

**UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus
musculus*) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *SIGMUND***



Oleh:

Yulinda Kussukmawaty

19133972A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus
musculus*) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *SIGMUND***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh :

Yulinda Kussukmawaty

19133972A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix* DC.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus
musculus*) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *SIGMUND***

Oleh:

Yulinda Kussukmawaty
19133972A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 13 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama,

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

Penguji:

1. Tri Wijayanti, S.Farm, MPH., Apt.

1.

2. Dra Suhartinah, M.Sc., Apt.

2.

3. Ghani Nurfiana F.S., M.Farm., Apt.

3.

4. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

4.

PERNYATAAN

Dengan ini 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 ditulis 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 akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2017



Yulinda Kussukmawaty

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Dia memberikan hikmah (ilmu yang berguna) kepada siapa yang dikehendaki-Nya. Barang siapa yang mendapat hikmah itu sesungguhnya ia telah mendapat kebajikan yang banyak. Dan tiadalah yang menerima peringatan melainkan orang-orang yang berakal” (QS. Al-Baqarah: 269)

“Janganlah kamu bersikap lemah dan janganlah kamu bersedih hati, padahal kamulah orang yang paling tinggi (derajatnya) jika kamu orang-orang yang beriman”

(QS. Ali Imran: 39)

“...kaki yang akan berjalan lebih jauh, tangan yang akan berbuat lebih banyak, mata yang akan menatap lebih lama, leher yang akan lebih sering melihat ke atas, lapisan tekad yang seribu kali lebih keras dari baja, dah hati yang akan bekerja lebih keras, serta mulut yang akan selalu berdoa...” ~5 cm

Ku persembahkan karya ini untuk :

Allah SWT dan Nabi Muhammad s.a.w

Kedua orang tua yang selalu memberikan doa untukku

Adikku tercinta

Sahabat terbaikku

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillah puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *SIGMUND*”** untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan dalam bidang ilmu pengetahuan khususnya obat tradisional. Selama masa penelitian maupun selama penyusunan, banyak pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tuaku dan adikku tercinta, yaitu Bapak Kuswandi, Ibu Mutiawati, Adik Fandi dan Laura. Terima kasih atas doanya, semangat dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bantuan, dorongan, bimbingan dan masukan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi.
5. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

6. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi.
7. Teman satu tim yaitu Erni Sukmawati Kaderi, Hapsari Dyah Ayu Pramesti dan Ita Ariati, terima kasih atas bantuan, waktunya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
8. Sahabat-sahabatku (Erni, Meliana, Afifah, Hapsari, Ita, Lilik, Riska) tetap kompak dan semangat.
9. Urif Agung Nugroho, terima kasih atas nasehat, dukungan, doa, dan semangatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
10. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih telah membantu dalam penyelesaian skripsi.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Jeruk Purut	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Khasiat	6
5. Kandungan kimia	6
5.1. Flavonoid	6
5.2. Alkaloid	6
5.3. Polifenol	7
5.4. Tanin	7

5.5. Steroid/triterpenoid	7
5.6. Minyak atsiri	7
B. Simplisia	8
C. Metode Ekstraksi Simplisia	8
1. Ekstraksi	8
1.1. Maserasi	8
1.2. Remaserasi	9
1.3. Perkolasi	9
1.4. Soxhletasi	9
2. Pelarut	9
D. Hewan Percobaan	9
1. Sistematika mencit	9
2. Karakteristik mencit	10
3. Teknik memegang mencit	10
4. Cara pemberian obat	10
E. Nyeri	10
1. Patofisiologi nyeri	10
2. Mekanisme terjadinya nyeri	11
3. Penanganan nyeri	12
F. Analgetik	12
1. Analgetik sentral (narkotik)	12
2. Analgetik perifer (non-narkotik)	13
3. Asam mefenamat	14
4. Asam asetat	14
5. Tramadol	15
G. Metode Uji Analgetik	15
1. Metode rangsangan zat kimia (<i>sigmund</i>)	15
2. Metode <i>woolfe-mac donald</i>	16
3. Metode <i>tail flick</i>	16
H. Landasan Teori	17
I. Hipotesis.....	17
 BAB III METODE PENELITIAN	 19
A. Populasi dan Sampel	19
1. Populasi	19
2. Sempel	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi variabel utama	19
2. Klasifikasi variabel utama	19
3. Definisi operasional variabel utama	20
C. Alat dan Bahan	20
1. Alat	20
2. Bahan	21
D. Jalannya Penelitian	21
1. Determinasi tanaman	21

2.	Pengambilan bahan	21
3.	Pembuatan serbuk daun jeruk purut	21
4.	Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun jeruk purut	22
5.	Penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut	23
6.	Penetapan kadar air daun jeruk purut	23
7.	Uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut	23
8.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun jeruk purut	23
7.1.	Identifikasi kandungan flavonoid	23
7.2.	Identifikasi kandungan alkaloid	24
7.3.	Identifikasi kandungan tanin	24
7.4.	Identifikasi kandungan polifenol	24
7.5.	Identifikasi kandungan steroid/triterpenoid	24
7.6.	Identifikasi kandungan minyak atsiri	24
9.	Penetapan dosis dan pembuatan larutan	25
8.1.	Ekstrak etanol 70% daun jeruk purut	25
8.2.	Pembuatan larutan Na CMC 1%	25
8.3.	Pembuatan larutan asam mefenamat 1%	25
8.5.	Pembuatan larutan asam asetat 1%	25
8.6.	Pembuatan larutan tramadol 0,5%	25
10.	Uji efek analgetik metode <i>tail flick</i>	26
11.	Uji efek analgetik metode <i>sigmund</i>	27
12.	Perhitungan persen daya analgetik	30
12.1.	Metode <i>tail flick</i>	30
12.2.	Metode <i>sigmund</i>	30
E.	Analisis Data	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		31
1.	Hasil determinasi tanaman jeruk purut	31
2.	Pengumpulan dan pengeringan daun jeruk purut	31
3.	Pembuatan serbuk daun jeruk purut.