan sebelumnya. Pengujian dilakukan pada ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan dosis 50 mg/kg memiliki aktivitas analgesik berdasarkan metode *hot plate* pada hewan uji mencit (Ponggele *et al.* 2013), dan dosis 100 mg/kg berdasarkan metode jentik ekor *Grotto Sulman*, pada dosis 50 mg/kg memiliki aktivitas antipiretik berdasarkan metode induksi vaksin DPT (*Difteri Pertusis Tetanus*) pada hewan uji tikus (Puspitaningrum *et al.* 2014). Pada pengujian isolat α -mangostin dan γ -mangostin dari ekstrak kulit buah manggis dengan dosis 25 mg dan 50 mg memiliki aktivitas analgesik dengan metode *hot plate* dan formalin test (Cui *et al.* 2009). Oleh karena itu peneliti ingin mengangkat permasalahan ini untuk dilakukan penelitian ke fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Diharapkan dengan fraksinasi ini dapat memisahkan senyawa yang ada dalam ekstrak etanol kulit buah manggis ke dalam kelompok yang nonpolar sampai polar.

Konfirmasi aktivitas analgetik dengan metode *rat tail flick* belum pernah dilakukan pada kulit buah manggis, karena penelitian sebelumnya menggunakan metode *hot plate test* dimana hewan coba ditempatkan pada papan panas dengan temperatur konstan dan disertai pengamatan aktivitas mencit terhadap rangsangan panas berupa jilatan pada kaki atau loncatan/gerakan mengangkat tubuh dan

menyebabkan observasi dan identifikasi respon hewan coba lebih sulit sehingga merupakan tes yang kurang konsisten (Eaton 2003), dan data standar deviasi yang diperoleh besar dikarenakan adanya kesulitan dalam pengamatan yang berupa gerakan-gerakan yang sangat kompleks dengan metode *hot plate test* sebagaimana alasan tersebut di atas (Bambang *et al.* 2008), sehingga diharapkan dengan metode *tail flick* dapat mengurangi kesalahan karena faktor peneliti. Hasil yang dicatat dalam metode *tail flick* adalah berupa waktu yang dibutuhkan hewan coba untuk bertahan pada rangsangan termal pada ekor hewan coba (temperatur 70⁰C), respon hewan coba yang terjadi adalah penarikan ekor hewan coba secara tiba-tiba atau mengibaskan ekor (Yusuf 2001).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki aktivitas analgesik yang dinyatakan dengan % hambat nyeri ?
2. Berapakah dosis ekstrak etanol yang dapat memberikan aktivitas analgesik yang baik pada mencit jantan (*Muss musculus*) ?
3. Apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki aktivitas analgesik yang dinyatakan dengan % hambat nyeri ?
4. Apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat, atau air ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang memiliki aktivitas analgesik paling baik dibandingkan ekstrak ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan :

1. Untuk mengetahui aktivitas analgesik ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang dinyatakan dengan % hambat nyeri.
2. Untuk mengetahui dosis ekstrak etanol yang dapat memberikan aktivitas analgesik yang baik pada mencit jantan (*Muss musculus*).

3. Untuk mengetahui aktivitas analgesik fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang dinyatakan dengan % hambat nyeri.
4. Untuk mengetahui fraksi *n*-heksana, etil asetat, atau air ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang memiliki aktivitas analgesik paling baik dibandingkan ekstrak.

D. Kegunaan Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi terutama untuk obat tradisional.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada seluruh lapisan masyarakat bahwa kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dapat digunakan sebagai analgesik (penghilang nyeri).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

1. Sistematika

Menurut Dalimarta (2003) tanaman manggis diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospremae
Sub kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Thalamiflora
Familia	: Guttiferales
Genus	: Guttiferae
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L.

2. Sinonim

Garcinia mangostana L. merupakan nama latin yang diberikan untuk tanaman manggis yaitu tanaman buah yang berasal dari hutan tropis di kawasan Asia Tenggara (Malaysia atau Indonesia). Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), manggis (Jawa), manggusto (Sulawesi Utara), mangustang (Maluku), dan manggih (Sumatra Barat) (Prihatman 2000).

3. Morfologi

Tanaman manggis merupakan tanaman tahunan yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan tahun. Pohon manggis selalu hijau dengan tinggi 6-20 meter. Manggis mempunyai batang tegak, batang pohon jelas, kulit batang coklat, dan memiliki getah kuning (Almeyda & Martin 1976). Daun manggis memiliki daun yang ringkas, tebal, berkilat, permukaan atas berwarna hijau, permukaan bawah berwarna hijau kekuningan, tangkai daun pendek, susunan bertentangan, panjang daun 15-25 cm, dan lebar 7-13 cm (Chooi 2004). Tanaman manggis memiliki bunga tunggal atau berpasangan diujung ranting, tangkai bunga pendek, dan tebal (Chooi 2004). Kelopak daun manggis dengan dua daun kelopak terluar berwarna

hijau kekuningan, dua yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, dan tumpul (Almeyda & Martin 1976). Buah manggis berbentuk bulat, diameter 6-8 cm, berwarna coklat keunguan. Bagian ujung buah terdapat juring berbentuk bintang yang menunjukkan segmen daging buah. Jumlah juring 4-8 buah. Daging buah berwarna putih dan bertekstur halus (Hadriyono 2011). Buah Manggis dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Manggis (*Garcinia mangostana* L.)
(Sumber : dokumentasi pribadi)

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) diantaranya adalah saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, dan polifenol (Praptiwi & Poeloengan 2010; Dewi et al. 2012; Windarini et al. 2013). Selain itu, kulit buah manggis mengandung senyawa xanton yang meliputi mangostin, mangostenol, mangostinon-A, mangostinon-B, trapezilolixanthone, tovophyllin-B, α -mangostin, β -mangostin, garcinon-B, mangostanol, flavonoid (epikatekin), dan gartanin. Xanton merupakan senyawa kimia alami yang tergolong polifenol atau senyawa aromatik sederhana golongan ini punya ciri adanya inti kerangka dibenzo γ -pyron (Abdalibrahim et al. 2012). Senyawa xanton yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah 1,3,6-trihidroksi-7-metoksi-

2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on dan 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-bis(3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on (Jinsart *et al.* 1992). Keduanya lebih dikenal dengan *alfa mangostin* dan *gamma mangostin*.

5. Khasiat kulit buah manggis

Secara tradisional kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) digunakan untuk mengobati kolesterol, penyakit jantung koroner, antikanker, rematik, antibakteri, antifungi, pewarna alami (Hariana 2013), antidiabetes (Pasaribu *et al.* 2012), antimalaria (Iqbal 2013), dan bahkan anti-HIV (Khare 2007), antiinflamasi (Prasetya 2013; Aditya *et al.* 2015; Lutfiyah *et al.* 2016), antikanker (Akao *et al.* 2008).

Kulit buah manggis di Thailand sudah menjadi ramuan tradisional turun temurun untuk mengobati infeksi pada kulit, luka dan diare. Bahkan di negara maju seperti di Amerika Serikat, ekstrak dari kulit buah manggis sudah menjadi suplemen diet yang dianjurkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) atau Badan Pengawas Obat dan Makanan Pemerintah Amerika Serikat karena potensial sebagai antioksidan (Jung *et al.* 2006). Di Indonesia, ekstrak dari kulit buah manggis menjadi jamu dan obat herbal terstandar (OHT) seperti Garcia dan mastin yang digunakan untuk penyakit jantung, diabetes, kanker, dan tumor (Hariana 2013).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia segar adalah bahan alam yang belum dikeringkan (Kemenkes RI 2013)

Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu pertama simplisia nabati berupa tanaman utuh, bagaian tanaman atau eksudat tanaman; kedua simplisia hewani adalah hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni; ketiga simplisia pelikan (mineral) yang

belum diolah dengan cara-cara yang sederhana dan belum berupa zat-zat kimia murni (Depkes RI 1979).

2. Pengumpulan sampel

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah kulit buah. Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda tergantung pada bagian yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat dipanen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh. Senyawa aktif yang terbentuk sangat erat dengan waktu panen (Depkes RI 1985).

3. Pemilihan sampel

Proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau tidak berbahaya dalam jumlah kecil atau besar yang biasanya merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpan bau, warnanya tidak boleh mengandung lendir, cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain, dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes RI 1985).

4. Pengeringan simplisia

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengurangan kadar air dalam menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang jasad renik lainnya (Depkes RI 1985).

C. Ekstraksi dan Fraksinasi

1. Ekstraksi

1.1 Pengertian ekstrak dan ekstraksi. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 2000). Ekstraksi merupakan pemindahan massa zat yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh

cairan penyari sehingga terjadi perpindahan larutan zat aktif ke dalam cairan penyarian. Metode penyarian yang digunakan tergantung dari wujud dan kandungan zat dari bahan tumbuhan yang di ekstraksi dan serta jenis senyawa yang diisolasi (Voigt 1994). Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavanoid, dan lain-lain. Diketuainya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Atikah 2013).

1.2 Metode ekstraksi. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu metode ekstraksi cara panas dan cara dingin. Cara panas antara lain metode refluks, destilasi uap air, digesti, infundasi, dan dekok. Sedangkan maserasi, perkolasi, dan soxhletasi merupakan ekstraksi secara dingin (Harbone 1987). Pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan (Harborne 1987). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi.

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk menyari bahan obat yang berupa serbuk simplisia halus (Voigt 1994). Teknik penyarian dengan metode maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dengan cairan penyari tertentu. Karena perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak ke luar. Peristiwa ini terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986).

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Cairan penyari yang biasa digunakan untuk maserasi adalah pelarut yang bersifat non polar, semipolar, dan polar. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan bentuk dan faktor cairan penyari yang

baik. Penyari harus memenuhi kriteria, yaitu murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif (hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki), dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes RI 1986).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaan yang lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 1986).

2. Pelarut

Beberapa pertimbangan yang penting dalam memilih pelarut adalah daya larutnya tinggi sehingga diperoleh senyawa yang diinginkan semaksimal mungkin dan pelarut tersebut tidak berbahaya atau tidak bersifat racun. Aspek lain yang menjadi pertimbangan jenis pelarut yang digunakan dalam pemisahan adalah tingkat kepolaran pelarut. Pelarut polar dapat melarutkan senyawa polar, sedangkan senyawa non polar akan melarutkan senyawa yang non polar (Pasto 1992).

Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dalam penarikan zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari atau pelarut ada tiga macam yaitu pelarut polar, semipolar, dan nonpolar. Contoh cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, dan air (List & Schamidt 2000).

Etanol 96% merupakan larutan penyari yang mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, selektif, tidak beracun, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Depkes 1986). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dapat dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voight 1995). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin,

antrakinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986).

n-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna, bersifat mudah terbakar, baunya khas, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter. Senyawa yang dapat larut dalam *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al* 2011).

Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna bau seperti buah. Etil asetat larut dalam 15 bagian air. Etil asetat dapat tercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Etil asetat adalah pelarut yang bersifat semipolar, mudah terbakar, dan menguap, maka penyimpanan sebaiknya dilakukan dalam wadah tertutup rapat serta terhindar dari panas. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakinon, dan xanton (Harborne 1987).

Air adalah pelarut serba guna. Kemampuan air dalam melarutkan zat tersimpan dalam polaritas yang dimiliki oleh air. Air dapat melarutkan zat-zat yang bersifat ionik dan polar saja (Tiwari *et al.* 2011). Air dimanfaatkan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, dan terbakar, tidak beracun serta alamiah. Air dapat melarutkan gula, gom, pati, protein, enzim, lender, lilin, lemak peptida, minyak menguap, garam alkaloid, zat warna, dan asam organik (Depkes 1986).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu golongan utama lain merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula akan disari dengan pelarut non polar, kemudian disari

dengan pelarut kurang polar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harborne 1987).

D. Nyeri

1. Pengertian nyeri

Nyeri adalah suatu kondisi yang tidak nyaman dan menyiksa bagi penderitanya, namun terkadang nyeri dapat digunakan sebagai tanda adanya kerusakan jaringan. Inflamasi merupakan manifestasi dari terjadinya kerusakan jaringan, dimana nyeri merupakan salah satu gejalanya. Karena dipandang merugikan maka inflamasi memerlukan obat untuk mengendalikannya (Esvandiary 2006).

Nyeri merupakan peradangan sensoris dan emosional yang tidak nyaman yang berkaitan dengan kerusakan jaringan. Keadaan psikis sangat mempengaruhi nyeri, misalnya emosi dapat menimbulkan sakit (kepala) atau memperhebatnya, tetapi dapat pula menghindarkan rangsangan dari nyeri. Nyeri merupakan suatu perasaan pribadi dan ambang toleransi nyeri berbeda-beda bagi setiap orang. Batas nyeri untuk suhu adalah konstan, yaitu pada 44-45⁰C (Tan & Rahardja 2013).

Rasa nyeri dalam kebanyakan hal hanya merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan di jaringan seperti peradangan (rematik, encok), infeksi jasad renik, atau kejang otot. Nyeri disebabkan oleh rangsangan mekanis, kimiawi, atau fisis (kalor, listrik), dan dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan. Rangsangan tersebut memicu pelepasan zat-zat tertentu yang disebut mediator nyeri (Tan & Rahardja 2013).

Berdasarkan durasinya, nyeri dapat diklasifikasikan sebagai nyeri akut (nosiseptif) dan nyeri kronis (neuropatik) (Hartwig & Wilson 2006; Sukandar *et al.* 2009). Nyeri akut (nosiseptif) merupakan nyeri somatik (sumber nyeri berasal dari kulit, tulang, sendi, otot, atau jaringan penghubung) atau viseral (berasal dari organ dalam seperti usus besar atau pankreas), yang berlangsung kurang dari 6 bulan. Perangsangan pada ujung saraf bebas yang dikenal dengan istilah nosiseptor merupakan tahap pertama yang mengawali timbulnya rasa nyeri

(Sukandar *et al.* 2009). Reseptor ini dapat ditemukan baik di struktur viseral ataupun somatik, serta teraktivasi oleh rangsangan mekanis, termal (panas) dan kimiawi. Pelepasan bradikinin, K^+ , prostaglandin, histamin, leukotrien, dan serotonin dapat menimbulkan kepekaan atau mengaktivasi nosiseptor (Sukandar *et al.* 2009).

Mekanisme terjadinya nyeri nosiseptif dapat dijelaskan dengan empat proses yaitu transduksi, transmisi, modulasi, dan persepsi. Transduksi adalah suatu proses rangsangan yang mengganggu, menyebabkan depolarisasi nosiseptor dan memicu stimulus nyeri. Transmisi nyeri melibatkan proses penyaluran impuls nyeri dari tempat transduksi melewati saraf perifer hingga sampai ke otak. Modulasi nyeri melibatkan aktivitas saraf melalui jalur-jalur saraf desendens dari otak yang dapat mempengaruhi transmisi nyeri. Modulasi juga melibatkan faktor-faktor kimiawi yang menimbulkan atau meningkatkan aktivitas di reseptor nyeri aferen primer. Persepsi nyeri adalah pengalaman subjektif nyeri yang dihasilkan oleh aktivitas transmisi nyeri oleh saraf (Hartwig & Wilson 2006).

Nyeri kronis (neuropatik) terjadi akibat pemrosesan input sensorik yang abnormal oleh sistem saraf pusat atau perifer, yang berlangsung selama 6 bulan atau lebih. Terdapat sejumlah besar sindroma nyeri neuropatik yang seringkali sulit diatasi, misalnya nyeri punggung bawah, neuropati diabetik, nyeri akibat kanker (Sukandar *et al.* 2009).

Nyeri akan muncul ketika rangsang mekanik, panas, kimia, atau listrik melalui nilai ambang nyeri. Ketika terjadi rangsang nyeri dan melampaui nilai ambang nyeri, maka akan terjadi kerusakan jaringan dan pelepasan mediator-mediator nyeri (Mutschler 1986). Mediator nyeri ini terdapat diseluruh jaringan dan organ tubuh, kecuali di susunan saraf pusat (SSP). Mediator-mediator nyeri yang juga disebut autocida ini antara lain histamin, prostaglandin, serotonin, bradikinin, dan leukotrien. Mediator nyeri ini dapat menyebabkan terjadinya reaksi peradangan, kejang-kejang, dan demam (Tjay dan Rahardja 2002).

Gambaran terapi nyeri terhadap rasa nyeri berdasarkan proses terjadinya nyeri, maka nyeri dapat diatasi dengan berbagai cara yaitu menghalangi pembentukan rangsangan dengan reseptor-reseptor nyeri perifer oleh analgesik

perifer atau oleh analgesik narkotika dengan anestesi lokal (Tjay dan Rahardja 2002).

2. Etiologi dan patofisiologi nyeri

Rasa nyeri disebabkan oleh rangsangan mekanik, fisik, atau kimiawi pada ujung saraf perifer. Rangsang tersebut dihantarkan oleh serabut saraf jenis A delta dan C. Serabut A delta berjalan cepat (6 sampai 30 m / detik) menstimulasi rasa nyeri yang tajam melalui neuron jumlah kecil. Sedangkan serabut C berjalan lambat (0,5 sampai 2 menit / detik) menstimulasi rasa nyeri yang dalam melalui neuron dalam jumlah banyak. Substansi gelatinosa yang terletak di medulla spinalis adalah tempat pertama yang mempengaruhi, menekan, merubah, impuls rasa nyeri sebelum menerima pengaruh dari memberitahukan lokasi nyeri, sebagian lagi masuk ke batang otak. Masing-masing mengumpulkan analisa kemudian, bertindak terhadap rasa nyeri dalam keadaan sadar (Mutschler 1991).

3. Jenis rangsangan dan reseptor nyeri

Mekanik dengan reseptor nyeri mekanosensitif contohnya akibat stress mekanik, suhu dengan reseptor termosensitif contohnya panas, dingin, selain itu ada kimia dengan reseptor nyeri kemosensitif contohnya ion kalium, asam, enzim proteolitik. Proses penghantaran nyeri terdiri atas 4 tahap (Hartwigh & Wilson 2006; Dipiro *et al.* 2008) yaitu :

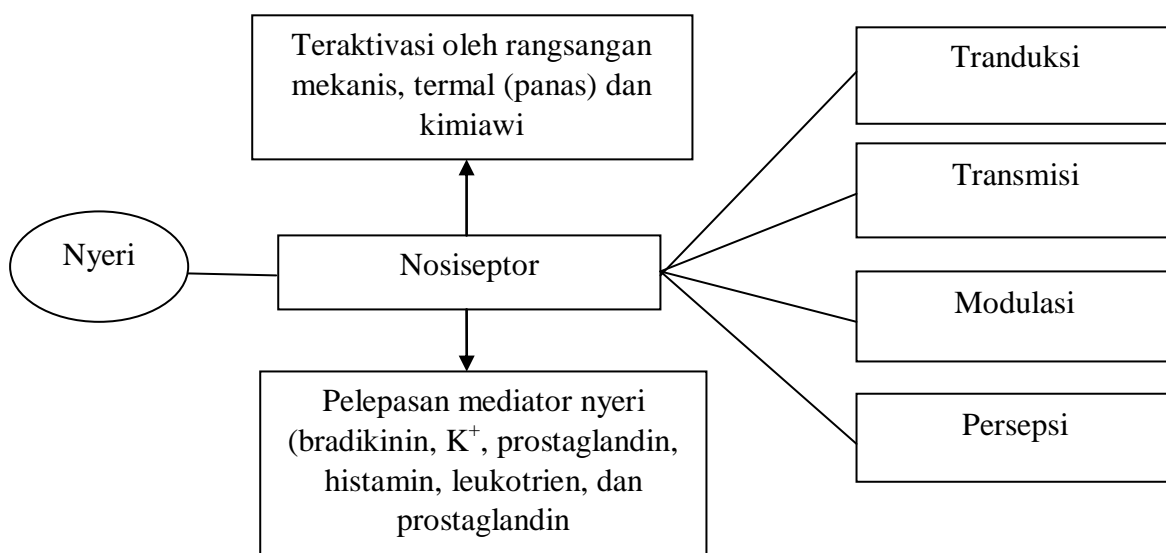
3.1 Stimulasi. Sensasi nyeri diawali dengan pembebasan reseptor nyeri akibat rangsangan mekanis, panas, dan kimia. Adanya rangsangan tersebut (*Noxious stimuli*) akan menyebabkan lepasnya bradikinin, K^+ , prostaglandin, histamin, leukotrien, serotonin, dan substansi P. Aktivasi reseptor ini menimbulkan aksi potensial yang ditransmisikan sepanjang serabut aferen menuju sum-sum tulang belakang.

3.2 Transmisi. Transmisi rangsang nyeri terjadi di serabut aferen A δ dan C. Serabut saraf aferen tersebut merangsang serabut di berbagai lamina spinal cord's dorsal horn melepaskan berbagai neurotransmitter termasuk glutamat, substansi P, dan kalsitonin.

3.3 Persepsi nyeri. Persepsi nyeri titik utama transmisi impuls nyeri. Otak akan mengartikan sinyal nyeri dengan batas tertentu, sedangkan fungsi

kognitif dan tingkah laku akan memodifikasi nyeri sehingga tidak lebih parah. Relaksasi, pengalihan, meditasi dapat mengurangi rasa nyeri. Sebaliknya perubahan biokimia saraf yang terjadi pada keadaan seperti depresi dan stress dapat memperparah rasa nyeri.

3.4 Modulasi. Modulasi nyeri melalui sejumlah proses yang kompleks. Diketahui bahwa sistem opiat endogen terdiri atas neurotransmitter-neurotransmitter (seperti enkefalin, dinorfin, β -endorfin, dan reseptor-reseptor (seperti μ , δ , dan κ) yang ditemukan dalam system saraf pusat. Opioid endogen berikatan dengan reseptor opioid dan menghantarkan transmisi rangsang nyeri.



Gambar 2. Mekanisme terjadinya nyeri (Hartwig & Wilson 2006).

4. Ambang dan toleransi nyeri

Ambang nyeri adalah tingkat yang pertama kali dipersepsikan sebagai nyeri. Secara umum, manusia memiliki ambang nyeri yang sama. Ambang nyeri individu sedikit bervariasi sepanjang waktu (Corwin 2009).

Toleransi nyeri adalah kemampuan individu untuk menahan stimulus nyeri tanpa memperlihatkan tanda fisik nyeri. Toleransi nyeri bergantung pada pengalaman sebelumnya, harapan budaya, keluarga, dan peran serta keadaan emosi dan fisik individu saat ini. Faktor yang menurunkan toleransi nyeri antara lain adalah pajanan berulang nyeri, kelelahan, kekurangan tidur, rasa cemas, dan

ketakutan, keadaan hangat, dingin, konsumsi alkohol dan hipnosis meningkatkan toleransi nyeri (Corwin 2009; Hartwig & Wilson 2006).

5. Klasifikasi nyeri

5.1 Nyeri akut. Umumnya nyeri akut terjadi beberapa saat setelah terjadi lesi atau trauma jaringan dan berlangsung singkat (kurang dari 6 bulan) dan menghilang apabila faktor internal atau eksternal yang merangsang reseptor nyeri dihilangkan dan biasanya cepat membaik setelah diberi obat pengurang rasa sakit (Hartwig & Wilson 2006).

5.2 Nyeri kronik. Umumnya nyeri kronis berhubungan dengan terjadinya lesi jaringan bersifat permanen atau dapat sebagai kelanjutan dari nyeri akut yang tidak ditangani dengan baik dan nyeri kronis merupakan nyeri yang menetap selama 6 bulan atau lebih (Hartwig & Wilson 2006).

6. Obat-obat analgesik

Analgesik adalah senyawa yang pada dosis terapi mengurangi rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (Mutschler 1991). Analgesik menurut potensi kerjanya dapat dibagi dalam dua golongan besar yaitu analgetik Nonopiod dan analgetik Opioid (Wilmana & Gan 2007).

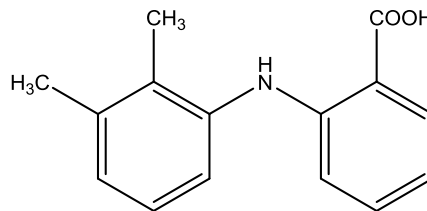
6.1 Analgetik nonopiod. Obat opioid, antipiretik serta obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) merupakan analgesik non opiod yang mampu meredakan atau menghilangkan rasa nyeri dan tidak menyebabkan adiksi. Obat-obat ini merupakan suatu kelompok obat yang heterogen secara kimia. Walaupun demikian, obat-obat ini memiliki banyak persamaan efek terapi maupun efek samping. Prototip obat golongan ini adalah asetaminofen, asam asetilsalisilat (aspirin atau acetosal), ibuprofen, indometasin, piroksikam, naproksen, asam mefenamat, diklofenak (Wilmana & Gan 2007). Obat analgesik non opiod digunakan untuk mengobati nyeri ringan sampai sedang (Bauman 2005).

6.2 Analgetik opioid. Kelompok obat yang memiliki sifat analgesik dan seperti opium disebut analgesik opioid. Opium berasal dari getah muda *Papaver somniferum* L. yang mengandung sekitar 20 jenis alkaloid diantaranya morfin, heroin, kodein, tebain, dan papaverin. Golongan opioid meliputi alkaloid opium, derivat semisintetik alkaloid, opium, senyawa sintetik dengan sifat farmakologi menyerupai opium (Dewoto 2007).

Analgesik opioid terutama digunakan untuk meredakan atau menghilangkan rasa nyeri, tetapi dapat menimbulkan adiksi. Selain itu memperlihatkan berbagai efek farmakodinamik yang lain (Dewoto 2007). Zat-zat ini memiliki daya menghalangi nyeri yang kuat sekali dengan titik kerja yang terletak di SSP sehingga disebut juga analgetik kuat (hipoanalgesik). Umumnya analgetik sentral ini dapat mengurangi kesadaran (sifat meredakan dan menidurkan), mengakibatkan toleransi dan kebiasaan serta ketergantungan fisik dan psikis (Tjay dan Kirana 2002; Mustchler 1991).

7. Asam mefenamat

Struktur asam mefenamat dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Struktur Asam mefenamat (Tjay & Rahardja 2007)

Asam mefenamat merupakan senyawa fenamat yang mempunyai sifat anti radang dan analgetik. Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat sintesa prostaglandin dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2). Obat ini diabsorpsi cepat dan mempunyai durasi kerja pendek. Pada manusia, sekitar 50% dosis asam mefenamat dieksresikan dalam urin, terutama sebagai metabolit 3-hidroksimetil dan 3-karboksil dan konjugasinya. Sekitar 20% obat ditemukan dalam feses, terutama sebagai metabolit 3-karboksil tidak terkonjugasi (Goodman & Gilman 2007). Asam mefenamat berbentuk serbuk hablur, putih atau hampir putih, melebur pada suhu lebih kurang 230⁰C selama 4 jam sebelum digunakan (Depkes RI 1995).

Efek samping yang kemungkinan terjadi secara umum dalam penggunaan asam mefenamat adalah gangguan lambung dan usus. Asam mefenamat dikontraindikasikan pada kehamilan, tetapi belum dibuktikan keamanan penggunaannya pada anak kecil (Tjay & Rahardja 2007).

8. Metabolit sekunder tanaman berpotensi analgesik

8.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan C6-C3-

C6, artinya kerangka karbon terdiri atas 2 gugus C6 yang disambungkan oleh rantai alifatik 3 karbon. Flavonoid merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, dan aseton (Robinson 1995). Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah local sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013).

8.2 Alkaloid. Alkaloid merupakan bahan heterosiklik yang mengandung nitrogen. Kegunaan alkaloid untuk meredakan nyeri dan sebagai stimulan. Mekanisme kerja alkaloid dalam memberikan efek analgesik adalah dengan cara bekerja terhadap reseptor khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri, dan respon emosional terhadap nyeri berkurang (Safitri 2013).

8.3 Xanton. Xanton adalah substansi kimia alami yang tergolong senyawa *phenol* atau *polyphenolic* dengan struktur cincin segi enam dengan ikatan karbon kembar sehingga bersifat polar (Miryanti *et al.* 2012). Xanton dapat menghambat jalur lipooksigenase serta senyawa lain seperti tanin dan katekin (golongan flavonoid) juga memiliki aktivitas antiinflamasi karena tanin dan katekin dapat menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase yang pada akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotrien. Penekanan jumlah tersebut mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal yang akan berpengaruh pada migrasi sel-sel radang (Agni 2013).

E. Hewan Uji

Hewan uji adalah setiap jenis hewan yang dipelihara secara intensif di laboratorium dan digunakan dalam penelitian biologis maupun biomedis (Smith & Mangkoewidjono 1988). Hewan yang digunakan penelitian harus memenuhi standar dasar yang diperlukan sebagai hewan percobaan.

1. Sistematika hewan

Sistematika mencit menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Placentalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Mus
Jenis	: <i>Muss musculus</i>

2. Biologis mencit

Banyak peneliti yang menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Hewan yang dibutuhkan untuk penelitian di laboratorium ataupun hewan piaraan adalah hewan yang mempunyai karakteristik produksi cepat, mudah dipelihara, dengan biaya murah dan dengan cara penanganan yang mudah. Mencit adalah salah satu hewan yang banyak digunakan dilaboratorium karena memiliki anatomi yang mirip dengan mamalia dan beberapa keunggulan dari mencit antara lain mudah dalam penanganan, siklus hidup pendek, pengadaan hewan ini tidak sulit dan dapat dipelihara dalam kandang yang terbuat dari bahan yang relatif lebih murah, meskipun hewan ini lebih rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus, kuman, jamur, dan cacingan (Malole dan Pramono 1989).

3. Reproduksi mencit

Lama bunting 19-21 hari, umur disapih 21 hari, umur dewasa 35 hari. Umur dikawinkan 8 minggu, berat dewasa jantan 20-40 gram, betina 18-35 gram, berat lahir 0,5-1,0 gram, jumlah anak rata-rata 6-15 ekor, kecepatan tumbuh 1 gram/ hari. Siklus estrus 4-5 hari, perkawinan pada waktu estrus, fertilisasi 2 jam setelah kawin, aktivitas malam (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

4. Karakteristik mencit

Mencit termasuk ke dalam golongan hewan *omnivora*, sehingga mencit dapat memakan semua jenis makanan. Mencit juga termasuk hewan *noctural*,

yaitu aktivitas hidupnya (seperti aktivitas makan dan minum) lebih banyak terjadi pada sore dan malam hari (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

Mencit putih hidup dalam daerah yang cukup luas penyebarannya, mulai dari iklim dingin, sedang, maupun panas dan dapat hidup terus menerus dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar (Malole & Pramono 1989).

5. Jenis kelamin

Hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih jantan galur balb/c. Mencit putih jantan galur balb/c ini bersifat mudah dipelihara, peka terhadap perlakuan terkait diet, dan umumnya dipergunakan sebagai hewan coba. Penggunaan mencit jantan pada penelitian ini dikarenakan mencit jantan tidak mengalami daur estrus yang melibatkan reseptor estrogen sebagai molekul yang berperan dalam metabolisme reseptor estrogen sebagai molekul yang berperan dalam metabolisme glukosa, yang berperan dalam regulasi biosintesis insulin, sekresi insulin, dan ketahanan sel- β (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

6. Pengambilan dan pemegangan

Mencit ditempatkan di kandang dengan cara membuka kandang. Mengangkat mencit dengan tangan kanan, dan meletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan di punggung mencit. Kepala mencit diletakkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking di sekitar perut mencit sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantara jari-jari. Mencit juga dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tengkuknya (Harmita & Maksun 2005).

F. Uji Aktivitas Analgetik

1. Rangsangan panas

Metode rangsang panas dibedakan lagi menjadi metode Woolfe-Mac Donald, metode Eddy-Leibbach, metode Grotto Sulman dan metode jentik ekor D'Amour dan Smith atau *rat tail flick* test.

1.1 Metode Woolfe-Mac Donald. Metode ini menggunakan lempeng panas dari seng. Hewan coba diletakkan di atas lempeng tersebut pada suhu tertentu (50-60⁰C) dalam silinder kaca, silinder kaca dimaksudkan agar hewan

tetap berada diatas lempeng panas. Reaksi sakit ditunjukkan dengan gerakan-gerakan kaki ke belakang, depan, atau keduanya yang menyatakan rasa nyeri setempat (Vogel 2002; Turner 1965).

1.2 Metode Eddy-Leimbach. Metode ini menggunakan lempeng panas, lempeng panas diletakkan di atas campuran etilformiat dan aseton mendidih yang dapat mempertahankan lempeng tersebut pada suhu 55-55,5⁰C (Syamsudin & Damono 2011).

1.3 Metode Grotto Sulman. Metode ini menggunakan kotak plastik. Ekor hewan dibenamkan dalam penangas air pada suhu 50⁰C. Respon nyeri didasarkan atas pergerakan ekor tersebut (Syamsudin & Damono 2011).

1.4 Metode jentik ekor D'Amour dan Smith atau rat tail flick test. Metode ini berdasarkan atas reaksi terhadap rangsangan radiasi lampu osram 6460 bellaphot. Rangsangan tersebut dikenakan pada bagian tengah ekor hewan tersebut. Alat *analgesiometer* terdiri dari silinder yang terdiri dari suatu alat pengatur cahaya, lensa, lampu osram 6460 bellaphot. Hewan yang akan digunakan diletakkan di dalam kandang kecil diatas celah sempit. Bila hewan tenang maka diberi rangsang nyeri yang langsung dapat dibaca pada alat pencatat digital (Vogel 2002; Turner 1965).

2. Rangsangan tekan (Rendall dan Selito)

Metode ini berdasarkan tekanan yang diberikan pada ekor hewan dengan semprit yang berisi minyak mineral. Semprit tersebut dihubungkan dengan semprit lain dan suatu manometer air raksa sehingga membentuk pipa T. Respon ditandai dengan hewan meronta dan mencicit, bila ekornya diberi tekanan yang cukup besar (Syamsudin & Damono 2011).

3. Rangsangan listrik (Nielsen)

Metode ini menggunakan rangsangan listrik yang dikenakan pada ekor melalui elektroda yang dibalut emas. Elektroda dikaitkan dengan penjepit berpegas dan penjepit lain yang berkait pada wadah berisi hewan, elektroda dapat masuk ke dalam ekor hewan sampai 25 mm dari pangkal ekor. Kejutkan diberikan setiap detik sampai didapat respon mencicit (Syamsudin & Damono 2011).

4. Rangsangan zat kimia (Siegmund)

Metode ini menggunakan senyawa kimia yang dapat menimbulkan rasa nyeri seperti : asam asetat, HCL 2%, 5-hidroksi triptamin, fenilbenzokuinon, bradikinin dan lain-lain. Senyawa tersebut diberikan secara intraperitoneal 30 menit sebelum diberikan obat. Reaksi nyeri diperlihatkan oleh hewan antara lain : menggeliat, menggeser-geserkan perut pada alas kandang. Jumlah geliat langsung diamati selama 30 menit dengan selang waktu 5 menit (Syamsudin & Damono 2011).

G. Landasan Teori

Nyeri merupakan stresor yang dapat menimbulkan stress dan ketegangan dimana individu dapat berespon secara biologi dan perilaku yang menimbulkan respon fisik dan psikis. Respon fisik meliputi perubahan keadaan umum, wajah, denyut nadi, pernafasan, suhu badan, sikap badan dan apabila nafas makin berat dapat menyebabkan kolaps kardiovaskuler dan syok, sedangkan respon psikis akibat nyeri dapat merangsang respon stress yang dapat mengurangi sistem imun dalam peradangan, serta menghambat penyembuhan respon yang lebih parah akan mengarah pada ancaman merusak diri sendiri (Priliana 2014). Terapi pada nyeri ditujukan pada penekanan gejala-gejala, mengurangi kehilangan fungsi dan memperlambat proses destruktif. NSAIDs (*Non Steroidal Anti Inflammation Drugs*) sebagai analgesik, antipiretik dan antiinflamasi pada dosis yang lebih tinggi digunakan untuk menanggulangi rasa nyeri dan inflamasi (Tjay & Rahardja 2007). NSAIDs membentuk kelompok yang berbeda-beda secara kimia, tetapi semua mempunyai kemampuan untuk menghambat siklooksigenase (COX) dan inhibisi sintesis prostaglandin (Neal 2006).

Inhibisi sintesis prostaglandin yang berfungsi sebagai proteksi mukosa lambung, menstimulasi mukus dan sekresi bikarbonat dan menyebabkan vasodilatasi menjadi terganggu. Gangguan pada lambung ini disebut pula efek ulcerogen atau traktus gastrointestinal yang ditandai dengan mual, muntah, nyeri, lambung, gastritis, tukak lambung-usus, dan pendarahan (Harvey 2014; Tjay &

Rahardja 2007; Neal 2006). Sehingga masyarakat lebih mempertimbangkan untuk menggunakan obat tradisional.

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung sejumlah zat yang terkandung dan bermanfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah Xanton. Xanton memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan yang kuat dan diduga dapat menghambat nyeri yang memiliki mekanisme yang sama dengan analgesik kimiawi (Cui *et al.* 2009), xanton juga menghambat jalur lipooksigenase serta senyawa lain seperti tanin dan katekin (golongan flavonoid) juga memiliki aktivitas antiinflamasi karena tanin dan katekin dapat menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotrien. Penekanan jumlah tersebut mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal yang akan berpengaruh pada migrasi sel-sel radang (Agni 2013). Selain xanton, kandungan kimia yang terdapat dalam kulit buah manggis di antaranya saponin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin, dan polifenol (Praptiwi & Poeloengan 2010; Dewi *et al.* 2012; Windarini *et al.* 2013). Flavonoid mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgesik, antialergik, dan antiviral (Kaloso *et al.* 2010). Flavanoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan cara bekerja terhadap reseptor khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (dikurangi) (Safitri 2013).

Penelitian ekstrak kulit buah manggis sebagai analgesik pernah dilakukan sebelumnya. Pengujian dilakukan pada ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan dosis 50 mg/kg memiliki aktivitas analgesik berdasarkan metode *hot plate* pada hewan uji mencit (Ponggele *et al.* 2013), dan

dosis 100 mg/kg berdasarkan metode jentik ekor *Grotto Sulman*, pada dosis 50 mg/kg memiliki aktivitas antipiretik berdasarkan metode induksi vaksin DPT (*Difteri Pertusis Tetanus*) pada hewan uji tikus (Puspitaningrum *et al.* 2014). Pada pengujian isolat α -mangostin dan γ -mangostin dari ekstrak kulit buah manggis dengan dosis 25 mg dan 50 mg memiliki aktivitas analgesik dengan metode *hot plate* dan formalin test (Cui *et al.* 2009), sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan dari kulit buah manggis yang berkhasiat sebagai analgesik dan kemudian dilanjutkan dengan proses fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air, untuk mengetahui fraksi-fraksi tersebut berefek analgesik dan fraksi paling aktif sebagai analgesik yang diperoleh untuk masing-masing fraksi.

Kulit buah manggis dapat dimanfaatkan dengan cara diekstraksi terlebih dahulu. ekstraksi adalah proses penarikan zat yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Metode ini dapat menyari senyawa selektif terhadap senyawa yang diinginkan, murah, dan sederhana. Cairan penyari yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 96% dimana pelarut ini bersifat universal, relatif aman, dan dapat menyari zat-zat yang bersifat polar seperti senyawa-senyawa alkaloida, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri.

Untuk memisahkan senyawa dengan sifat kepolaran yang berbeda pada ekstrak etanol kulit buah manggis agar dapat tersari dengan pelarut yang sesuai maka menggunakan metode fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair yang diawali dengan pelarut yang non polar ke pelarut polar yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Pengujian perangsangan nyeri dengan metode *tail flick* digunakan untuk tikus dan mencit. Keuntungan dari metode ini yaitu durasi pendek dalam pemberian stimulus nyeri sehingga tidak menimbulkan waktu lama dalam penelitian.

H. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah

1. Ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dapat memberikan aktivitas analgesik pada hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*) yang dinyatakan dalam % hambat nyeri.
2. Pada dosis tertentu ekstrak etanol yang dapat memberikan aktivitas analgesik pada mencit jantan (*Mus musculus*).
3. Diantara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air hasil fraksinasi dari ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai aktivitas analgesik pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang dinyatakan dalam % hambat nyeri.
4. Ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai aktivitas analgesik yang lebih baik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah dari tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang tumbuh di desa Keprabon, Tawangmangu, Jawa Tengah dan dikumpulkan pada bulan Januari 2018.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Jadi sampel merupakan bagian populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Sampel ini peroleh dengan pengambilan non random dalam keadaan bersih, segar, dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstraksi dengan pelarut etanol 96%, fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan air sebagai pelarut polar dari kulit buah manggis.

Variabel utama kedua adalah aktivitas analgesik ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol kulit buah manggis.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel yang diteliti terlebih dahulu dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah suatu variabel yang variasinya mempengaruhi variasi lain. Variabel bebas dapat dimanipulasi agar efeknya terhadap variabel lain dapat diamati dan diukur. Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol kulit buah manggis yang diberikan per oral pada hewan uji.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah suatu variabel yang variasinya dipengaruhi oleh variasi lain. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek analgesik dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol kulit buah manggis dengan metode *tail flick*.

2.3 Variabel kendali. Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga variabel tersebut perlu ditetapkan kualifikasi lain. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah jenis kelamin, galur hewan coba, kondisi fisik maupun lingkungan, kondisi laboratorium dan kondisi peneliti, metode uji, ekstraksi, fraksinasi.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, pengambilan bahan adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) segar, tidak busuk, berwarna merah, ungu kebiruan.

Kedua, pembuatan serbuk adalah kulit buah manggis yang segar dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol 96 % kulit buah manggis adalah hasil ekstrak serbuk kulit buah manggis dengan pelarut etanol 96% secara maserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak kental kulit buah manggis dipartisi dengan *n*-heksana dan air.

Kelima, fraksi etil asetat adalah residu fraksi *n*-heksan yang kemudian dilakukan dipartisi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah residu sisa partisi dengan etil asetat.

Ketujuh, aktivitas analgesik adalah aktivitas yang dapat diukur dari kemampuannya dalam menghambat nyeri yang dihasilkan dari respon waktu saat mengibaskan ekor dengan rangsangan panas sinar inframerah.

Kedelapan, AUC (*Area under the curve*) adalah luas daerah di bawah kurva yang merupakan hubungan rata-rata waktu respon saat jentik ekor mengibas.

Kesembilan, persentase hambat nyeri adalah perbandingan AUC kurva waktu respon rata-rata kontrol negatif dengan AUC kurva waktu respon rata-rata kelompok perlakuan.

Kesepuluh, dosis efektif adalah dosis terkecil yang sudah dapat menimbulkan efek terapeutik dan sebanding dengan kontrol pembanding.

Kesebelas, aktivitas analgesik yang baik adalah aktivitas yang dapat diukur dari kemampuannya dalam menghambat nyeri tertinggi.

C. Bahan, Alat, dan Hewan Uji

1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit buah manggis, etanol 96% , etil asetat, *n*-heksana, kain flannel, kertas saring, plat KLT silica GF₂₅₄, asam mefenamat (Ifars), CMC-Na (Dai-Ichi Seiyaku Co., Ltd), air suling, Mg, alkohol, asam klorida, sitoborat, Dragendroff, Lieberman-Bourchard, anisaldehyd, dan FeCl₃.

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia seperti blender, ayakan mesh 40. Alat penyari yang digunakan adalah alat-alat gelas, peralatan maserasi, kain flanel, corong pisah, *rotary vacuum evaporator* (Heidolph laborata 400). Alat untuk mengukur kadar air adalah *sterling bidwell* (Ohaus), alat untuk mengukur bobot jenis yaitu *piknometer*, timbangan elektrik (Ohaus-PA 214), mortir dan stamper. Alat untuk perlakuan hewan yaitu timbangan mencit, spuit oral, dan kandang tikus. Alat pengujian analgesik yaitu *Analgesiometer* LE7106 versi V29/10/2014X.

3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan galur balb/c dengan berat badan \pm 20 gram dan berumur 2-3 bulan sebanyak 40 ekor untuk uji efek analgesik. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok uji. Pengelompokan dibagi menjadi 8 kelompok uji, kelompok kontrol pembanding, kelompok kontrol negatif, 3 kelompok sediaan uji ekstrak, dan 3 kelompok sediaan uji fraksi. Pemilihan mencit sebagai hewan uji didasarkan atas karakteristik mencit yang mudah ditangani, penakut, fotofobik, cenderung bersembunyi dan aktif malam hari (Smith & Mangkoewidjojo 1998). Hewan uji tersebut diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis dalam kondisi segar diperoleh di Tawangmangu, Jawa Tengah.

2. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel kulit buah manggis di Unit Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

3. Pembuatan serbuk kulit buah manggis

Kulit buah manggis diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada buah manggis, buah bersih diiris tipis-tipis setelah itu dikeringkan dengan alat pengering (oven) pada suhu 40-50⁰C sampai kering. Setelah kering dibuat serbuk dengan alat blender dan diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Hasil serbuk kering dimasukkan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

4. Pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis

Pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis dilakukan dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96% dengan cara mengambil kulit buah manggis yang telah diserbuk, kemudian ditimbang sebanyak 1000 gram. Serbuk dimasukkan kedalam botol berwarna gelap dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 7,5 L. Kemudian dikocok dan segera ditutup. Setelah itu botol didiamkan selama 5 hari sambil sering diaduk dan pengocokkan berulang. Setelah 5 hari, filtrat disaring dengan kain flanel, sedangkan sisa ampasnya dibilas dengan etanol 96% sebanyak 2,5 L. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan pada suhu 40-50⁰C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986). Pelarut etanol 96% lebih awet dalam penyimpanan karena mengandung kadar air yang sedikit sehingga lebih kecil kemungkinan untuk tumbuh bakteri. Rendemen ekstrak

ditetapkan dengan menimbang hasil dari ekstrak kemudian dibagi serbuk kulit buah manggis kering dan dikalikan 100%.

5. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak kulit buah manggis dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*, dengan cara menimbang serbuk kulit buah manggis ± 2 gram dan dimasukkan dalam wadah. Suhu diatur 105°C dan tunggu sampai pemanasan berhenti. Dicatat hasil susut pengeringan pada alat dalam satuan persen (%) terhadap bobot awal. Penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar air yang memenuhi syarat jika kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10% (Depkes 2010).

6. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak kulit buah manggis

Penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya yaitu menimbang sampel 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut *xylena* 100 ml sampai sampel terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, lalu dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya dibesarkan. Pemanasan dihentikan apabila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kadar airnya diukur dengan melihat volume pada skala yang terdapat pada alat *Sterling-Bidwell*. Kadar airnya baik apabila kadarnya tidak lebih dari 10%. Kadar air serbuk dan ekstrak ditetapkan dengan membagi volume air yang terdestilasi (ml) dengan jumlah sampel yang diambil (gram) dikalikan 100% (Apriyantono *et al.* 1989).

7. Penetapan bobot jenis ekstrak

Penetapan bobot jenis ekstrak kulit buah manggis 1% dalam etanol 96% dilakukan dengan menggunakan alat *piknometer*. Prosuder penetapan bobot jenis menggunakan *piknometer* bersih, kering, dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot *piknometer* dan bobot air yang baru dididihkan pada suhu 25°C . Diatur hingga suhu zat uji lebih kurang 20°C , dimasukkan kedalam *piknometer*. Ditur suhu *piknometer* yang telah diisi hingga suhu 25°C , dibuang kelebihan zat uji dan ditimbang. Bobot *piknometer* yang telah diisi dikurangi bobot *piknometer* kosong (Depkes 2000).

Bobot jenis satu zat adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot zat dengan bobot air, dalam *piknometer*. Kecuali dinyatakan lain dalam monografi keduanya ditetapkan pada suhu 25°C (Depkes 1995).

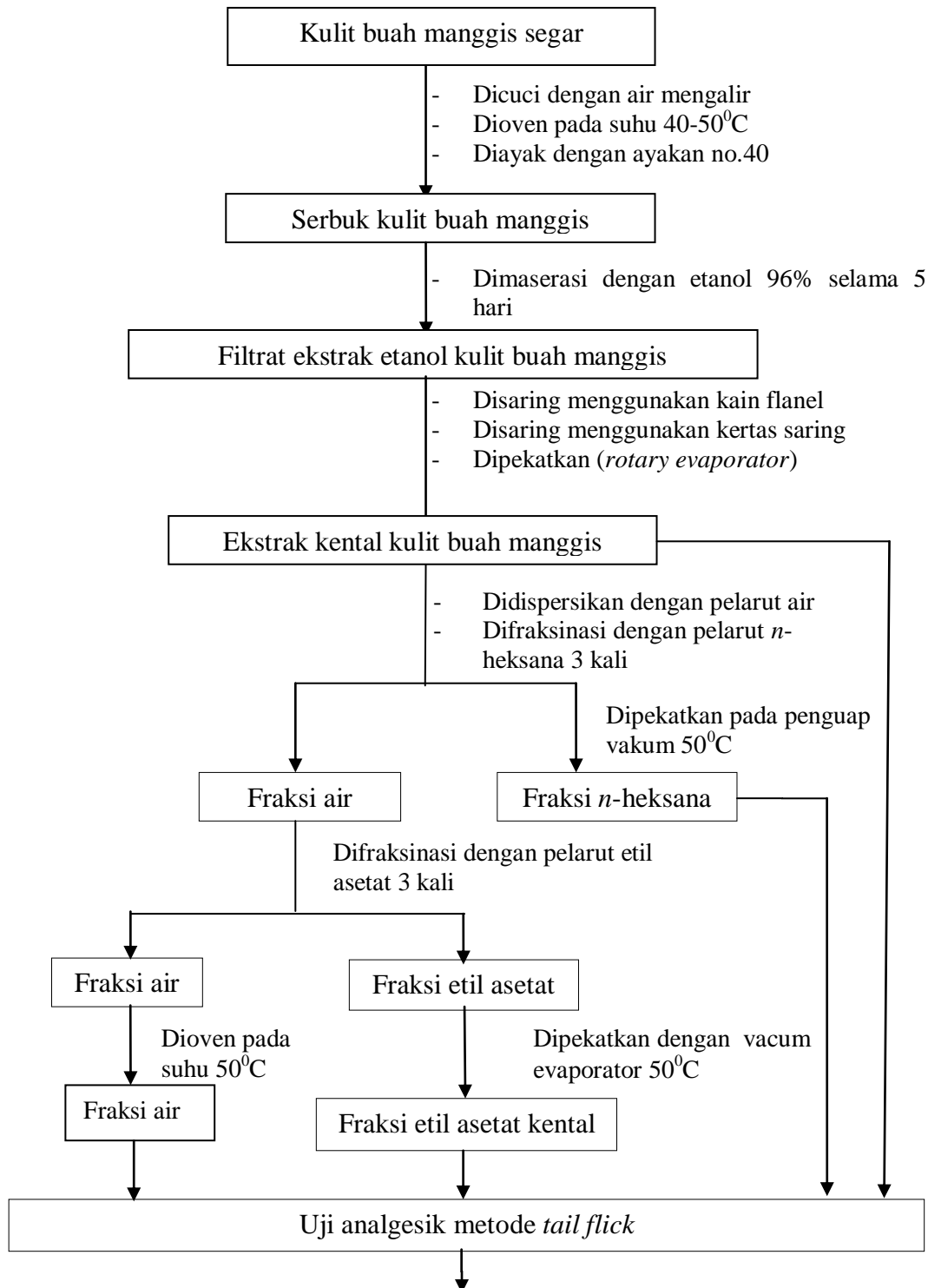
8. Fraksinasi ekstrak etanol kulit buah manggis

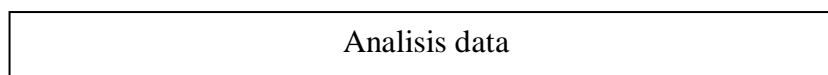
Ekstrak etanol kental kulit buah manggis diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol 96%, kemudian ekstrak etanol kulit buah manggis ditambahkan air suling dengan perbandingan 1 : 10 (7,5 g : 75 ml) untuk melarutkan ekstrak, kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan 75 ml *n*-heksana dan digojog hingga ekstrak berpartisi ke kedua lapisan penyari selama 15 menit. Setelah itu corong pisah didiamkan hingga lapisan air dan lapisan *n*-heksana memisah. Dipisahkan kedua lapisan, lapisan bagian atas diambil sebagai fraksi *n*-heksana dan bagian bawah diambil sebagai filtrat air. Dilakukan penyarian ulang terhadap lapisan air menggunakan *n*-heksana sebanyak dua kali 75 ml. Fraksi *n*-heksana dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh fraksi kering. Lapisan ini sebagai fraksi kering *n*-heksana.

Lapisan air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 75 ml etil asetat dan digojog hingga ekstrak berpartisi ke kedua lapisan penyari selama 15 menit. Setelah itu corong pisah didiamkan hingga lapisan air suling dan lapisan etil asetat memisah. Dipisahkan kedua lapisan, lapisan bagian atas diambil sebagai fraksi etil asetat dan bagian bawah diambil sebagai fraksi air. Fraksi etil asetat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh fraksi etil asetat kering. Lapisan air juga dipekatkan dengan oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh fraksi air kering. Skema proses pembuatan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol kulit buah manggis dapat dilihat pada gambar 4.

Setelah diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol kulit buah manggis, fraksi-fraksi tersebut ditimbang dengan neraca analitik, setelah didapatkan berat masing-masing fraksi kemudian dihitung nilai rendemen masing-masing fraksi. Rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air diperoleh dari hasil bobot penimbangan masing-masing fraksi

kemudian dibagi bobot ekstrak etanol kulit buah manggis yang digunakan dalam fraksinasi dan dikalikan 100%. Total ketiga dari rendemen fraksi-fraksi tersebut tidak boleh melebihi 100%.





Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak dan fraksinasi kulit buah manggis

9. Uji kualitatif kandungan senyawa serbuk dan ekstrak kulit buah manggis

9.1 Fenolik. Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak dilarutkan dengan pelarut secukupnya, ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru, merah, ungu, atau hitam pekat (Harbone 1987).

9.2 Flavonoid. Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak dilarutkan dengan pelarut secukupnya, diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol, 2 ml HCL, dan pelarut amil alkohol, lalu dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika terjadi warna merah sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan jika warna kuning menunjukkan adanya flavon, kalkon, auron (Robinson 1995).

9.3 Tanin. Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak ditambah 10 ml air panas, kemudian dipanaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang di peroleh sebanyak 5 ml ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif jika terbentuknya warna biru tua atau hitam (Robinson 1995).

9.4 Alkaloid. Serbuk dan ekstrak sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1,5 ml HCl 2%, ditambahkan 2-4 tetes reagen dragendroff. Alkaloid positif terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harbone 1987). Serbuk dan ekstrak 0,5 gram, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 2 tetes pereaksi mayer. Hasilnya positif apabila terbentuk endapan dan kekeruhan berwarna putih (Depkes 1977).

9.5 Saponin. Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. (Jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, encerkan 1 ml sediaan yang diperiksa dengan 10 ml air dan kocok kuat-kuat selama 10 menit); sehingga terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi

1 sampai 10 cm. Dan pada penambahan setetes asam klorida 2N, buih tidak hilang (Depkes 1978).

9.6 Steroid dan Terpenoid. Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak ditambahkan 1 tetes lieberman burchard yang terdiri dari 1 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terpenoid menunjukkan reaksi positif dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan. Sedangkan, steroid menunjukkan reaksi positif apabila muncul cincin biru kehijauan (Sarker 2006).

10. Identifikasi golongan senyawa dengan KLT

Identifikasi kandungan senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan keberadaan senyawa kimia dalam kulit buah manggis. Identifikasi kandungan senyawa kimia meliputi flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid atau terpenoid, dan xanton.

10.1 Flavonoid. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan sedikit pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah quersetin. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi sitoborat, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna kuning cepat pudar (Depkes RI 1986).

10.2 Tanin. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah asam galat. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (3 : 7). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi FeCl₃, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna hijau kehitaman (Harbone 1987).

10.3 Alkaloid. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah kafein. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (7 : 2 : 1). Fase diam dikeringanginkan,

dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi Dragendroff, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna merah bata (Harbone 1987).

10.4 Saponin. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah saponin. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak kloroform : metanol : air (64 : 35 : 2). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi anisaldehyd, hasil positif bila terbentuk warna coklat kehitaman (Robinson 1995).

10.5 Steroid dan Terpenoid. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Baku pembanding yang digunakan adalah stigmasterol. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (4 : 1). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi Lieberman-burchard, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna merah keunguan untuk senyawa terpenoid dan terbentuk warna biru atau ungu menandakan adanya senyawa steroid (Harbone 1987).

10.6 Xanton. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel GF₂₅₄. Elusi plat KLT menggunakan fase gerak kloroform : benzena (7 : 3). Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot menggunakan pereaksi sitoborat, hasil positif bila terbentuk bercak berwarna kuning-jingga (Harbone 1987).

11. Persiapan pengujian analgesik secara in vivo

11.1 CMC-Na 0,5%. CMC-Na dibuat dengan konsentrasi 0,5% yang digunakan sebagai pembawa yang diberikan perlakuan pada kontrol negatif, larutan stok ini dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 50 mg dimasukkan kedalam mortir dan ditambah aquadest panas, digerus sampai mengembang dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest panas hingga 10 ml, aduk hingga homogen.

11.2 Suspensi asam mefenamat. Larutan stok ini dibuat dengan cara menimbang 50 mg serbuk asam mefenamat dimasukkan kedalam mortir ditambah CMC-Na 0,5%, dan ditambah aquadest panas. Selanjutnya digerus sampai mengembang dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest panas hingga 10 ml, diaduk hingga homogen. Larutan ini digunakan sebagai kontrol pembanding.

11.3 Pembuatan suspensi ekstrak dan fraksi. Pembuatan suspensi ekstrak/fraksi dibuat dengan cara menimbang 50 mg CMC-Na 0,5% dan ditambah aquadest panas sedikit demi sedikit ditunggu 10 menit hingga mengembang, kemudian ditambah ekstrak/fraksi (sesuai perhitungan) diaduk hingga homogen kemudian ditambah air suling sampai 10 ml aduk sampai homogen.

12. Perhitungan dosis

12.1 Dosis asam mefenamat. Dosis asam mefenamat dihitung dari dosis lazim. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis terapi asam mefenamat untuk manusia 70 kg adalah 500 mg, dosis untuk mencit (sekitar 20 g) adalah 500 mg dikali 0,0026 sehingga didapatkan 1,3 mg/20 gram BB mencit.

12.2 Dosis ekstrak dan fraksi. Dosis sediaan diberikan berdasarkan dosis efektif hasil penelitian kulit buah manggis yang diketahui memiliki efek analgesik dengan dosis 100 mg/ kg BB tikus (Puspitaningrum *et al.* 2014). Dosis untuk tikus (BB 200 g) didapatkan 20 mg/200 g BB tikus. Faktor konversi tikus dengan berat badan 200 g ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,14. Dosis untuk mencit (sekitar 20 g) adalah 20 mg dikali 0,14, sehingga didapatkan 2,8 mg/20 g BB mencit atau 140 mg/kg BB mencit, maka diperoleh dosis awal sebagai dosis orientasi yang selanjutnya akan digunakan untuk penetapan variasi dosis ekstrak etanol kulit buah manggis dalam tiga peringkat variasi konsentrasi yang berbeda, yaitu ½ dosis (70 mg/kg BB); 1x dosis (140 mg/kg BB); dan 2 x dosis (280 mg/kg BB).

Dosis fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah manggis yang digunakan sesuai dengan rendemen yang didapat dan dihitung dengan cara :

$$DA = \text{Error! Reference source not found.} \times \text{Dosis ekstrak efektif}$$

Keterangan : DA = Dosis fraksi A (*n*-heksan, etil asetat atau air)

13. Uji aktivitas analgesik

Sebelum percobaan, mencit diadaptasikan selama 1 minggu dilakukan pengamatan terhadap tingkah laku, kemampuan dalam mengkonsumsi makanan, pengukuran suhu tubuh, pemeriksaan fisik, dan penimbangan berat badan.

Metode uji yang digunakan adalah metode *rat tail flick/ D'Amour dan Smith*. Alat yang digunakan adalah *analgesiometer*. Mencit yang telah dipuaskan selama lebih kurang 18 jam tetapi tetap diberikan minum, dikelompokkan menjadi 8 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok uji tersebut disajikan dalam tabel 1 (ekstrak) dan tabel 2 (fraksi) yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Kelompok perlakuan hewan uji untuk ekstrak

Kelompok	Perlakuan
Kelompok I	Diberi suspensi CMC-Na 0,5% per oral (kontrol negatif)
Kelompok II	Diberi suspensi asam mafenamat dosis 65 mg/kg BB mencit. per oral (kontrol pembandingan)
Kelompok III	Diberi ekstrak kulit buah manggis dosis 70 mg/kg BB
Kelompok IV	Diberi ekstrak kulit buah manggis dosis 140 mg/kg BB
Kelompok V	Diberi ekstrak kulit buah manggis dosis 280 mg/kg BB

Tabel 2. Kelompok perlakuan hewan uji untuk fraksi

Kelompok	Perlakuan
Kelompok I	Diberi suspensi CMC-Na 0,5% per oral (kontrol negatif)
Kelompok II	Diberi suspensi asam mafenamat dosis 65 mg/kg BB mencit. per oral (kontrol pembandingan)
Kelompok III	Diberi fraksi <i>n</i> -heksan kulit buah manggis
Kelompok IV	Diberi fraksi etil asetat kulit buah manggis
Kelompok V	Diberi fraksi air dari ekstrak kulit buah manggis

Keterangan :

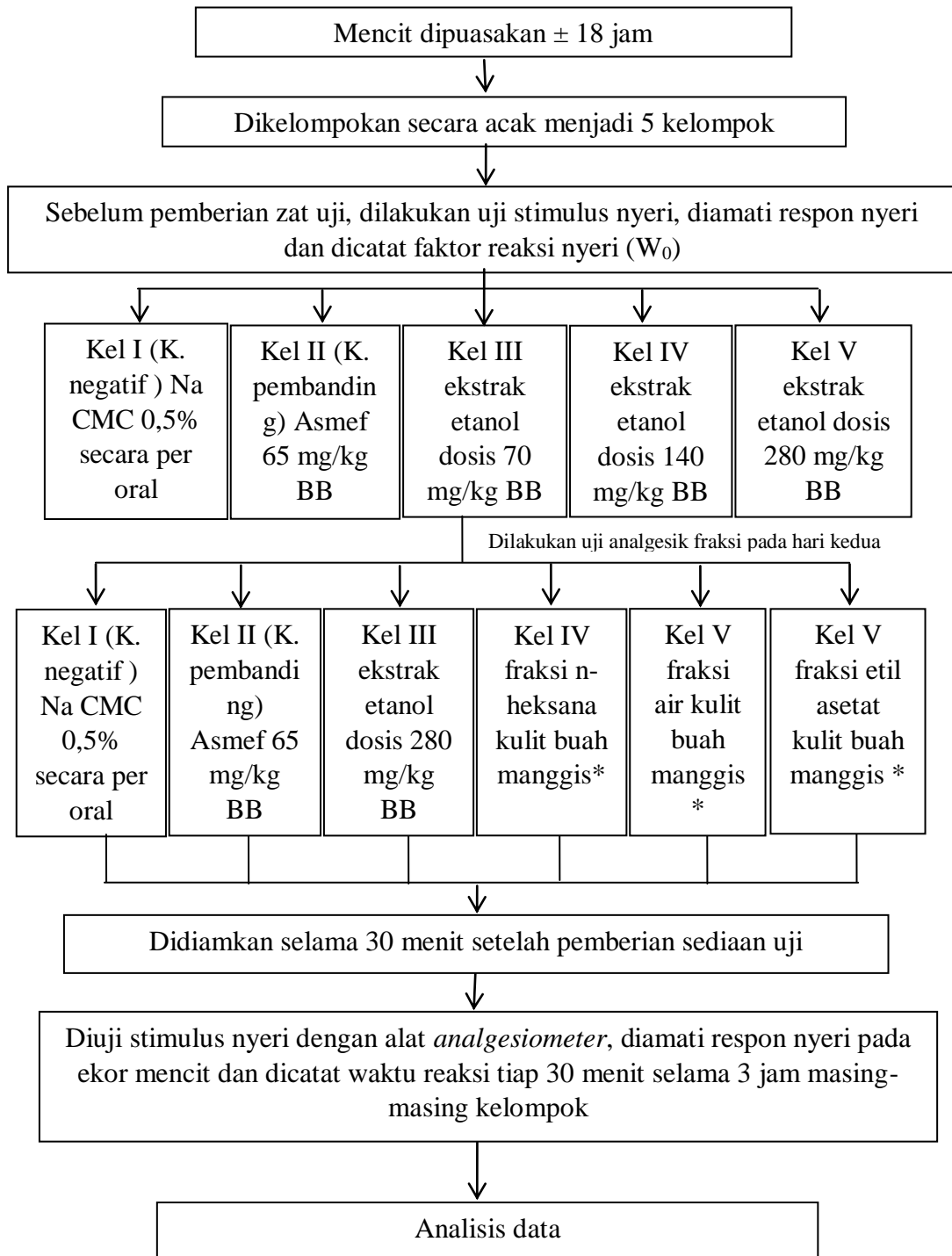
Kontrol negatif : kelompok kontrol tanpa perlakuan (hanya mendapat CMC Na)

Kontrol pembandingan : kelompok perlakuan yang besar kemungkinannya menghasilkan efek (asam mafenamat)

Sebelum diberikan larutan uji, mencit diuji *tail flick* terlebih dahulu menggunakan alat *analgesiometer* sebelum diberikan perlakuan, dicatat waktunya yaitu sebagai W_{awal}/W_0 . Setelah diberi perlakuan dosis tunggal peroral, 30 menit kemudian diberi perangsangan nyeri dengan alat *tail flick analgesiometer*, hewan uji dimasukkan pada *restainer* kemudian diletakkan di *platform*. Penempatan hewan uji mendapat perlakuan selama 2 menit, hal ini dilakukan agar hewan uji dapat beradaptasi dengan tempat baru. Kemudian ekor hewan diletakkan dibawah

phototransistor, disinari dengan inframerah sampai memberikan respon dengan mengibaskan ekor mencit, waktu dicatat. Pencatatan waktu reaksi mencit 30 menit setiap sampling selama 3 jam kemudian dianalisis data.

Berikut adalah skema cara kerja uji aktivitas analgetik pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak dan fraksi kulit buah manggis (gambar 5).



Gambar 5. Skema uji analgesik ekstrak dan fraksi.

Catatan : * dosis fraksi-fraksi rendemen dihitung berdasar rendemen fraksi hasil terhadap dosis ekstrak

14. Perhitungan daya analgesik

Pengaruh pemberian ekstrak dan fraksi-fraksi terhadap efek analgesik, dilakukan dengan menghitung waktu respon ekor mengibas, dengan rumus (1) (Nuraini 2016) :

$$W_u = W_t - W_0 \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan :

- W_u : waktu repon tiap waktu t
- W_t : waktu respon setelah diberi perlakuan (t)
- W₀ : waktu respon sebelum diberi perlakuan

Setelah didapat data waktu respon, kemudian dibuat kurva perbandingan waktu respon ekor mengibas versus waktu uji. Kemudian dihitung AUC (*Area under the curve*) yaitu luas daerah rata-rata dibawah kurva yang merupakan hubungan antara rata-rata waktu respon ekor mengibas tiap satuan waktu. Dengan rumus (2):

$$\text{AUC} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n-1} (W_{t_i} - W_{t_{i-1}}) \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan :

- W_{t_{n-1}}: waktu respon rata-rata pada t_{n-1}
- W_{t_n} : waktu respon rata-rata pada t_n

Pengukuran efektifitas analgesik metode *tail flick* dinyatakan dengan persentase hambatan nyeri (PHN) yang dihitung dengan rumus (3):

$$\% \text{ hambat nyeri} = \frac{AUC_p - AUC_k}{AUC_p} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan :

- AUC_k : AUC kurva waktu respon rata-rata terhadap waktu kontrol negatif
- AUC_p : AUC kurva waktu respon rata-rata terhadap waktu kelompok perlakuan

E. Analisis Data

Data persentase hambat nyeri pada masing-masing kelompok dianalisis secara statistik dengan uji *Shapiro wilk* untuk normalitas distribusi data. Jika data terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji ANOVA *one away* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok bermakna (signifikan) ($p < 0,05$) atau tidak bermakna (tidak signifikan) ($p > 0,05$).

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi dan Identifikasi Kulit Buah Manggis

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang terdapat pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi tanaman manggis dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Berdasarkan hasil identifikasi surat No.26/UN27.9.6.4/Lab/2018 telah mendeterminasi tumbuhan manggis (*Garcinia mangostana L.*) sebagai berikut:
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-
799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-811a-812b-815b-
816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834a-
835b-983b-984b-986b-991b-992b-993b-994b-995d-1036c-1038a-1039b-

1040b_____ **90. Clusiaceae**

1b-2b_____ **4. Garcinia**

1b-2b-4a-5b_____ *Garcinia mangostana L.*

dipastikan bahwa yang digunakan dalam penelitian adalah buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) Deskripsi lengkap dari tanaman manggis dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Deskripsi tanaman

Deskripsi buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) buah berbentuk bulat, diameter 3,5-7 cm, kepala putik tetap tinggal, kelopak tetap tinggal dan berwarna hijau, kulit buah tebal, buah yang masih muda berwarna hijau sedangkan buah yang sudah masak berwarna merah tua keunguan, dengan getah kuning, berdaging buah warnanya putih.

B. Hasil Pembuatan Serbuk Kulit Buah Manggis

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang digunakan diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah. Buah manggis disortir dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada buah. Data rendemen berat kulit buah manggis kering terhadap kulit buah manggis basah dapat dilihat pada tabel 3 dan perhitungan lengkap rendemen kulit buah manggis kering dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 3. Rendemen berat kulit buah manggis kering terhadap berat kulit buah manggis basah

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
6000	3100	51,66

Hasil rendemen berat kulit buah kering terhadap kulit buah basah kulit buah manggis adalah 51,66%. Pengeringan harus dijaga pada suhu konstan 50⁰C dalam oven, karena bila suhunya terlalu tinggi maka kemungkinan terjadi kerusakan senyawa aktif dan bila suhu terlalu rendah maka pengeringan menjadi tidak sempurna dan waktu yang dibutuhkan untuk proses pengeringan semakin lama akibatnya terjadi proses pembusukan.

Pengeringan bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam kulit buah. Selain itu pengeringan juga dapat dilakukan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan jamur, dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Jika tidak dilakukan pengeringan maka akan terjadi kerusakan akibat penguraian zat aktif secara enzimatis seperti hidrolisis, oksidasi, dan polimerisasi. Setelah dirajang sebaiknya langsung segera dikeringkan untuk menghindari naiknya aktivitas enzim dengan adanya air dalam simplisia. Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran bahan, memperluas permukaan partikel yang semakin luas dapat meningkatkan kontak antara cairan penyari dan serbuk.

C. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Kulit Buah Manggis

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses

pengeringan (Depkes 2000). Metode yang digunakan untuk penetapan susut pengeringan yaitu dengan *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk kulit buah manggis dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 6.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk kulit buah manggis

No.	Berat basah (g)	Kandungan lembab (%)
1	2	9,2
2	2	9,0
3	2	9,5
Rata-rata		9,2 ± 0,25

Berdasarkan tabel 4 hasil penetapan susut pengeringan serbuk kulit buah manggis yang dilakukan 3 kali replikasi. Kadar susut pengeringan tidak boleh melebihi 10%, Dari data hasil penetapan susut pengeringan didapatkan hasil sebesar 9,2%. Nilai persentase rata-rata susut pengeringan menunjukkan bahwa serbuk kulit buah manggis memenuhi syarat, yaitu senyawa yang hilang pada proses pengeringan tidak lebih dari 10%.

D. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Manggis

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* menggunakan pelarut *xylene*. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis

No	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,5	7,5
2	20	1,6	8,0
3	20	1,5	7,5
Rata-rata			7,6 ± 0,28

Berdasarkan tabel 5 hasil hitungan kadar air kulit buah manggis yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan prosentase kadar air 7,6%. Kadar air tidak boleh melebihi 10%, karena kadar air yang tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Air merupakan media tumbuhnya mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Berdasarkan dari hasil penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis dapat disimpulkan bahwa serbuk kulit buah manggis ini memenuhi syarat karena prosentase kadar air

serbuk tidak lebih dari 10%. Perhitungan penetapan kadar air serbuk kulit buah manggis dapat dilihat di lampiran 7.

E. Ekstraksi dan Fraksinasi Kulit Buah Manggis

1. Hasil pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis

Pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis menggunakan metode maserasi yang dilakukan di laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Metode ini dipilih karena metode pembuatan ekstrak mudah dalam pengerjaannya, selain itu alat yang digunakan juga sederhana. Metode ini cocok untuk senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan dan biasanya digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mudah mengembang dalam cairan penyari (Voight 1994). Wadah maserasi yang digunakan berkaca gelap untuk menghindari dari sinar matahari langsung. Proses maserasi ini dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% dikarenakan etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik senyawa polar dan non polar, tidak beracun, dapat melarutkan zat aktif yang akan digunakan dalam penelitian seperti flavonoid, alkaloid, fenolik, dan tanin.

Serbuk kulit buah manggis yang digunakan pada pembuatan ekstrak etanol adalah sebesar 1000 g, pelarut etanol 96% 10 L. Ekstrak kental yang dihasilkan dari maserasi sebanyak 246,02 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 24,60%. Rendemen kulit buah manggis tidak kurang dari 24% (Depkes RI 2013). Data hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 6 dan lampiran 5.

Tabel 6. Hasil rendemen ekstrak etanol kulit buah manggis		
Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1000	246,02	24,60

2. Penetapan susut pengeringan ekstrak

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000). Metode yang digunakan untuk penetapan susut

pengeringan yaitu dengan *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak kulit buah manggis dapat dilihat pada tabel 7 dan lampiran 6.

Tabel 7. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak kulit buah manggis

No.	Berat ekstrak (g)	Kandungan lembab (%)
1	2	8,7
2	2	8,5
3	2	8,0
Rata-rata		8,4 ± 0,36

Berdasarkan tabel 7 hasil penetapan susut pengeringan ekstrak kulit buah manggis yang dilakukan 3 kali replikasi. Kadar susut pengeringan tidak boleh melebihi 10%, Dari data hasil penetapan susut pengeringan didapatkan hasil sebesar 9,2%. Nilai persentase rata-rata susut pengeringan menunjukkan bahwa serbuk kulit buah manggis memenuhi syarat, yaitu senyawa yang hilang pada proses pengeringan tidak lebih dari 10%.

3. Penetapan kadar air ekstrak

Penetapan kadar air pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* menggunakan pelarut *xylena*. Hasil penetapan kadar air ekstrak kulit buah manggis dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol kulit buah manggis

No	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air %
1	10	0,90	9,0
2	10	0,85	8,5
3	10	0,90	9,0
Rata-rata			8,8 ± 0,28

Hasil penetapan kadar air rata-rata ekstrak dengan menggunakan metode destilasi *sterling bidwell* yaitu 8,8% sehingga memenuhi syarat karena tidak lebih dari 10% (Depkes 1979). Perolehan kadar air yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari bahan simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Perhitungan kadar air ekstrak dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak etanol kulit buah manggis

Penetapan bobot jenis ekstrak di lakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang dan memberikan gambaran kandungan kimia terlarut (Depkes RI 2000). Metode yang

digunakan untuk penetapan bobot jenis yaitu dengan *piknometer*. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 8 dan lampiran 8.

Tabel 9. Hasil penetapan berat jenis ekstrak kulit buah manggis

No.	Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
1	40,4096	49,7538	0,8121
2	43,3327	52,5257	0,8249
3	37,4791	47,3314	0,7918
		Rata-rata	0,8096 ± 0,016

Berdasarkan tabel 9 hasil penetapan bobot jenis ekstrak kulit buah manggis yang dilakukan 3 kali replikasi. Nilai penetapan bobot jenis tidak boleh melebihi berat jenis air yaitu 1 g/ml. Dari data hasil penetapan bobot jenis rata-rata ekstrak kulit buah manggis diperoleh sebesar 0,8096 g/ml.

5. Hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit buah manggis

Hasil fraksinasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 9 dan perhitungannya persen rendemen dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil rendemen urutan dari yang paling banyak yaitu fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Fraksi air menghasilkan rendemen yang banyak yaitu 52,42 %. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit buah manggis lebih besar senyawa polar yaitu glikosida flavonoid, tanin, polifenol, dan saponin.

Tabel 10. Hasil fraksinasi ekstrak kulit buah manggis

Berat ekstrak	Fraksi	Fraksi kental (g)	Rendemen (%)
30	<i>n</i> -Heksana	0,6092	2,03
	Etil asetat	7,5386	25,12
	Air	15,7276	52,42
Total rendemen			79,58

6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak dengan reaksi warna

Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol kulit buah manggis bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan metabolit sekunder. Identifikasi dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna atau terjadinya endapan setelah diberikan pereaksi khusus kemudian dibandingkan dengan

pustaka acuan yang ada. Berdasarkan hasil identifikasi kandungan kimia serbuk kulit buah manggis positif mengandung senyawa golongan flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil identifikasi ekstrak etanol kulit buah manggis positif mengandung senyawa golongan flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 11 dan lampiran 9.

Tabel 11. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol kulit buah manggis.

Golongan senyawa	Hasil		Kesimpulan		Pustaka
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak	
Flavonoid	Merah pekat	Merah pekat	(+)	(+)	Warna merah sampai ungu pada lapisan amil alkohol (Depkes RI 1979).
Fenolik	Hitam	Hitam	(+)	(+)	Warna hijau, biru, merah, ungu, atau hitam pekat (Harbone 1987).
Alkaloid	Terbentuk endapan baik pada mayer & bouchardat	Terbentuk endapan baik pada mayer & bouchardat	(+)	(+)	Terbentuk endapan warna putih kuning pada mayer, endapan coklat sampai hitam pada bouchardat (Depkes RI 1969).
Saponin	Terbentuk buih	Terbentuk buih	(+)	(+)	Terbentuk buih > 10 menit setinggi 1-10 cm (Depkes 1978).
Tanin	Hitam	Hitam	(+)	(+)	Terbentuk warna hijau kehitaman (Robinson 1995).
Steroid/terpenoid	Tidak terbentuk cincin	Tidak terbentuk cincin	(-)	(-)	Steroid cincin biru, terpenoid cincin coklat/violet (Ciulei 1984)

Keterangan :

(+) : ada senyawa

(-) : tidak ada senyawa

7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi secara KLT

Identifikasi senyawa ini digunakan untuk mengetahui senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid/terpenoid, dan xanton pada ekstrak etanol dan fraksi-fraksi kulit buah manggis dengan metode KLT. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dapat dilihat pada tabel 11 dan lampiran 10.

Tabel 12. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi-fraksi secara KLT

Kandungan kimia	Ekstrak etanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	+	-
Tanin	+	+	+	-
Saponin	+	+	+	+
Steroid/Terpenoid	+	-	+	-
Xanton	+	+	+	-

Keterangan :

+ : mengandung senyawa

- : tidak mengandung senyawa

7.1 Flavonoid. Wagner and Baladt (2010) menyebutkan bahwa flavonoid dapat berfluoresensi dan memberikan warna kuning, hijau, maupun biru. Pada pengamatan visual terdapat bercak berwarna kuning memudar. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid. Pada uji flavonoid dengan sampel ekstrak dan fraksi-fraksi, positif mengandung senyawa flavonoid yaitu pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air.

7.2 Alkaloid. Meiyanto (2002) menyebutkan bahwa alkaloid dapat berfluoresensi dan memberikan warna merah bata. Pengamatan dilakukan dibawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel berwarna merah bata dihasilkan oleh fraksi etil asetat, tetapi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, dan air tidak memberikan warna merah bata.

7.3 Tanin. Sampel positif mengandung tanin jika bercak berwarna hijau tua kehitaman (Harbone 1987). Warna ini timbul akibat adanya pereaksi bercak FeCl₃. Hasil pengamatan di bawah UV 254 nm tidak begitu jelas terjadi bercak, pada UV 366 nm terdapat peredaman, dan visibel menunjukkan bahwa bercak berwarna hitam terlihat pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat, tetapi pada fraksi air tidak terdapat adanya bercak berwarna hitam.

7.4 Saponin. Sampel positif mengandung saponin jika bercak berwarna coklat kehitaman (Robinson 1995). Warna ini timbul karena adanya pereaksi anisaldehyd. Pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel berwarna coklat kehitaman dihasilkan oleh ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan air.

7.5 Steroid/Terpenoid. Sampel positif mengandung steroid/terpenoid jika bercak berwarna merah ungu/hijau biru (Robinson 1995). Warna ini timbul karena adanya pereaksi Lieberman Bourchard. Pengamatan dilakukan dibawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel berwarna merah ungu dihasilkan oleh ekstrak dan fraksi etil asetat, tetapi fraksi *n*-heksan dan air tidak menunjukkan bercak berwarna merah ungu.

7.6 Xanton. Sampel positif mengandung xanton jika bercak berwarna kuning, jingga (Harbone 1987). Warna ini timbul karena adanya pereaksi sitoborat. Pengamatan dilakukan dibawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel berwarna kuning dihasilkan oleh ekstrak, fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat, tetapi pada fraksi air tidak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning.

F. Uji Efek Analgesik Ekstrak, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air

1. Hasil penetapan dosis efektif ekstrak

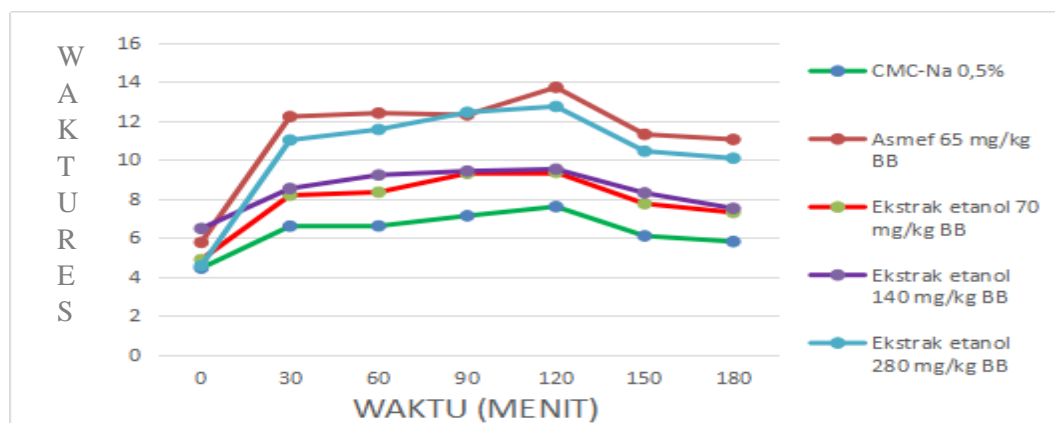
Pengujian dilakukan dengan memberikan ekstrak etanol kulit buah manggis dengan 3 dosis yaitu 70 mg/kg BB, 140 mg/kg BB, 280 mg/kg BB secara per oral. Dari tiga dosis yang diujikan dipilih yang paling efektif memberikan efek analgesik. Penentuan dosis efektif dari ketiga dosis untuk menentukan dosis fraksi. Hasil penelitian berupa data saat mencit mengibaskan ekor tiap selang waktu 30 menit selama 3 jam pada tiap-tiap dosis. Respon saat mengibaskan jentik ekor dalam waktu tersebut menyatakan derajat nyeri yang dirasakan hewan uji. Hasil orientasi ekstrak etanol kulit buah manggis pada tabel 13, gambar 6, dan lampiran 13.

Tabel 13. Hasil rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas ekstrak etanol kulit buah manggis

Kelompok Perlakuan	Rata-rata waktu (detik)					
	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₈₀
I	6,59±0,71 ^b	6,6±1,15 ^b	7,12±0,95 ^b	7,59±1,00 ^b	6,09±0,83 ^b	5,804±0,8 ^b
II	12,2±1,33 ^a	12,38±1,45 ^a	13,29±1,19 ^a	13,7±1,4 ^a	11,29±1,34 ^a	11,03±1,35 ^a
III	8,17±0,97 ^{ab}	8,33±1,05 ^{ab}	9,29±1,11 ^{ab}	9,34±1,32 ^{ab}	7,74±1,1 ^{ab}	7,29±1,08 ^{ab}
IV	8,52±0,98 ^{ab}	9,21±1,03 ^{ab}	9,41±1,08 ^{ab}	9,51±0,79 ^{ab}	8,29±1,02 ^{ab}	7,56±0,53 ^{ab}
V	11±1,21 ^a	11,54±1,73 ^a	12,42±1,41 ^a	12,72±1,49 ^a	10,43±1,43 ^a	10,07±1,07 ^a

Keterangan :

- I : Kontrol (-) CMC-Na 0,5%
- II : Kontrol pembanding (asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB)
- III : Ekstrak kulit buah manggis dosis 70 mg/kg BB
- IV : Ekstrak kulit buah manggis dosis 140 mg/kg BB
- V : Ekstrak kulit buah manggis dosis 280 mg/kg BB
- a : berbeda bermakna (p<0,05) terhadap kontrol negatif
- b : berbeda bermakna (p<0,05) terhadap kontrol pembanding



Gambar 6. Data rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas vs waktu pada ekstrak etanol

Dari data penetapan dosis efektif didapatkan urutan waktu respon terpanjang yaitu dosis 3 (280 mg/kg BB atau 5,6 mg/20 g BB) berturut-turut pada menit ke-30 sampai menit ke-180 sebesar 11 detik, 11,54 detik, 12,42 detik, 12,72 detik, 10,43 detik, 10,07 detik; dosis 2 (140 mg/kg BB atau 2,8 mg/20 g BB) berturut-turut pada menit ke-30 sampai menit ke-180 sebesar 8,52 detik, 9,21 detik, 9,41 detik, 9,51 detik, 8,29 detik, 7,56 detik; dosis I (70 mg/kg BB atau 1,4 mg/200 g BB) berturut-turut pada menit ke-30 sampai menit ke-180 sebesar 8,17 detik, 8,33 detik, 9,29 detik, 9,34 detik, 7,74 detik, 7,29 detik, pada dosis 1 yaitu dosis paling rendah, sehingga menghasilkan waktu respon yang rendah juga. Semakin tinggi dosis maka waktu respon yang dihasilkan semakin besar sehingga efek analgesik semakin baik.

2. Pengujian aktivitas analgesik

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik ekstrak dan fraksi-fraksi kulit buah manggis dengan mengukur kemampuan senyawa uji dalam mengatasi sensasi nyeri. Sensasi nyeri muncul dari perangsangan panas sinar inframerah yang menghasilkan respon nyeri pada saat mencit mengibaskan ekor.

Pada penelitian ini dosis 280 mg/kg BB (5,6 mg/20 g BB) yang didapatkan dari hasil orientasi dosis efektif, fraksi *n*-heksan dengan dosis 7,14 mg/kg BB (0,14 mg/20 g BB), etil asetat 88,41 mg/kg BB (1,76 mg/20 g BB), dan air 184,45 mg/kg BB (3,68 mg/20 g BB). Kontrol pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam mefenamat dengan dosis 65 mg/kg BB (1,3 mg/20 g

BB). Asam mefenamat digunakan sebagai kontrol pembanding karena telah terbukti memiliki efek analgesik. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah CMC Na 0,5 %.

Pengamatan dilakukan selama 3 jam tiap selang waktu 30 menit, kemudian dicatat waktu respon nyeri berupa mencit mengibaskan ekor. Hasil pengamatan memberikan data berupa waktu tertentu ekor mengibas terhadap sensasi nyeri yang selanjutnya dihitung AUC-nya dengan metode trapezoid. Data AUC tiap-tiap waktu pengamatan dijumlah hingga diperoleh AUC total atau AUC₀₋₆. data AUC kelompok perlakuan kemudian dibandingkan dengan data kontrol negatif untuk menentukan nilai persentase hambatan nyeri.

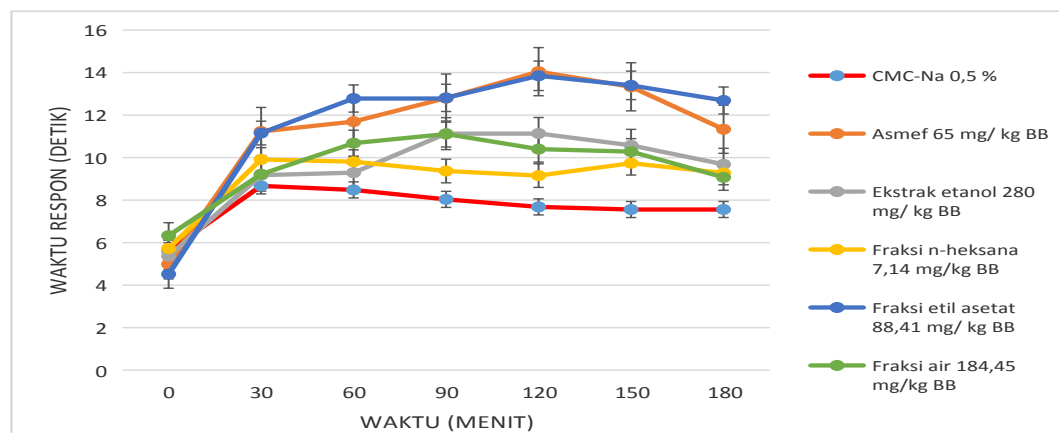
Hasil rata-rata waktu respon ekor mengibas pada kelompok perlakuan tiap waktu dilihat pada tabel 14, gambar 7, dan lampiran 14.

Tabel 14. Hasil rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas pada ekstrak dan fraksi

Kelompok perlakuan	Rata-rata waktu (detik)					
	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₈₀
I	8,67±1,00 ^{bc}	8,48±0,83 ^{bc}	8,03±0,86 ^{bc}	7,68±1,05 ^{bc}	7,55±1,03 ^{bc}	7,56±1,31 ^{bc}
II	11,22±1,18 _{ac}	11,69±1,09 _{ac}	12,80±0,60 _{ac}	14,04±0,90 _{ac}	13,33±0,70 _{ac}	11,33±0,71 _{ac}
III	9,17±2,14 ^{ab}	9,29±1,46 ^{ab}	11,12±1,21 _{ab}	11,13±1,16 _{ab}	10,57±1,59 _{ab}	9,68±1,84 ^{ab}
IV	9,51±0,88 ^{ab} _c	9,20±1,23 ^{ab} _c	8,97±0,62 ^{ab} _c	8,35±1,27 ^{ab} _c	8,95±1,46 ^{ab} _c	8,47±1,37 ^{ab} _c
V	11,15±1,56 _{ac}	12,78±1,03 _{ac}	12,81±1,13 _{ac}	13,85±1,61 _{ac}	13,40±1,23 _{ac}	12,68±1,11 _{ac}
VI	9,21±1,50 ^{ab}	10,68±1,37 _{ab}	11,11±1,73 _{ab}	10,40±1,83 _{ab}	10,28±1,22 _{ab}	9,07±0,58 ^{ab}

Keterangan :

- I : Kontrol (-) CMC-Na 0,5%
- II : Kontrol pembanding (asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB)
- III : Ekstrak kulit buah manggis dosis 280 mg/kg BB
- IV : Fraksi *n*-heksana kulit buah manggis 7,14 mg/kg BB
- V : Fraksi etil asetat kulit buah manggis 88,41 mg/kg BB
- VI : Fraksi air kulit buah manggis 184,45 mg/kg BB
- a : berbeda bermakna (p<0,05) terhadap kontrol negatif
- b : berbeda bermakna (p<0,05) terhadap kontrol pembanding
- c : berbeda bermakna (p<0,05) terhadap ekstrak etanol



Gambar 7. Data rata-rata waktu respon jentik ekor mengibas vs waktu pada fraksi

Pada tabel 14 dan gambar 7 menunjukkan hasil bahwa secara keseluruhan pada kelompok perlakuan rata-rata waktu responnya terjadi peningkatan. Berbeda dengan kelompok perlakuan, pada kelompok kontrol negatif terlihat waktu respon rata-rata hewan uji terhadap rangsangan nyeri pada menit ke-30 sampai menit ke 180 terjadi penurunan. Pada penelitian Widiarti *et al.* (2012) menggunakan CMC Na sebagai kontrol negatif menunjukkan bahwa penghambatan nyeri dari menit ke-30 sampai 180 mengalami penurunan hambatan nyeri karena semakin lama waktu penelitian hewan uji semakin sering terpapar panas, kemungkinan setelah dilakukan pengujian dimenit pertama terpapar panas belum mengalami *recovery* tetapi sudah terpapar lagi dengan sinar panas pada pengujian menit selanjutnya, dan CMC Na tidak mampu memberikan daya hambat nyeri karena tidak mengandung zat aktif.

Pada kelompok kontrol pembanding rata-rata waktu respon meningkat mulai menit ke-60 dan mencapai puncak pada menit ke-120, setelah itu menurun pada menit ke-150 dan semakin menurun sampai menit ke-180. Hal ini sesuai dengan penelitian Oktavianus *et al.* (2014) bahwa rata-rata waktu respon asam mefenamat puncaknya pada menit ke-120. Penurunan terjadi pada menit ke-150 hal ini menunjukkan bahwa efek analgesik turun. Pada penelitian ini asam mefenamat mempunyai efek analgesik yang baik pada menit ke-120 hal ini sesuai karena konsentrasi puncak dicapai setelah 2-4 jam setelah pemberian kelompok perlakuan. Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat sintesa prostaglandin

dengan menghambat kerja enzim *cyclooxygenase* (COX-1 dan COX-2) (Katzung 2002).

Pada kelompok ekstrak terlihat efek analgesiknya pada menit ke-30 setelah perlakuan dan pada menit ke-90 mencapai puncak. Mengalami penurunan pada menit ke 120 hingga menit ke-180. Puspitaningrum *et al.* (2014) menyatakan bahwa pada ekstrak kulit buah manggis pada menit ke-10 setelah perlakuan sudah menunjukkan efek analgesik yaitu ditunjukkan dengan meningkatnya waktu respon yang dihasilkan, pada menit ke-60 mencapai puncak dan pada menit ke-90 sudah terjadi penurunan. Penurunan efek ekstrak etanol kulit buah manggis karena waktu paruh ekstrak yang cepat dan berbeda dengan waktu paruh senyawa sintetik yang lebih lama.

Rata-rata waktu respon fraksi etil asetat meningkat dari menit ke-60, konstan sampai menit ke-90, dan mencapai puncak pada menit ke-120 hal ini menunjukkan adanya hambatan rangsangan nyeri dan selanjutnya terjadi penurunan pada menit ke 150. Berbeda dengan fraksi etil asetat, pada fraksi air rata-rata waktu respon meningkat dari menit ke-30 hingga mencapai puncak pada menit ke-90 hal ini menunjukkan adanya hambatan rangsangan nyeri dan menurun pada menit ke-120 hingga menit ke-180, sedangkan fraksi *n*-heksana dari menit ke-30 mengalami penurunan waktu respon sampai menit ke-120 dan meningkat pada menit ke-150. Hal ini disebabkan adanya respon alami tubuh saat mengalami nyeri. Tubuh akan beradaptasi dengan adanya stimulus nyeri, karena sesungguhnya tubuh mempunyai analgesik alami yaitu morfin endogen atau disebut dengan endorfin. Hal ini menyebabkan tubuh akan meningkatkan kekuatan dalam menahan rasa nyeri (Goodman dan Gilman 2006).

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan metode *tail flick* ini terlihat bahwa tidak semua pemberian ekstrak maupun fraksi menghasilkan rata-rata puncak waktu respon yang sama. Keseluruhan data waktu respon digunakan untuk menghitung nilai AUC dan prosentase hambatann nyeri dapat dilihat pada tabel 13 dan lampiran 15.

Tabel 15. Data nilai AUC pada kelompok perlakuan

Kelompok uji	Data nilai AUC (rata-rata \pm SD)
Kontrol negatif CMC Na 0,5 %	1,43 \pm 0,27 ^{bc}
Kontrol Pembanding (AM 65 mg/kg)	5,96 \pm 0,70 ^a
Ekstrak etanol 70 mg/kg BB	3,18 \pm 0,98 ^{abc}
Ekstrak etanol 140 mg/kg BB	1,90 \pm 0,43 ^{abc}
Ekstrak etanol 280 mg/kg BB	4,82 \pm 0,28 ^{ab}
Fraksi <i>n</i> -heksana 7,14 mg/kg BB	3,57 \pm 0,41 ^{abc}
Fraksi etil asetat 88,41 mg/kg BB	5,79 \pm 0,65 ^a
Fraksi air 184,45 mg/kg BB	4,53 \pm 0,47 ^{ab}

Keterangan :

- a : berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif
 b : berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol pembanding
 c : berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap ekstrak etanol dosis 280 mg/kg BB
 AM : Asam mefenamat

Hasil AUC urutan terbesar sampai terkecil yaitu fraksi etil asetat 88,41 mg/ kg BB, ekstrak 280 mg/ kg BB, fraksi air 184,41 mg/ kg BB, fraksi *n*-heksana 7,14 mg/ kg BB, ekstrak 70 mg/kg BB, ekstrak 140 mg/kg BB, dan yang terendah pada kontrol negatif. AUC yang dihasilkan dapat dihitung prosentase hambatan nyeri. Prosentase hambatan nyeri merupakan besarnya kemampuan uji dalam mengatasi rasa nyeri dapat dilihat pada tabel 14 dan lampiran 16.

Tabel 16. Persentase hambatan nyeri pada kelompok perlakuan

Kelompok uji	Persentase hambatan nyeri (%) (rata-rata \pm SD)
Kontrol negatif (CMC-Na 0,5%)	-
Kontrol pembanding (AM 65 mg/kg BB)	75,76 \pm 4,62
Ekstrak etanol 70 mg/kg BB	48,41 \pm 13,96 ^a
Ekstrak etanol 140 mg/kg BB	44,51 \pm 10,61 ^a
Ekstrak etanol 280 mg/kg BB	69,88 \pm 7,10
Fraksi <i>n</i> -heksan 7,14 mg/kg BB	51,01 \pm 10,88 ^{ab}
Fraksi etil asetat 88,41 mg/kg BB	74,99 \pm 5,13
Fraksi air 184,45 mg/kg BB	67,684 \pm 8,94

Keterangan :

- a : berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol pembanding
 b : berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap ekstrak etanol 280 mg/kg BB
 AM : Asam mefenamat

Persentase hambatan nyeri ekstrak sebesar 69,88 %. Menurut Cui *et al.* (2009) xanton merupakan senyawa yang diduga memiliki aktivitas analgesik, senyawa lain yang diduga memiliki aktivitas analgesik adalah flavonoid dan alkaloid (Puspitasari *et al.* 2002; Harmanto 2001; Nurdiana 2000), saponin (Amos

et al. 2002) dan tanin (Hosseinzadeh *et al.* 2002). Pada uji identifikasi didapatkan hasil positif kulit buah manggis mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan xanton hal ini sesuai dengan penelitian Pusptaningrum *et al.* (2014); Dewi *et al.* (2012); Windarini *et al.* (2013). Diantara senyawa-senyawa tersebut flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, dan xanton mempunyai bermacam-macam efek yaitu antitumor, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antifungi, dan antidiare (Syukri 2008; Soeksmanto 2006; Hosseinzadeh *et al.* 2002). Saponin dapat dikelompokkan berdasarkan aglikonnya yaitu saponin triterpenoid dan saponin steroid, kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas antiinflamasi (Prasetya 2013; Aditya *et al.* 2015; Lutfiyah *et al.* 2016), antikanker (Akao *et al.* 2008), analgesik, dan sitotoksik (Gotama *et al.* 1999). Xanton memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan yang kuat dan diduga dapat menghambat nyeri yang memiliki mekanisme yang sama dengan analgesik kimiawi (Cui *et al.* 2009), xanton juga menghambat jalur lipooksigenase serta senyawa lain seperti tanin dan katekin (golongan flavonoid) juga memiliki aktivitas antiinflamasi karena tannin dan katekin dapat menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotrien. Penekanan jumlah tersebut mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal yang akan berpengaruh pada migrasi sel-sel radang (Agni 2013). Selain xanton, flavonoid mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgetik, antialergik, dan antiviral (Kaloso *et al.* 2010). Flavanoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Alkaloid dapat memberikan efek analgesik dengan cara bekerja terhadap reseptor khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (dikurangi) (Safitri 2013). Saponin diduga memiliki efek analgesik

dengan cara menghambat sintesis PGE₂ (Flower and vane 1972 diacu dalam Adesokan *et al.* 2008). Selain itu, steroid juga menghambat fosfolipase sehingga pembentukan prostaglandin maupun leukotriene dihalanagi (Tjay dan Rahardja 2007).

Fraksi *n*-heksana merupakan fraksi dengan persentase hambatan nyeri terendah yaitu 51,01 %. Hal ini dipengaruhi oleh senyawa dan juga dosis dalam fraksi *n*-heksana sebagai analgesik. Rendemen yang dihasilkan pada fraksi ini paling rendah dibanding fraksi lain sehingga dosis yang digunakan untuk fraksi *n*-heksana juga rendah, dan diduga karena adanya peran flavonoid, saponin, tannin, dan xanton, dimana flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat fase penting dalam biosintesis yaitu prostaglandin dan bradikinin (Yong *et al.* 2012), saponin bekerja dengan cara menghambat sintesis PGE₂ (Flower and vane 1972 diacu dalam Adesokan *et al.* 2008). Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat *cyclooxygenase-1* (Pan *et al.* 2010). Xanton bekerja dengan menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting, terhambatnya pelepasan asam arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotriene (Agni 2013). Senyawa yang terlarut dalam fraksi *n*-heksana menurut uji identifikasi adalah flavonoid, tanin, saponin, dan xanton.

Pada kelompok etil asetat didapatkan presentase hambat nyeri sebesar 74,99 %. Persentase yang dihasilkan fraksi etil asetat merupakan prosentase tertinggi dibawah asam mefenamat. Persentase hambat nyeri yang besar dipengaruhi oleh senyawa yang terlarut dalam fraksi etil asetat menurut uji identifikasi adalah flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan xanton. Mekanisme kerja flavonoid dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dengan demikian produksi asam arakidonat sehingga mengurangi rasa nyeri, selain itu flavonoid juga menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan (Patel 2008). Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat *cyclooxygenase-1* (Pan *et al.* 2010). Saponin diduga memiliki efek analgesik dengan cara menghambat sintesis PGE₂ (Flower

and vane 1972 diacu dalam Adesokan *et al.* 2008). Xanton bekerja dengan menghambat pengeluaran prostaglandin pada jalur asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan penting, terhambatnya pelepasan asam arakhidonat pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase akan menekan jumlah prostaglandin, prostaksiklin, endoperoksidase, dan leukotriene (Agni 2013). steroid juga menghambat fosfolipase sehingga pembentukan prostaglandin maupun leukotriene dihalangi (Tjay dan Rahardja 2007).

Senyawa yang terlarut dalam fraksi air menurut uji identifikasi adalah flavonoid dan saponin. Presentase hambat nyeri fraksi air sebesar 67,68 %. Persentase hambat nyeri yang besar setelah ekstrak dipengaruhi oleh hasil rendemen air sebesar 52,42 %, dan diduga karena adanya peran flavonoid dan saponin, dimana flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat fase penting dalam biosintesis yaitu prostaglandin dan bradikinin (Yong *et al.* 2012), saponin bekerja dengan cara menghambat sintesis PGE₂ (Flower and vane 1972 diacu dalam Adesokan *et al.* 2008).

Hasil analisis statistik uji ANOVA (lampiran 18) prosentase hambat nyeri terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen dengan nilai $P = 0,482$. Uji ANOVA satu arah hasil $P = 0,000$ yang menunjukkan bahwa persentase hambat nyeri berbeda signifikan. Hasil uji penelitian kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan kontrol negatif, tetapi pada fraksi etil asetat tidak berbeda signifikan dengan kontrol pembanding.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan hasil bahwa:

Pertama, ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai aktivitas analgesik sebesar 69,88%.

Kedua, ekstrak etanol kulit buah manggis dosis 280 mg/ kg BB (5,6 mg/20g BB) memberikan aktivitas analgesik yang paling baik.

Ketiga, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mempunyai aktivitas analgesik sebesar 51,01%; 74,99%; dan 67,68%.

Keempat, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas analgesik paling baik yaitu sebesar 74,99%.

B. Saran

Penelitian ini masih banyak kekurangan maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas analgesik dari ekstrak kulit buah manggis menggunakan metode ekstraksi yang lain, dosis yang lebih kecil dengan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif.

Kedua, perlu dilakukan penelitian dalam tahap yang lebih tinggi seperti subfraksi dan isolasi untuk mengetahui senyawa spesifik yang terkandung dalam fraksi etil asetat kulit buah manggis yang berkhasiat sebagai analgesik dan dengan variasi dosis yang berbeda.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas analgesik dari fraksi *n*-heksana dengan menaikkan dosis yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalrahim F, Aisha A, Khalid M, Abu S, Mohammad JS, Zhari I, Amin MSAM. 2012. Quantification of α -, β - and γ -mangostin in *Garcinia mangostana* L. fruit rind extracts by reverse phase high performance liquid chromatography. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(29):4526-4534. Available online at <http://www.academicjournals.org/JMPR>.
- Adesokan AA, Yakubu MT, Owoyele BV, Ankanji MA, Soladoye AO and Eawal. 2008. Effect of administration aqueous and ethanol extract of *Enantia chlorantha* stem bark on brewer's yeast induced pyresis in rats. *African J of Biochemistry*. 2:165-169.
- Aditya MRT, Marisa D, Suhartono E. 2015. Potensi antiinflamasi jus buah manggis (*Garcinia mangostana*L.) terhadap denaturasi protein *in vitro*. *Berkala Kedokteran*, 11(2):149-156.
- Akao Y, Nakagawa Y, Linuma M, Nozawa Y. 2008. Anti-cancer effect of xanthenes from pericarps of mangosteen. *International journal of molecular sciences*. 9:355-370.
- Almeyda N, Martin FW. 1976. *Cultivation of Neglected Tropics Fruits with Promise*. Part 1. The Mangosteen. Agr Res Service-USDA.
- Amos S, Chindo B, Edmond I, Akah P, Wambebe C, Gamaliel K. 2002. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effect of *ficus platyphilla* in rats and mice. *J herbs, Species and Med PL*. 9:43-53.
- Apriyantono *et al*. 1989. *Analisis Pangan*. Bogor: IPB-press.
- Atikah N. 2013. Uji aktivitas antimikroba ekstrak herba kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. [Skripsi]. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Available online at <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/24317/1/Nur%20Atikah-fkik.pdf>.
- Aygun D, Kaplan S, Odaci E, Onger ME, Altunkaynak ME. 2012. Toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A Review of Melatonin and Diclofenac Sodium Association. *Histology Histopatology*. 27:417-436.
- Bambang SZ, Suharjono, Budi S. 2008. Efek antinociceptif gaba agonis gabapentin terhadap nyeri neuropati pada hewan cobamencit. *Journal Penelitian Med. Eksakta*. 7(1):23-30.
- Bauman TJ. 2005. *Pain Management. Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York: The McGraw-Hill Companies, 1093.

- Chooi OH. 2004. *Buah: Khasiat Makanan dan Ubatan*. Kuala Lumpur: Utusan Publication & Distributor Snd Bhd.
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi 3. Jakarta: EGC, 388 & 390.
- Dalimarta S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [DepKes RI]. 1978. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- [Depkes RI]. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Cetakan Pertama. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- [DepKes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1-11.
- [DepKes RI]. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1030.
- [DepKes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm 10-11.
- [DepKes RI]. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm65-66.
- Dewi I, Astuti KW, Warditiani NK. 2012. Identifikasi kandungan kimia ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=127277&val=961>
- Dewoto HR. 2007. *Analgesik Opioid And Antagonis*. Farmakologi dan Terapi Ed. 5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. hlm 210-211.
- Dipiro JT, Tablert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, and Posey M. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 7th ed, 989-1002, MCGraw-Hill, USA.
- Eaton M. 2003. Common animal models for spacity and pain. *J. Rehab. Res. Dev.* 4(4):23-30.

- Esvandiary J. 2006. Efek analgetik dan antiinflamasi beta karoten pada mencit.[Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Flower RJ, Vane JR. 1972. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explain the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acethamidhophenol). *Nature* 240:410-411.
- Goodman, Gilman. 2006. *The pharmacologic Basic of Therapheutics* 11th Ed.McGraw-Hill Compaines Inc : New York.
- Goodman, Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi 10. Sisyah C. Elviana E. Syarief WR. Hanif A. Manurung J. Penerjemah. Penerbit: Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm 687. Terjemahan dari: *Goodman & Gimán's The Pharmacological Basic of Therapetic. 10th Ed.*
- Gotama IBI, Sugiarto S, Nurhadi M, Widyastuti, Wahyono S, Prapti IJ. 1999. Inventaris Tanaman Obat Indonesia, jilid V. Jakarta : Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 147 (8).
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Edisi I. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 9-14.
- Hadriyono K. 2011. Karakter buah manggis, kadar polifenol dan potensi antioksidan kulit buah manggis. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institute Pertanian Bogor.
- Harbone J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung; ITB. Terjemahan Dari: *Phytochemichal Methods English* J.K. 1980. *Introduction to Laboratory Animal Science and Technology*. Pergamon. Press. Ltd., Oxford. hlm 4-99.
- Hariana A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cet 1 (edisi revisi). Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 226-229.
- Harmanto N. 2001. *Mahkota Dewa : obat Pustaka Para dewa*. Jakarta: Argo media pustaka.
- Harmita, Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hartwig MS & Wilson LM. 2006. *Nyeri*. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 2. Jakarta: EGC, 1063-1064, 1073 & 1075.
- Hartwig MS dan Wilson LM. 2012. *Nyeri*. In: Price SA dan Wilson LM. ed. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Jakarta: EGC, 1063-1104.

- Harvey RA, Champe PC. 2014. *Farmakologi Ulasan Bergambar (Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*. Ed ke-4. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 595-609.
- Hernani. 2011. Pengembangan biofarmaka sebagai obat herbal untuk kesehatan. *BuletinTehnology Pascapanen Pertanian*. 7:20-29.
- Hossenzadeh H, Younesi HM. 2002. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Crocus sativus* L. stigma and petal extract in mice. *BMC Pharmacol*. 2:7-16.
- Iqbal M, Effendi Z, Aamruna Y, Suryawati. 2013. Uji aktivitas antimalaria in vivo dari beberapa fraksi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostan* L.) pada mencit (*Muss musculus*) yang diinfeksi dengan *plasmodium berghei*. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 1(1):1-6.
- Jihong C, Wen H, Zhanjun C, Yingxue L, Siyuan L, Wucheng T, Hui X. 2009. Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 95(2010):166-172.
- Jinsart W, Ternai B, Buddhasukh D, Polya GM. 1992. Inhibition of wheat embryocalcium-dependent protein kinase and other kinase by *mangostin* and *gammamangostin*. *Phytochemistry*. 31(11):3711-3713.
- Jung HA, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. 2006. Antioxidant Xanthones from The Pericarp of *Garcinia mangostana* (*Mangosteen*). *J Agric. Food. Chem*. 54:2077-2082.
- Kaloso JN, Bimeya GS, Ojok L, Ochieng J, Ogwal-okeng JW. 2010. Phytochemicals and Uses of *Moringa oleifera* Leaves in Ugandal rural Comunities. *Journal of Medical Plants Research*. 4(9):753-757.
- Katzung BG dan Tevor AJ. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 8. 497-498, Diterjemahkan oleh Salemba Medika. Jakarta.
- [KEMENKES RI]. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khare. 2007. *Indian Medical Plants*. Springer Science and Business Media. New York. http://ajprd.com/download ebooks_pdf/26.pdf.
- List PH, Schamidt PC. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Florida : CRC Press.
- Lutfiyah, Nahzi MYI, Raharja SK. 2016. Pengaruh ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap jumlah neutrofil pada inflamasi pulpa. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(2):203-208.

- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor : PAU Pangan dan Gizi, IPB.
- Meiyanto E. 2002. *Biologi Molekuler*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi UGM.
- Miryanti A, Lanny S, Kurniawan B, Stepen I. 2011. Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Skripsi]. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan.
- Mutschler E. 1991. *Dinamika Obat: Buku Ajaran Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi V. Penerjemah: Widiyanto MB, Ranti AS. Editor. Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 177-179. Terjemahan dari: *Mutschler. Ernst. Arzneimittelwirkungen. 5 vulling neubearbeitete and erweiterte Auflage*.
- Neal MJ. 2006. *At a Glance Farmakology Medis*. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga, 65 & 70.
- Nina Agni. 2013. Respons antiinflamasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap jumlah limfosit pada gingival tikus wistar jantan pasca induksi *Porphyromonas gingivalis*. [Skripsi]. Jember: Universitas Jember.
- Nuraini M. 2016. Uji aktivitas fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air ekstrak etanol biji labu kuning (*Curcubita moschata* D.) dengan metode *tail flick*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Nurdiana. 2000. Uji efek analgesik ekstrak kasar dan ekstrak flavonoid daun wungu pada tikus. *Journal Kedokteran Yarsi*. 2:8.
- Oktavianus S, Fatmawati dan Widya AL. 2014. Uji efek analgesik ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L) pada mencit putih jantan (*Muss musculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3:2.
- Pan MH, Lai CS and Ho CT. 2010. *Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids*. *Food Funct*. 1:5-13.
- Pandey PV, Bodhi W, Yudistira A. 2013. Uji efek analgetik rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT. 2(2):2303-2493.
- Pasaribu F, Sitorus P, Bahri S. 2012. Uji ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostan* Linn) terhadap penurunan kadar glukosa darah. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 1(1):1-8.
- Pasto DC, Johnson, Miller M. 1992. *Experients and Technique in Organic Chemistry*. New Jersey : Prentice Hall, Inc.

- Patel JM. 2008. *A rievew of potential health benefits of flavonoids*. Lethbridge Undergraduate Research Journal. ISSN 1718-8482.
- Poeloengan, Masniari P. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Media Lubang Kesehatan*. 20(2):65-69.
- Ponggele RM, Najoran J, Wuisan J. 2013. Uji efek analgesik ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada mencit swiss (*Muss musculus*). *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. 1(2):796-801.
- Prasetya RC. 2013. Jumlah sel makrofag gingiva tikus wistar jantan yang diinduksi periodentis setelah pemberian ekstrak etanolik kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*L.). *Jurnal Dentofacial*. 12(3):135-138.
- Prihatman K. 2000. Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi BPP Teknologi. Jakarta.
- Priliana, Kardiyudiaani. 2014. Pengaruh pemberian teknik relaksasi nafas dalam terhadap penurunan nyeri pada pasien post operasi fraktur femur. *Journal Keperawatan Notokusumo*. 11(1).
- Puspitaningrum I, Kusmita L, Seyani W. 2014. Efek analgetik antipiretik ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada tikus putih jantan galur wistar. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. 11(1):18-24.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organic Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *The Organic Constituent Of Higher Plants*.
- Rowe Raymond C, Paul J Sheskey, Marian E Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Exipients*. Ed ke-6. London: Pharmaceutical Press. 122-125.
- Safitri. 2013. Uji efek analgetik infusa daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) terhadap mencit jantan galur swiss yang diinduksi dengan asam asetat [Naskah Publikasi]. Universitas Tanjungpura: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Sarker, Satyajit D, Zahid L, Alexander I, Gray. 2006. *Natural Product Isolation Second Edition*. Human Press, New Jersey.
- Smith JB dan Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 10-18; 33-35.

- Soeksmanto A. 2006. Pengaruh ekstrak butanol buah tua mahkota dewa halaman 278-279 (7). Available from : <http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D070317.pdf>
- Sugiyanto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sukandar EY *et al.* 2009. *ISO FARMAKOTERAPI*. Jakarta: PT.ISFI517 penerbitan.
- Syamsudin dan Darmono. 2011. *Buku Ajar Farmakologi Eksperimental*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 5, 65-67.
- Syukri Y, Saepudin. 2008. Aktivitas penghambatan kejadian kanker ekstrak etanol buah mahkota dewa. 5(1):9-11. Available from : <http://data.dppm.uji.ac.id/uploads/10501025%20Yandi%saepudin.pdf>
- Tan HT dan Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi V. hlm 296-302.
- Tan HT dan Rahardja K. 2013. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi VI. hlm 312-319.
- Tiwari P, Bimleshk, Mandeep K, GurpreetK, Harleen K. 2011. Skrinning Fitokimia dan Ekstraksi. *Internationale Pharmaceutica Scientia*.1:113-116.
- Tjay TH dan Kirana R. 2007. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. PT Elex Media Komputindo. Jakarta. hlm 752-755.
- Turner RA. 1965. *Screening Methods in Pharmacology*, 2nd Printing. New York: Academic Press.
- Vogel GG. 2002. *Drug Discovery & Evaluation : Pharmacological Assays*, 2nd Edition, p 669-691, 725,751-761, Springer, New York.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. hlm: 4-10, 560-564, 568, 570. Terjemahan: lehburch Der Pharmazeutischen Technology.
- Voight R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed ke-5. Noerono S, Penerjemah. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.hlm 561.
- Widiarti, Retnosari A, Juheini A. 2012. Uji efek analgesic ekstrak etanol mencit jantan dengan metode *tail flick*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 9: 67-120.

- Wilmana PF, Sulista GG. 2007. *Analgetik-Antipiretik, Analgesik-Antiinflamasi Non Steroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. Ed ke-5. Gunawan GS, Setiabudi R, Nafriadi, Elysabeth, editor, Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Windarini LGE, Astuti KW, Warditiani NK. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=127278&val=961>.
- Yong ye, Ya Gou, and Yue-Ting Luo. 2012. Anti-inflammatory and analgesic activities of a novel flavonoid from shells of *camellia oleifera*. *International jurnal*. 13:12401-12411.
- Yulianti R. 2014. Standardisasi ekstrak etanol daun angsana (*Pterocarpus indicuss* Willd.) [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah. <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/26472/1/RISDA%20YULIANTI-FKIK.pdf>.
- Yusuf H. 2001. Efek analgesia ekstrak daun klausena (*Clausenaanisa* Hook.f.) pada tikus putih dengan metode *rat tail analgesy* test. [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutarni 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biolog @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 26/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Sukini
NIM : 20144225A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Garcinia mangostana* L.
Familia : Clusiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834a-835b-983b-984b-986b-991b-992b-993b-994b-995d-1036c-1038a-1039b-1040b

90. Clusiaceae

1b-2b

4. *Garcinia*

1b-2b-4a-5b

***Garcinia mangostana* L.**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tegak, tinggi bisa mencapai 5-20 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bentuk bulat, berkayu, tumbuh tegak, kulit batang coklat, memiliki getah kuning, percabangan banyak, arah cabang condong ke atas. Daun : tunggal, tersusun berhadapan atau bersilang berhadapan, helaian daun berbentuk ellips memanjang, panjang 12-23 cm, lebar 4.5-10 cm, berdaging tebal seperti kulit, permukaannya licin dan mengkilap, pangkal daun tumpul, tepi daun rata, ujung daun meruncing tajam, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau gelap, permukaan bawah hijau terang; tangkai daun bulat, panjang 1.5-2 cm, hijau, permukaan gundul. Bunga : tunggal atau berpasangan pada bagian ujung percabangan, berkelamin tunggal, yang dikenal hanya bunga betina sedangkan bunga jantan tidak diketahui; panjang tangkai bunga 1.75-2 cm. Bunga betina berjumlah 1-3 di ujung batang, susunan menggarpu, garis tengah 5-6 cm; 2 daun kelopak bunga yang terluar hijau kekuningan, 2 daun kelopak bunga yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, ujungnya tumpul; mahkota bunga terdiri dari 4 daun mahkota, bentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kekuningan, tepi merah atau hampir semua merah; benang sari mandul (staminodia) biasanya dalam tukul (kelompok); bakal buah beruang 4-8, kepala putik berjari-jari 4-6. Buah : buah berbentuk bulat, diameter 3.5-7 cm, kepala putik tetap tinggal, kelopak tetap tinggal dan berwarna hijau, kulit buah tebal, buah yang masih muda berwarna hijau sedangkan buah yang sudah masak berwarna merah tua keunguan, dengan getah kuning, berdaging buah warnanya putih, rasanya enak dan manis. Biji : biji 5-7 per buah, berwarna kecoklatan, diselubungi oleh selaput biji yang tebal berair, putih, dapat dimakan.

Surakarta, 25 Januari 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
√ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Sukini

Nim : 20144225 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Balb/c

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 40 ekor

Jenis kelamin : Jantan

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 03 April 2018

Hormat kami



Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Surat Kelayakan Hewan Uji

3/9/2018

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 319 / III / HREC / 2018

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK, FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (Garcinia mangostana L.) DENGAN METODE TAIL FLICK

Principal investigator
 Peneliti Utama : Sukini
 : 20144225A

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 09 Mar 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F,MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 4. Foto Jalannya Penelitian



Manggis segar



Proses pengeringan



Oven simplisia



Penggiling



Ayakan 40 penyaringan



Serbuk kulit buah manggis



Botol maserasi Proses



Rotary evaporator



Oven ekstrak



Neraca analitik



Ekstrak kental



Piknometer



Sterling bidwell



Moisture balance



Asme tablet



Ekstraksi cair-cair *n*-heksana dan air (replikasi 1)



Ekstraksi cair-cair *n*-heksana dan air (replikasi 2)



Ekstraksi cair-cair *n*-heksana dan air (replikasi 3)



Ekstraksi cair-cair etil asetat dan air (replikasi 1)



Ekstraksi cair-cair
etil asetat dan
air (replikasi 2)



Ekstraksi cair-cair
etil asetat dan
air (replikasi 3)



Fraksi *n*-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air



Suspensi CMC-Na



Suspensi asmeff



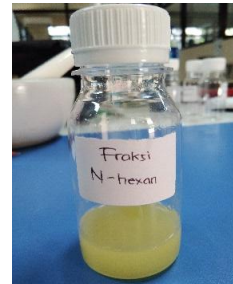
Ekstrak dosis I



Ekstrak dosis II



Ekstrak dosis III



Fraksi *n*-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air



Oral ke mencit



Hewan mencit



Uji analgesiometer

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

A. Rendemen berat kulit basah terhadap kulit kering

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\% b/b)} &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= 51,66\% \end{aligned}$$

B. Rendemen ekstrak kulit buah manggis

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\% b/b)} &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= 23,60\% \end{aligned}$$

C. Rendemen fraksi *n*-heksana kulit buah manggis

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\% b/b)} &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= 2,03\% \end{aligned}$$

D. Rendemen fraksi etil asetat kulit buah manggis

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\% b/b)} &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= \text{Error! Reference source not} \\ &\text{found.} \times 100\% \\ &= 25,12\% \end{aligned}$$

E. Rendemen fraksi air kulit buah manggis

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{\text{Error! Reference source not found.}}{\text{found.}} \times 100\%$$

$$= \frac{\text{Error! Reference source not found.}}{\text{found.}} \times 100\%$$

$$= 52,42\%$$

$$\text{Total fraksi} = 2,03\% + 25,12\% + 52,42\% = 79,58\%$$

Lampiran 6. Penetapan Susut pengeringan Serbuk dan Ekstrak

Cara *moisture balance*

Bahan	Berat bahan (g)	Kandungan kelembaban (%)
Serbuk	2	9,2
	2	9,0
	2	9,5
Rata-rata		9,2 ± 0,25
Ekstrak	2	8,7
	2	8,5
	2	8,0
Rata-rata		8,4 ± 0,36

Lampiran 7. Perhitungan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak

Cara Sterling-Bidwell

Bahan	Berat bahan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air % v/b
Serbuk	1. 20	1. 1,5	1. 7,5
	2. 20	2. 1,6	2. 8,0
	3. 20	3. 1,5	3. 7,5
Rata-rata			7,6 ± 0,28
Ekstrak	1. 10	1. 0,85	1. 8,5
	2. 10	2. 0,90	2. 9,0
	3. 10	3. 0,85	3. 8,5
Rata-rata			8,8 ± 0,28

Contoh Perhitungan :

Replikasi serbuk 1

Berat serbuk = 20

Volume air = 1,5

Kadar air = **Error! Reference source not found.** x 100%

Kadar air = **Error! Reference source not found.** x
100%

= **Error! Reference source not found.** x 100%

= **Error! Reference source not found.**

x 100%

= 7,5 % v/b

= 9,0 % v/b

Rata-rata % kadar air serbuk = **Error! Reference source not found.**

= **Error! Reference source not found.** = 7,6 %

Rata-rata % kadar air ekstrak = **Error! Reference source not found.**

= **Error! Reference source not found.** = 8,8 %

Lampiran 8. Penetapan Berat Jenis Ekstrak

No.	Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
1.	40,4096	49,7538	0,8121
2.	43,3327	52,5257	0,8249
3.	37,4791	47,3314	0,7918
Rata-rata			0,8096 ± 0,017

Contoh Perhitungan :

Replikasi 1

Berat *piknometer* kosong = 27,630 g

Berat *piknometer* + air = 77,3838 g

Berat air = (berat *piknometer* + air) – berat *piknometer* kosong
= 77,3838 g – 27,630 g
= 49,7538 g

Berat jenis air = 1 g/ cm³



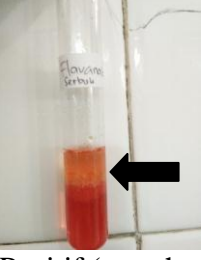
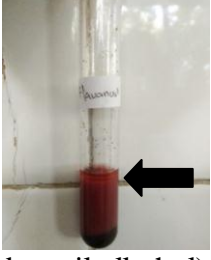


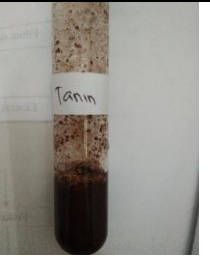



Volume air = **Error! Reference source not found.**
= **Error! Reference source not found.**
= 49,7538 ml

Berat *piknometer* + ekstrak = 68,0396 g

Berat ekstrak = (berat *piknometer* + ekstrak) – berat *piknometer* kosong
= 68,0396 g – 27,630 g
= 40,4096 g

Berat jenis ekstrak = **Error! Reference source not found.**
= **Error! Reference source not found.**
= 0,8121 g/ ml

Lampiran 9. Skrinning fitokimia serbuk & ekstrak dengan metode tabung

Senyawa golongan	Serbuk	Ekstrak etanol
		
Sebelum diberi reagen		
<p style="text-align: center;">Flavanoid</p> <p>Serbuk/ekstrak + 0,1 Mg + 2 ml alkohol + 2 ml HCL + amil alkohol</p>		
Positif (merah pada amil alkohol)		
<p style="text-align: center;">Fenolik</p> <p>Serbuk/ekstrak + FeCl₃ 1%</p>		
Positif (warna hitam pekat)		
<p style="text-align: center;">Tanin</p> <p>Serbuk/ekstrak + FeCl₃ 1%</p>		
Positif (warna hitam)		
<p style="text-align: center;">Alkaloid</p> <p>Mayer : serbuk/ ekstrak + 2 tetes reagen mayer, Dragendroff : serbuk/ ekstrak + 1,5 ml HCL 2% + 2-4 tetes reagen dragendroff.</p>		
Positif (mayer : endapan dan keruh putih; dragendroff : keruh dan endapan coklat)		

Saponin

Serbuk/ekstrak + 10 ml air panas +
1 tetes HCL 2N



Positif (terdapat buih)

Steroid/ terpenoid

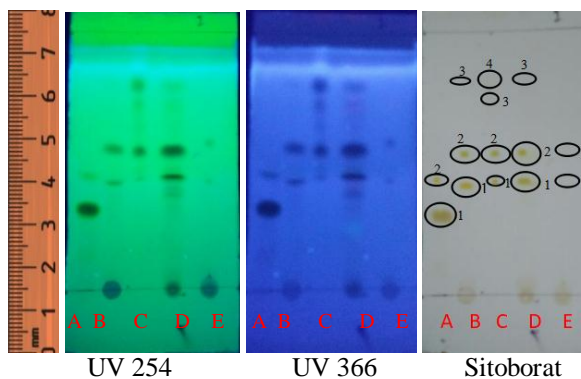
Serbuk/ ekstrak + 1 tetes reagen
Lieberman Bourchard (1 ml asam
asetat anhidrat + 1 tetes asam sulfat
pekat)



Negatif (terpenoid : tidak terbentuk cincin coklat;
steroid : tidak terbentuk cincin biru-kehijauan)

Lampiran 10. Hasil Pengujian dengan menggunakan KLT

A. Identifikasi KLT senyawa Flavonoid



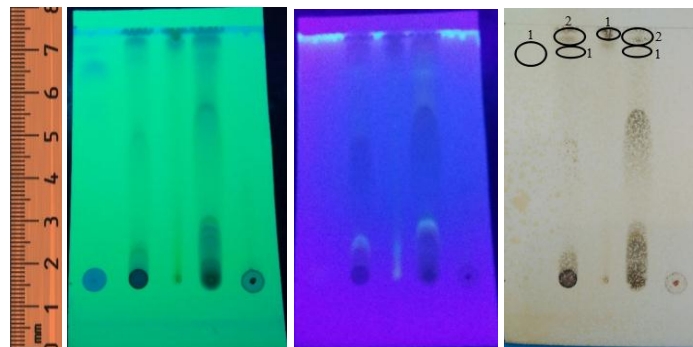
Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : sitoborat. Baku kuersetin (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi sitoborat	Pustaka (Depkes RI 1987)	Ket
A	A ₁	0,30	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	
	A ₂	0,45	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	
B	B ₁	0,41	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	B ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	B ₃	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
C	C ₁	0,40	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
	C ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	C ₃	0,73	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
	C ₄	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
D	D ₁	0,40	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	D ₂	0,55	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	D ₃	0,83	Gelap	Hitam	Tidak berwarna	Kuning	-
E	E ₁	0,40	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
	E ₂	0,46	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

A₁ = **Error! Reference source not found.** = 0,30

B. Identifikasi KLT senyawa Tanin



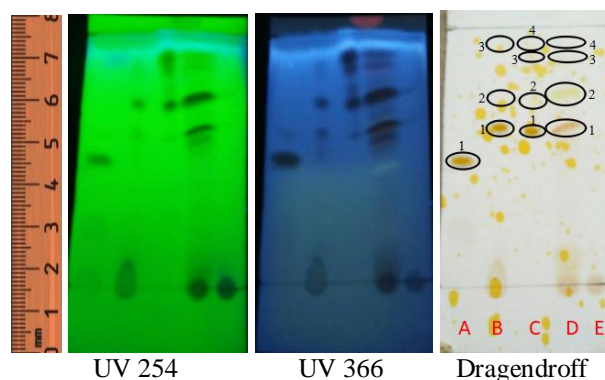
UV 254 UV 366 FeCl₃
 Fase gerak *n*-heksana : etil asetat (3:7). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : FeCl₃. Baku Asam galat (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi FeCl ₃	Pustaka (Harbone 1987)	Ket
A	A ₁	0,88	Gelap	Biru	Hitam	Hijau tua kehitaman	
B	B ₁	0,88	Gelap	Biru	Tidak berwarna	Hijau tua kehitaman	-
	B ₂	0,96	Gelap	Biru	Tidak berwarna	Hijau tua kehitaman	+
C	C ₁	0,98	Gelap	Biru	Hitam	Hijau tua kehitaman	+
D	D ₁	0,88	Gelap	Biru	Tidak berwarna	Hijau tua kehitaman	-
	D ₂	0,96	Gelap	Biru	Hitam	Hijau tua kehitaman	+
E	-	-	-	-	-	Hijau tua kehitaman	-

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

A₁ = **Error! Reference source not found.** = 0,88

C. Identifikasi KLT senyawa Alkaloid



UV 254 UV 366 Dragendroff
 Fase gerak toluen : etil asetat : dietil amin (7:2:1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : Dragendroff. Baku kafein (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

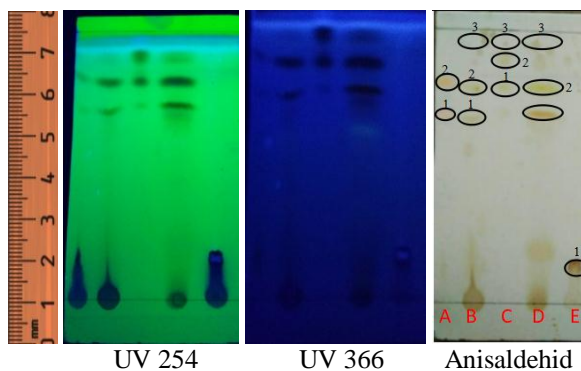
Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Dragendroff	Pustaka (Meiyanto)	Ket
--------	-------------	----	--------	--------	----------------------	--------------------	-----

2002)						
A	A ₁	0,48	Gelap	Hitam	Merah bata	Merah bata
B	B ₁	0,61	Gelap	Hitam	Coklat	Merah bata
	B ₂	0,75	Gelap	Hitam	-	Merah bata
	B ₃	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata
C	C ₁	0,6	Gelap	Hitam	Coklat	Merah bata
	C ₂	0,73	Gelap	Hitam	-	Merah bata
	C ₃	0,91	Gelap	Hitam	-	Merah bata
	C ₄	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata
D	D ₁	0,61	Gelap	Hitam	Merah bata	Merah bata
	D ₂	0,75	Gelap	Hitam	Hijau	Merah bata
	D ₃	0,91	Gelap	Hitam	-	Merah bata
	D ₄	0,95	Gelap	Hitam	-	Merah bata
E	-	-	-	-	-	Merah bata

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

B₁ = **Error! Reference source not found.** = 0,61

D. Identifikasi KLT senyawa Saponin



Fase gerak kloroform : metanol : air (64:35:2). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : anisaldehyd. Baku saponin (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E)

A B C D E A B C D E

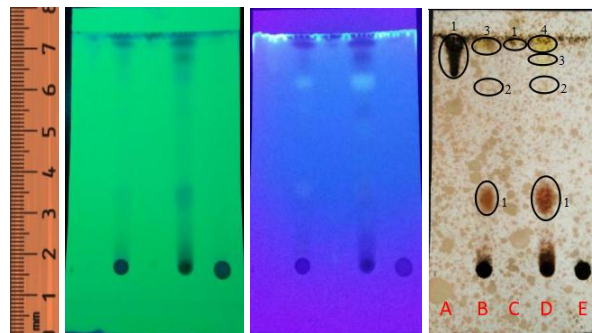
Sampel	Kode berca	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Anisaldehyd	Pustaka (Robinson	Ket
--------	------------	----	--------	--------	----------------------	-------------------	-----

							1995)	
		k						
A	A ₁	0,65	Gelap	Hitam	Coklat-kuning	Coklat		
	A ₂	0,78	Gelap	Hitam	Coklat-kuning	kehitaman		
B	B ₁	0,61	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	Coklat	+	
	B ₂	0,75	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	kehitaman	+	
	B ₃	0,96	Gelap	Hitam	-		-	
C	C ₁	0,75	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	Coklat	+	
	C ₂	0,78	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	kehitaman	+	
	C ₃	0,96	Gelap	Hitam	-		-	
D	D ₁	0,66	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	Coklat	+	
	D ₂	0,75	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	kehitaman	+	
	D ₃	0,96	Gelap	Hitam	-		-	
E	E ₁	0,15	Gelap	Hitam	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	+	

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

C₂ = **Error! Reference source not found.** = 0,78

E. Identifikasi KLT senyawa steroid/triterpenoid



UV 254 UV 366 Liberman burchard

Fase gerak *n*-heksana : etil asetat (4:1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : Lieberman-Bourchard. Baku stigmasterol (A), ekstrak etanol (B), fraksi *n*-heksana (C), fraksi etil asetat (D), fraksi air (E).

A B C D E A B C D E

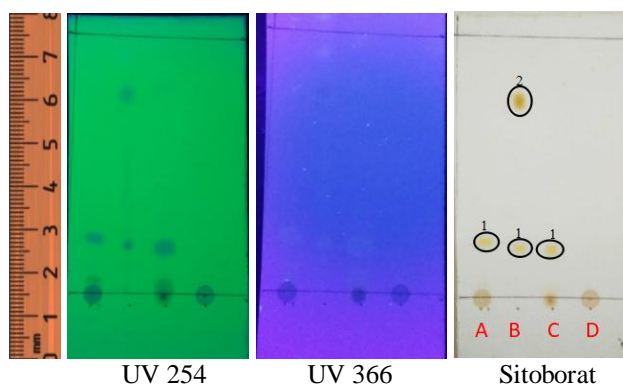
Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Lieberman burchard	Pustaka (Robinson 1995)	Ket
A	A ₁	0,91	Gelap	Biru	Merah-hitam	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	

B	B ₁	0,3	Gelap	Biru	Merah-ungu	Steroid merah-ungu,	+
	B ₂	0,76	Gelap	Biru	Coklat-kuning	terpenoid hijau-biru	-
	B ₃	0,95	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
C	C ₁	0,96	Gelap	Biru	Coklat-kuning	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	-
D	D ₁	0,30	Gelap	Biru	Merah-ungu	Steroid merah-ungu,	+
	D ₂	0,76	Gelap	Biru	Coklat-kuning	terpenoid hijau-biru	-
	D ₃	0,9	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
	D ₄	0,95	Gelap	Biru	Coklat-kuning		-
E	-	-	-	-	Tidak ada perubahan	Steroid merah-ungu, terpenoid hijau-biru	-

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

D₁ = **Error! Reference source not found.** = 0,30

F. Identifikasi KLT senyawa Xanton



Fase gerak kloroform : benzena (7:3). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi : sitoborat. Ekstrak etanol (A), fraksi *n*-heksana (B), fraksi etil asetat (C), fraksi air (D).

Sampel	Kode bercak	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Sitoborat	Pustaka (Harbone 1987)	Ket
A	A ₁	0,21	Gelap	Putih	Kuning	Kuning/jingga	+
B	B ₁	0,16 ^A	Gelap	Putih	Kuning	Kuning/jingga	+
	B ₂	0,75	Gelap	Putih	Kuning	Kuning/jingga	+
C	C ₁	0,16	Gelap	Putih	Kuning	Kuning/jingga	+
D	-	-	-	-	-	Kuning/jingga	-

Contoh perhitungan Rf = **Error! Reference source not found.**

B₂ = **Error! Reference source not found.** = 0,75

Lampiran 11. Perhitungan dosis ekstrak dan fraksi pada hewan uji

1. Larutan CMC Na

- Larutan stok dibuat 0,5 % = 500 mg/100 ml
 - = 50 mg/10 ml
 - = 5 mg/ml
 - = 2,5 mg/0,5 ml

Larutan stok CMC Na akan dibuat sebanyak 10 ml dan volume pemberian untuk masing-masing mencit 20 g adalah 0,5 ml.

2. Penetapan dosis asam mefenamat

Dosis asam mefenamat adalah 500 mg (pada manusia 70 kg)

- Dosis untuk mencit = $0,0026 \times 500 \text{ mg} = 1,3 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$
- Larutan stok 0,5% = 500 mg/100 ml
 - = 50 mg/10 ml
 - = 5 mg/ml
 - = 2,5 mg/0,5 ml

- Perhitungan penimbangan :

Sediaan 500 mg = 653 mg (serbuk)

Error! Reference source not found. = Error! Reference source not found.

$$X = \text{Error! Reference source not found.} \frac{653 \times 500}{500}$$

$$X = 653 \text{ mg}/100 \text{ ml} \text{ (65,3 mg}/10\text{ml)}$$

3. Penetapan dosis ekstrak

Dosis ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang digunakan yaitu dosis pada penelitian ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebelumnya oleh Puspitaningrum *et al.* 2014 sebesar 100 mg/ kg BB tikus. Dosis untuk tikus adalah 100 mg/kg BB tikus = 100 mg/1000 g BB tikus = 20 mg/200 g BB tikus. Konversi dosis tikus (200 g) ke mencit (20 g) adalah 0,14. Dosis untuk mencit adalah 20 mg x 0,14 = 2,8 mg/20 g BB mencit (140 mg/kg BB mencit). Kemudian dilakukan orientasi dosis ekstrak kulit buah manggis dengan 3 macam variasi.

- Dosis I : $\frac{1}{2}$ x dosis (70 mg/kg BB mencit)
 - 70 mg/kg BB mencit = 70 mg/1000 g BB mencit
= 1,4 mg/20 g BB mencit
 - Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 1,4 mg
 - Larutan stok ekstrak = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 1,4
mg
= 28 mg

Jadi sebanyak 28 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

- Dosis II : 1 x dosis (140 mg/kg BB mencit)
 - 140 mg/kg BB mencit = 140 mg/1000 g BB mencit
= 2,8 mg/20 g BB mencit
 - Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 2,8 mg
 - Larutan stok ekstrak = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 2,8
mg
= 56 mg

Jadi sebanyak 56 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

- Dosis III : 2 x dosis (280 mg/kg BB mencit)
 - 280 mg/kg BB mencit = 280 mg/1000 g BB mencit
= 5,6 mg/20 g BB mencit
 - Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 5,6 mg
 - Larutan stok ekstrak = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 5,6
mg
= 112 mg

Jadi sebanyak 112 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

4. Penetapan dosis fraksi *n*-heksana

- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x dosis efektif ekstrak
- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x 280 mg = 7,1442 mg ~ 7,14 mg/kg BB
- 6 mg/ kg BB mencit = 7,14 mg/1000 g BB mencit
= 0,14 mg/20 g BB mencit
Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 0,14 mg
- Larutan stok *n*-heksana = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 0,14 mg
= 2,8 mg

Jadi sebanyak 2,8 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

5. Penetapan dosis fraksi etil asetat

- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x dosis efektif ekstrak
- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x 280 mg = 88,409 mg ~ 88,41 mg/ kg BB
- 74 mg/ kg BB mencit = 88,41 mg/1000 g BB mencit
= 1,768 mg/20 g BB mencit
Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 1,768 mg
- Larutan stok ekstrak = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 1,768 mg
= 35,36 mg

Jadi sebanyak 35,36 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

6. Penetapan dosis fraksi air

- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x dosis efektif ekstrak
- Dosis fraksi = **Error! Reference source not found.** x 280 mg = 184,446 mg ~ 184,45 mg/kg BB
- 200 mg/ kg BB mencit = 184,45 mg/1000 g BB mencit
= 3,689 mg/20 g BB mencit
Jadi dosis ekstrak untuk 20 g mencit adalah 3,67 mg
- Larutan stok ekstrak = **Error! Reference source not found.** x dosis
= **Error! Reference source not found.** x 3,67 mg
= 73,4 mg

Jadi sebanyak 73,4 mg ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam 10 ml CMC 0,5%

Lampiran 12. Perhitungan Volume Pemberian untuk Mencit

Kelompok	BB mencit (g)	Volume oral (ml)	Kelompok	BB mencit (g)	Volume oral (ml)
CMC Na 0,5 %	26,30	0,65	CMC Na 0,5 %	26,30	0,65
	26,20	0,65		26,20	0,65
	27,10	0,67		27,10	0,67
	28	0,70		28	0,70
	31	0,77		31	0,77
Asam mefenamat (65 mg/kg BB)	27,10	0,35	Asam mefenamat (65 mg/kg BB)	27,10	0,35
	30,20	0,39		30,20	0,39
	29,60	0,38		29,60	0,38
	27,50	0,35		27,50	0,35
	31	0,40		31	0,40
Dosis I (ekstrak etanol 70 mg/kg BB)	21,60	0,54	Fraksi <i>n</i> -heksana (7,14 mg/kg BB)	28,63	0,71
	25,70	0,64		27,61	0,69
	25,40	0,63		28,73	0,71
	27,20	0,68		26,31	0,65
	26,70	0,66		27,58	0,68
Dosis II (ekstrak etanol 140 mg/kg BB)	23,80	0,59	Fraksi etil asetat (88,41 mg/kg BB)	26,96	0,74
	23,60	0,59		27,71	0,69
	28,30	0,70		28,39	0,70
	24,70	0,61		26,05	0,65
	26,60	0,66		27,25	0,68
Dosis III (ekstrak etanol 280 mg/kg BB)	28,60	0,71	Fraksi air (184,45 mg/kg BB)	25,19	0,62
	27,60	0,69		24,24	0,60
	28,30	0,70		21,81	0,54
	25,50	0,63		21,46	0,53
	27	0,67		24,79	0,61

Contoh Perhitungan :

CMC-Na, replikasi 3 = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,67 ml

Asam mefenamat, replikasi 1, Dosis = **Error! Reference source not found.** x 1,3 mg = 1,761 mg

Volume oral = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,35 ml

Ekstrak dosis I, replikasi 1 = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,54 ml

Fraksi *n*-heksana, replikasi 1 = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,71 ml

Fraksi etil asetat, replikasi 2 = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,69 ml

Fraksi air, replikasi 3 = **Error! Reference source not found.** x 0,5 ml = 0,54 ml

Lampiran 13. Data hasil orientasi dosis efektif

Hasil waktu respon jentik ekor mengibas pada ekstrak sebelum dikurangi W_0

Kelompok	Mencit	0	30	60	90	120	150	180	X	SD
Na CMC 0,5%	1	4,06	6,54	6,43	6,2	6,61	5,37	5,3	6,07	0,93
	2	5,56	6,58	7,89	8,15	8,84	6,51	5,64	7,21	1,33
	3	4,45	5,79	5,02	6,18	6,84	5,24	5,16	5,70	0,80
	4	3,70	7,75	7,54	8,04	8,48	7,26	7,16	7,70	1,58
	5	4,45	6,33	6,13	7,04	7,18	6,11	6,06	6,47	0,89
	X	4,44	6,59	6,60	7,12	7,59	6,09	5,80		
SD	0,69	0,71	1,15	0,95	1,00	0,83	0,83			
Asam mefenamat	1	4,64	10,43	10,69	11,9	11,89	9,82	8,98	9,76	2,49
	2	7,59	13,89	14,48	14,68	15,39	13,35	12,72	13,16	2,60
	3	4,53	11,38	11,52	12,36	12,95	10,67	10,97	10,63	2,80
	4	5,15	12,75	13,06	14,27	14,76	10,83	10,89	11,67	3,24
	5	6,93	12,55	12,16	13,28	13,53	11,78	11,59	11,69	2,21
	X	5,76	12,20	12,38	13,29	13,70	11,29	11,03		
SD	1,40	1,33	1,45	1,19	1,40	1,34	1,35			
Ekstrak Dosis 1,4 mg	1	4,70	7,19	7,75	7,86	7,93	7,12	6,82	7,05	1,12
	2	3,76	8,89	9,77	10,46	10,72	8,33	7,22	8,45	2,40
	3	4,51	7,24	7,51	8,56	8,11	6,45	6,23	6,94	1,35
	4	7,05	9,39	9,69	10,3	10,63	9,31	9,11	9,35	1,15
	5	4,42	8,15	8,47	9,27	9,32	7,53	7,10	7,75	1,68
	X	4,88	8,17	8,63	9,29	9,34	7,74	7,29		
SD	1,25	0,97	1,05	1,11	1,32	1,10	1,08			
Ekstrak Dosis 2,8 mg	1	6,10	7,99	8,31	8,56	8,67	7,63	7,31	7,79	0,89
	2	7,20	10,08	11,01	11,15	10,51	10,09	8,51	9,79	1,43
	3	5,54	7,55	8,93	8,59	8,99	7,95	7,22	7,82	1,21
	4	6,75	8,16	8,85	9,76	10,19	7,71	7,32	8,39	1,27
	5	6,79	8,84	8,99	9,03	9,23	8,09	7,47	8,34	0,92
	X	6,47	8,52	9,21	9,41	9,51	8,29	7,56		
SD	0,65	0,98	1,03	1,08	0,79	1,02	0,53			
Ekstrak Dosis 5,6 mg	1	3,29	9,41	9,39	10,87	11,26	8,83	8,46	8,78	2,63
	2	4,09	12,39	13,87	13,93	14,68	12,48	11,15	11,80	3,60
	3	5,03	10,12	10,34	11,03	11,33	9,47	9,75	9,58	2,11
	4	6,14	11,62	12,18	13,52	13,72	11,12	10,95	11,32	2,53
	5	4,25	11,49	11,96	12,78	12,87	10,25	10,06	10,52	2,97
	X	4,56	11,00	11,54	12,42	12,77	10,43	10,07		
SD	1,07	1,21	1,73	1,41	1,49	1,43	1,076			

Hasil waktu respon jentik ekor mengibas pada ekstrak sesudah dikurangi Wo

Kelompok	Mencit	30	60	90	120	150	180	X	SD
Na CMC 0,5%	1	2,48	2,37	2,14	2,55	1,31	1,24	2,015	0,59
	2	1,02	2,33	2,59	3,28	0,95	0,08	1,658	1,295
	3	1,34	0,57	1,73	2,39	0,79	0,71	1,255	0,708
	4	4,05	3,84	4,34	4,78	3,56	3,46	4,005	0,497
	5	1,88	1,68	2,59	2,73	1,66	1,61	2,025	0,502
	X	2,154	2,158	2,678	3,146	1,654	1,36		
SD	1,07	1,063	0,890	0,870	0,999	1,217			
Asam mefenamat	1	5,79	6,05	7,26	7,25	5,18	4,34	5,978	1,151
	2	6,3	6,89	7,09	7,8	5,76	5,13	6,495	0,965
	3	6,85	6,99	7,83	8,42	6,14	6,44	7,112	0,861
	4	7,6	7,91	9,12	9,61	5,68	5,74	7,61	1,649
	5	5,62	5,23	6,35	6,6	4,85	4,66	5,552	0,791
	X	6,432	6,614	7,53	7,936	5,522	5,262		
SD	0,810	1,016	1,034	1,152	0,507	0,843			
Ekstrak dosis 1,4 mg	1	2,49	3,05	3,16	3,23	2,42	2,12	2,745	0,461
	2	5,13	6,01	6,7	6,96	4,57	3,46	5,472	1,341
	3	2,73	3	4,05	3,6	1,94	1,72	2,84	0,91
	4	2,34	2,64	3,25	3,58	2,26	2,06	2,688	0,602
	5	3,73	4,05	4,85	4,9	3,11	2,68	3,887	0,902
	X	3,284	3,75	4,402	4,454	2,86	2,408		
SD	1,165	1,367	1,455	1,538	1,047	0,681			
Ekstrak dosis 2,8 mg	1	1,89	2,21	2,46	2,57	1,53	1,21	1,978	0,536
	2	2,88	3,81	3,95	3,31	2,89	1,31	3,025	0,952
	3	2,01	3,39	3,05	3,45	2,41	1,68	2,665	0,742
	4	1,41	2,1	3,01	3,44	0,96	0,57	1,915	1,143
	5	2,05	2,2	2,24	2,44	1,3	0,68	1,818	0,682
	X	2,048	2,742	2,942	3,042	1,818	1,09		
SD	0,530	0,798	0,662	0,495	0,804	0,460			
Ekstrak dosis 5,6 mg	1	6,12	6,1	7,58	7,97	5,54	5,17	6,413	1,12
	2	8,3	9,78	9,84	10,59	8,39	7,06	8,993	1,301
	3	5,09	5,31	6	6,3	4,44	4,72	5,31	0,722
	4	5,48	6,04	7,38	7,58	4,98	4,81	6,045	1,193
	5	7,24	7,71	8,53	8,62	6	5,81	7,318	1,211
	X	6,446	6,988	7,866	8,212	5,87	5,514		
SD	1,317	1,790	1,426	1,576	1,525	0,964			

Lampiran 14. Hasil uji analgesik ekstrak dan fraksi kulit buah manggis

Hasil waktu respon jentik ekor mengibas pada ekstrak dan fraksi sebelum dikurangi W_0

Kelompok	mencit	0	30	60	90	120	150	180	X	SD
Na CMC 0,5 %	1	6,96	10,24	8,49	7,65	9,16	7,09	7,65	8,17	1,19
	2	6,18	8,91	8,22	8,43	7,66	7,40	9,28	8,01	1,04
	3	5,18	7,75	7,30	7,35	6,63	6,43	7,36	6,85	0,86
	4	7,16	8,61	9,58	9,37	8,20	9,23	7,90	8,57	0,88
	5	5,17	7,84	8,81	7,38	6,76	7,64	5,61	7,03	1,28
	X	5,66	8,67	8,48	8,03	7,68	7,55	7,56		
SD	1,56	1,00	0,83	0,86	1,05	1,03	1,31			
Asam mefenamat	1	6,16	11,2	11,52	12,35	14,45	13,32	11,48	11,50	2,62
	2	6,09	12,7	13,62	13,21	14,7	14,35	12,44	12,44	2,91
	3	5,22	10,88	11,3	13,67	13,94	12,42	11,32	11,25	2,91
	4	3,45	9,51	11	12,46	14,62	13,55	10,55	10,73	3,66
	5	4,81	11,85	11,03	12,31	12,51	13,02	10,88	10,92	2,80
	X	4,98	11,22	11,69	12,8	14,04	13,33	11,33		
SD	2,14	1,18	1,09	0,60	0,90	0,70	0,71			
Ekstrak etanol	1	5,17	10,71	9,62	11,22	12,74	12,23	11,21	10,41	2,52
	2	5,72	10,13	11,17	12,97	11,93	12,23	11,96	10,87	2,44
	3	4,08	10,6	7,22	11,12	10,75	10,13	9,19	9,01	2,54
	4	3,08	8,87	9,79	10,74	10,22	8,66	8,48	8,54	2,55
	5	3,33	5,57	8,66	9,59	10,04	9,64	7,58	7,77	2,49
	X	5,36	9,17	9,29	11,12	11,13	10,57	9,68		
SD	2,58	2,14	1,46	1,21	1,16	1,59	1,84			
Fraksi <i>n</i> -heksana	1	5,91	9,02	8,58	8,27	8,04	7,11	7,08	7,71	1,07
	2	4,71	10,77	9,78	8,90	8,06	9,78	9,75	8,82	1,99
	3	4,26	8,41	7,45	9,37	9,31	8,41	8,27	7,92	1,74
	4	5,69	9,76	10,7	9,81	9,81	10,96	10,04	9,53	1,76
	5	4,46	9,61	9,53	8,50	6,55	8,53	7,25	7,77	1,84
	X	5,72	9,51	9,20	8,97	8,35	8,95	8,47		
SD	1,55	0,88	1,23	0,62	1,27	1,46	1,37			
Fraksi etil asetat	1	6,12	9,46	11,79	14,61	14,43	11,24	13,13	11,54	3,00
	2	5,79	12,75	14,3	12,74	13,21	13,46	11,28	11,93	2,85
	3	5,45	9,68	12,21	11,6	13,91	12,73	12,72	11,19	2,84
	4	4,65	11,24	12,21	12,97	16,05	13,72	12,06	11,84	3,53
	5	5,94	12,65	13,39	12,13	11,65	14,51	14,25	12,07	2,90
	X	4,52	11,15	12,78	12,81	13,85	13,40	12,68		
SD	1,68	1,56	1,038	1,13	1,61	1,23	1,11			
Fraksi air	1	5,26	9,41	11,38	12,31	11,37	10,29	9,54	9,93	2,31
	2	4,94	9,95	11,05	11,01	10,22	11,01	9,33	9,64	2,17
	3	4,56	9,93	11,64	11,91	10,73	10,69	9,61	9,86	2,48
	4	5,05	10,23	11,07	12,17	12,27	11,23	8,43	10,0	2,56
	5	3,08	6,57	8,26	8,15	7,41	8,19	8,45	7,15	1,91
	X	6,32	9,21	10,68	11,11	10,40	10,28	9,07		
SD	2,18	1,50	1,37	1,73	1,83	1,22	0,58			

Hasil waktu respon jentik ekor mengibas pada ekstrak dan fraksi sesudah dikurangi W_o

Kelompok	Mencit	30	60	90	120	150	180	X	SD
Na CMC 0,5 %	1	3,28	1,53	0,69	2,2	0,13	0,69	1,42	1,16
	2	2,73	2,04	2,25	1,48	1,22	3,10	2,13	0,71
	3	2,57	2,12	2,17	1,45	1,25	2,18	1,95	0,50
	4	1,45	2,42	2,21	1,04	2,07	0,74	1,65	0,68
	5	2,67	3,64	2,21	1,59	2,47	0,44	2,17	1,08
	X	2,54	2,35	1,90	1,55	1,42	1,43		
SD	0,66	0,78	0,68	0,41	0,90	1,157			
Asam mefenamot	1	5,04	5,36	6,19	8,29	7,16	5,32	6,22	1,27
	2	6,61	7,53	7,12	8,61	8,26	6,35	7,41	0,89
	3	5,66	6,08	8,45	8,72	7,20	6,10	7,03	1,30
	4	6,06	7,55	9,01	11,17	10,1	7,1	8,49	1,93
	5	7,04	6,22	7,50	7,70	8,21	6,07	7,12	0,84
	X	6,08	6,54	7,65	8,89	8,18	6,18		
SD	0,78	0,96	1,10	1,33	1,19	0,63			
Ekstrak etanol	1	5,54	4,45	6,05	7,57	7,06	6,04	6,11	1,10
	2	4,41	5,45	7,25	6,21	6,51	6,24	6,01	0,97
	3	6,52	3,14	7,04	6,67	6,05	5,11	5,75	1,44
	4	5,79	6,71	7,66	7,14	5,58	5,40	6,38	0,92
	5	2,24	5,33	6,26	6,71	6,31	4,25	5,18	1,69
	X	4,90	5,01	6,85	6,86	6,30	5,40		
SD	1,66	1,32	0,67	0,51	0,54	0,79			
Fraksi n-heksan	1	3,11	2,67	2,36	2,13	1,2	1,17	2,10	0,78
	2	6,06	5,07	4,19	3,35	5,07	5,04	4,79	0,92
	3	4,15	3,19	5,11	5,05	4,15	4,01	4,27	0,71
	4	4,07	5,01	4,12	4,12	5,27	4,35	4,49	0,51
	5	5,15	5,07	4,04	2,09	4,07	2,79	3,86	1,22
	X	4,50	4,20	3,96	3,34	3,95	3,47		
SD	1,12	1,17	0,99	1,28	1,62	1,52			
Fraksi etil asetat	1	3,34	5,67	8,49	8,31	5,12	7,01	6,32	1,99
	2	6,96	8,51	6,95	7,42	7,67	5,49	7,16	1,00
	3	4,23	6,76	6,15	8,46	7,28	7,27	6,69	1,42
	4	6,59	7,56	8,32	11,4	9,07	7,41	8,39	1,69
	5	6,71	7,45	6,19	5,71	8,57	8,31	7,15	1,15
	X	5,56	7,19	7,22	8,26	7,54	7,09		
SD	1,66	1,05	1,12	2,06	1,52	1,02			
Fraksi air	1	4,15	6,12	7,05	6,11	5,03	4,28	5,45	1,15
	2	5,01	6,11	6,07	5,28	6,07	4,39	5,48	0,71
	3	5,37	7,08	7,35	6,17	6,13	5,05	6,19	0,90
	4	5,18	6,02	7,12	7,22	6,18	3,38	5,85	1,42
	5	3,49	5,18	5,07	4,33	5,11	5,37	4,75	0,71
	X	4,64	6,10	6,53	5,82	5,70	4,49		
SD	0,79	0,67	0,95	1,08	0,58	0,77			

Lampiran 15. Data Nilai AUC

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(t_n - t_{n-1})$

Kelompok kontrol negatif (CMC Na)

Replika I

Replika II

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(0,5 - 0) = 0,82$

AUC **Error! Reference source not found.** =

Error! Reference source not found. $(0,5 - 0) = 0,683$

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(1 - 0,5) = 1,203$

AUC

Error!

Error! Reference source not found. = **Error! Reference source not found.** $(1 - 0,5) = 1,193$

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(2 - 1) = 1,11$

AUC

Error!

Reference

source not found. = **Error! Reference source not found.** $(2 - 1) = 2,145$

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(3 - 2) = 1,45$

AUC

Error!

Reference

source not found. = **Error! Reference source not found.** $(3 - 2) = 1,87$

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference source not found.** $(4 - 3) = 1,165$

AUC

Error!

Reference

source not found. = **Error! Reference source not found.** $(4 - 3) = 1,35$

AUC **Error! Reference source not found.** = **Error! Reference**

source not found. $(5 - 4) = 0,41$ AUC **Error! Reference**

source not found. = **Error! Reference source not found.** $(5 - 4) = 2,16$

Rata-rata AUC = 1,025

Rata-rata AUC = 1,565

Lampiran 16. Hasil prosentase hambatan nyeri

$$\text{PHN} = \text{Error! Reference source not found.} \times 100\%$$

Kelompok Perlakuan	Replikasi					Rata-rata % Penghambatan Nyeri
	I	II	III	IV	V	
AM	80,05%	73,98%	74,61%	80,64%	69,52%	75,76%
Ekstrak etanol I	28,09%	66,27%	54,76%	45,24%	47,73%	48,41%
Ekstrak etanol II	28,91%	39,63%	52,15%	48,28%	53,58%	44,51%
Ekstrak etanol III	79,35%	68,02%	68,36%	73,45%	60,20%	69,88%
Fraksi <i>n</i> -heksana	37,42%	57,22%	57,48%	61,68%	41,27%	51,01%
Fraksi etil asetat	80,37%	72,88%	72,98%	80,14%	68,55%	74,99 %
Fraksi air	77,20%	64,81%	70,71%	71,92%	53,75%	67,68%

Keterangan :

AM : Asam mefenamat dosis 65 mg/kg BB

Ekstrak etanol I : dosis 70 mg/kg BB

Ekstrak etanol II : dosis 140 mg/kg BB

Ekstrak etanol III : dosis 280 mg/kg BB

Fraksi *n*-heksana : dosis 7,14 mg/kg BB

Fraksi etil asetat : dosis 88,41 mg/kg BB

Fraksi air : dosis 184,45 mg/ kg BB

Contoh Perhitungan :

Kelompok asam mefenamat

Kelompok ekstrak etanol III

Replika I : **Error! Reference source not found.** $\times 100\% = 80,05\%$ Replika I :

Error! Reference source not found. $\times 100\% = 79,35\%$

Replika II : **Error! Reference source not found.** $\times 100\% = 73,98\%$ Replika II :

Error! Reference source not found. $\times 100\% = 68,02\%$

Replika III : **Error! Reference source not found.** $\times 100\% = 74,61\%$ Replika III :

Error! Reference source not found. $\times 100\% = 68,36\%$

Replika IV : **Error! Reference source not found.** $\times 100\% = 80,64\%$ Replika IV :

Error! Reference source not found. $\times 100\% = 73,45\%$

Replika V : **Error! Reference source not found.** $\times 100\% = 69,52\%$ Replika V :

Error! Reference source not found. $\times 100\% = 60,20\%$

Rata-rata % PHN = 75,76%

Rata-rata % PHN = 69,88%

Lampiran 17. Uji statistik nilai AUC seluruh kelompok uji selama 3 jam pada orientasi dosis efektif ekstrak.

1. Uji normalitas (Uji Shapiro-wilk) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.
 - a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA
 - b. Kriteria uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. > 0,05 Ho diterima
 - c. Hasil :

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Na CMC	.372	5	.022	.802	5	.083
Asam mefenamat	.134	5	.200 [*]	.987	5	.967
Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	.312	5	.125	.792	5	.069
Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	.309	5	.133	.868	5	.259
Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	.206	5	.200 [*]	.951	5	.745

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

- d. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencing terdistribusi normal
2. Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.
 - a. Kriteria uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. > 0,05 Ho diterima
 - b. Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

DATA AUC			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.912	4	20	.476

- c. Kesimpulan : H_0 diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit homogen.
3. Uji analisis varians satu arah terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.
- a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna dari prosentase hambat nyeri mencit tiap perlakuan.
- b. Kriteria uji :
 Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak
 Sig. > 0,05 H_0 diterima
- c. Hasil :

ANOVA

DATA AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65.517	4	16.379	22.651	.000
Within Groups	14.462	20	.723		
Total	79.979	24			

- d. Kesimpulan : H_0 di tolak, maka terdapat perbedaan yang bermakna terhadap prosentase hambat nyeri mencit setiap kelompok perlakuan
4. Uji LSD terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam
- a. Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan waktu respon yang bermakna.
- b. Kriteria uji :
 Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak
 Sig. > 0,05 H_0 diterima
- c. Hasil :

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

DATA AUC
LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Na CMC	Asam Mefenamat	-3.48533*	.53781	.000	-4.6072	-2.3635
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	-1.08183	.53781	.058	-2.2037	.0400
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	-.09067	.53781	.868	-1.2125	1.0312
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-3.71425*	.53781	.000	-4.8361	-2.5924
Asam Mefenamat	Na CMC	3.48533*	.53781	.000	2.3635	4.6072
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	2.40350*	.53781	.000	1.2816	3.5254
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	3.39467*	.53781	.000	2.2728	4.5165
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-.22892	.53781	.675	-1.3508	.8929
Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	Na CMC	1.08183	.53781	.058	-.0400	2.2037
	Asam Mefenamat	-2.40350*	.53781	.000	-3.5254	-1.2816
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	.99117	.53781	.080	-.1307	2.1130
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-2.63242*	.53781	.000	-3.7543	-1.5106
Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	Na CMC	.09067	.53781	.868	-1.0312	1.2125
	Asam Mefenamat	-3.39467*	.53781	.000	-4.5165	-2.2728
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	-.99117	.53781	.080	-2.1130	.1307
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-3.62358*	.53781	.000	-4.7454	-2.5017
Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	Na CMC	3.71425*	.53781	.000	2.5924	4.8361
	Asam Mefenamat	.22892	.53781	.675	-.8929	1.3508
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	2.63242*	.53781	.000	1.5106	3.7543
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	3.62358*	.53781	.000	2.5017	4.7454

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 18. Uji statistik AUC seluruh kelompok uji selama 3 jam pada ekstrak dan fraksi.

1. Uji normalitas (Uji Shapiro-wilk) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.
 - a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA
 - b. Kriteria uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. > 0,05 Ho diterima
 - c. Hasil :

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Na CMC	.202	5	.200 [*]	.968	5	.860
Asam mefenamat	.269	5	.200 [*]	.914	5	.489
Ekstrak dosis 5,6 mg	.203	5	.200 [*]	.976	5	.910
Fraksi n-heksana	.282	5	.200 [*]	.782	5	.058
Fraksi etil asetat	.310	5	.131	.831	5	.142
Fraksi air	.231	5	.200 [*]	.929	5	.586

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

- d. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit terdistribusi normal
2. Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.
 - a. Kriteria uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. > 0,05 Ho diterima
 - b. Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.925	5	24	.482

- c. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit homogen.
3. Uji analisis varians satu arah terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

- a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna dari prosentase hambat nyeri mencit tiap perlakuan.
- b. Kriteria uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 Ho diterima
- c. Hasil :

ANOVA

DATA AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.090	5	15.018	44.547	.000
Within Groups	8.091	24	.337		
Total	83.181	29			

- d. Kesimpulan : Ho di tolak, maka terdapat perbedaan yang bermakna terhadap prosentase hambat nyeri mencit setiap kelompok perlakuan
4. Uji LSD terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam
 - a. Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan waktu respon yang bermakna.
 - b. Kriteria uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 Ho diterima
 - c. Hasil :

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

DATA AUC
LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
na cmc	asam mefenamat	-4.52508*	.36722	.000	-5.2830	-3.7672
	ekstrak etanol kulit manggis	-3.38275*	.36722	.000	-4.1407	-2.6248
	fraksi n-heksana	-1.62867*	.36722	.000	-2.3866	-.8708
	fraksi etil asetat	-4.35217*	.36722	.000	-5.1101	-3.5943
	fraksi air	-3.09467*	.36722	.000	-3.8526	-2.3368
asam mefenamat	na cmc	4.52508*	.36722	.000	3.7672	5.2830
	ekstrak etanol kulit manggis	1.14233*	.36722	.005	.3844	1.9002
	fraksi n-heksana	2.89642*	.36722	.000	2.1385	3.6543
	fraksi etil asetat	.17292	.36722	.642	-.5850	.9308
fraksi air	na cmc	1.43042*	.36722	.001	.6725	2.1883
	asam mefenamat	3.38275*	.36722	.000	2.6248	4.1407
	ekstrak etanol kulit manggis	-1.14233*	.36722	.005	-1.9002	-.3844
	fraksi n-heksana	1.75408*	.36722	.000	.9962	2.5120
fraksi etil asetat	na cmc	-1.14233*	.36722	.005	-1.9002	-.3844
	asam mefenamat	1.75408*	.36722	.000	.9962	2.5120
	ekstrak etanol kulit manggis	-1.14233*	.36722	.005	-1.9002	-.3844
	fraksi n-heksana	1.75408*	.36722	.000	.9962	2.5120
fraksi n-heksana	na cmc	1.62867*	.36722	.000	.8708	2.3866
	asam mefenamat	-2.89642*	.36722	.000	-3.6543	-2.1385
	ekstrak etanol kulit manggis	-1.75408*	.36722	.000	-2.5120	-.9962
	fraksi etil asetat	-2.72350*	.36722	.000	-3.4814	-1.9656
fraksi air	na cmc	-1.46600*	.36722	.001	-2.2239	-.7081
	asam mefenamat	4.35217*	.36722	.000	3.5943	5.1101
	ekstrak etanol kulit manggis	-.96942*	.36722	.014	-.2115	1.7273
	fraksi n-heksana	2.72350*	.36722	.000	1.9656	3.4814
fraksi etil asetat	na cmc	1.25750*	.36722	.002	.4996	2.0154
	asam mefenamat	-1.7292	.36722	.642	-.9308	.5850
	ekstrak etanol kulit manggis	.96942*	.36722	.014	.2115	1.7273
	fraksi n-heksana	2.72350*	.36722	.000	1.9656	3.4814
fraksi air	na cmc	3.09467*	.36722	.000	2.3368	3.8526
	asam mefenamat	-1.43042*	.36722	.001	-2.1883	-.6725
	ekstrak etanol kulit manggis	-.28808	.36722	.440	-1.0460	.4698
	fraksi n-heksana	1.46600*	.36722	.001	.7081	2.2239
fraksi etil asetat	na cmc	-1.25750*	.36722	.002	-2.0154	-.4996
	asam mefenamat	4.35217*	.36722	.000	3.5943	5.1101
	ekstrak etanol kulit manggis	-.96942*	.36722	.014	-.2115	1.7273
	fraksi n-heksana	2.72350*	.36722	.000	1.9656	3.4814

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 19. Uji statistik persen hambat nyeri seluruh kelompok uji selama 3 jam pada ekstrak.

1. Uji normalitas (Uji Shapiro-wilk) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

b. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

c. Hasil :

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Asam Mefenamat	.197	5	.200 [*]	.977	5	.920
Ekstrak dosis 70 mg/kgg BB	.243	5	.200 [*]	.893	5	.375
Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	.210	5	.200 [*]	.978	5	.926
Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	.295	5	.179	.863	5	.238

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

d. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

a. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

b. Hasil :

Test of Homogeneity of Variances			
DATA PHN			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.096	3	16	.961

c. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit homogen.

3. Uji analisis varians satu arah terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

- a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna dari prosentase hambat nyeri mencit tiap perlakuan.
- b. Kriteria uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 Ho diterima
- c. Hasil :

ANOVA

DATA PHN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2320.927	3	773.642	5.447	.009
Within Groups	2272.495	16	142.031		
Total	4593.422	19			

- d. Kesimpulan : Ho di tolak, maka terdapat perbedaan yang bermakna terhadap prosentase hambat nyeri mencit setiap kelompok perlakuan
4. Uji LSD terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam
 - a. Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan waktu respon yang bermakna.
 - b. Kriteria uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 Ho diterima
 - c. Hasil :

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

DATA PHN
LSD

(i) KELOMPOK	(j) KELOMPOK	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Asam mefenamat BB	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	21.54301*	7.53740	.011	5.5644	37.5216
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	17.63402*	7.53740	.033	1.6554	33.6126
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-3.30106	7.53740	.667	-19.2796	12.6775
Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	Asam mefenamat BB	-21.54301*	7.53740	.011	-37.5216	-5.5644
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	-3.90899	7.53740	.611	-19.8876	12.0696
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-24.84407*	7.53740	.005	-40.8226	-8.8655
Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	Asam mefenamat BB	-17.63402*	7.53740	.033	-33.6126	-1.6554
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	3.90899	7.53740	.611	-12.0696	19.8876
	Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	-20.93508*	7.53740	.013	-36.9136	-4.9565
Ekstrak dosis 280 mg/kg BB	Asam mefenamat BB	3.30106	7.53740	.667	-12.6775	19.2796
	Ekstrak dosis 70 mg/kg BB	24.84407*	7.53740	.005	8.8655	40.8226
	Ekstrak dosis 140 mg/kg BB	20.93508*	7.53740	.013	4.9565	36.9136

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 20. Uji statistik persen hambat nyeri seluruh kelompok uji selama 3 jam.

1. Uji normalitas (Uji Shapiro-wilk) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

b. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

c. Hasil :

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Asam mefenamat	.223	5	.200 [*]	.916	5	.503
Ekstrak etanol	.197	5	.200 [*]	.976	5	.913
Fraksi n-heksana	.316	5	.116	.847	5	.186
Fraksi etil asetat	.252	5	.200 [*]	.876	5	.290
Fraksi air	.233	5	.200 [*]	.935	5	.633

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

d. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit terdistribusi normal

2. Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

a. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

b. Hasil :

PHN			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.223	4	20	.103

e. Kesimpulan : Ho diterima, berarti prosentase hambat nyeri mencit homogen.

3. Uji analisis varians satu arah terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam.

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna dari prosentase hambat nyeri mencit tiap perlakuan.

b. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

c. Hasil :

ANOVA

PHN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2005.232	4	501.308	8.448	.000
Within Groups	1186.878	20	59.344		
Total	3192.110	24			

d. Kesimpulan : Ho di tolak, maka terdapat perbedaan yang bermakna terhadap prosentase hambat nyeri mencit setiap kelompok perlakuan

4. Uji LSD terhadap seluruh kelompok uji selama 3 jam

a. Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan waktu respon yang bermakna.

b. Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

e. Hasil :

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

PHN LSD		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Kelompok	(J) Kelompok				Lower Bound	Upper Bound
Asam efenamat	Ekstrak etanol	5.88400	4.87212	.241	-4.2791	16.0471
	Fraksi n-heksana	24.74600*	4.87212	.000	14.5829	34.9091
	Fraksi etil asetat	.77600	4.87212	.875	-9.3871	10.9391
	Fraksi air	8.08200	4.87212	.113	-2.0811	18.2451
Ekstrak etanol	Asam efenamat	-5.88400	4.87212	.241	-16.0471	4.2791
	Fraksi n-heksana	18.86200*	4.87212	.001	8.6989	29.0251
	Fraksi etil asetat	-5.10800	4.87212	.307	-15.2711	5.0551
	Fraksi air	2.19800	4.87212	.657	-7.9651	12.3611
Fraksi n-heksana	Asam efenamat	-24.74600*	4.87212	.000	-34.9091	-14.5829
	Ekstrak etanol	-18.86200*	4.87212	.001	-29.0251	-8.6989
	Fraksi etil asetat	-23.97000*	4.87212	.000	-34.1331	-13.8069
	Fraksi air	-16.66400*	4.87212	.003	-26.8271	-6.5009
Fraksi etil asetat	Asam efenamat	-.77600	4.87212	.875	-10.9391	9.3871
	Ekstrak etanol	5.10800	4.87212	.307	-5.0551	15.2711
	Fraksi n-heksana	23.97000*	4.87212	.000	13.8069	34.1331
	Fraksi air	7.30600	4.87212	.149	-2.8571	17.4691
Fraksi air	Asam efenamat	-8.08200	4.87212	.113	-18.2451	2.0811
	Ekstrak etanol	-2.19800	4.87212	.657	-12.3611	7.9651
	Fraksi n-heksana	16.66400*	4.87212	.003	6.5009	26.8271
	Fraksi etil asetat	-7.30600	4.87212	.149	-17.4691	2.8571

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.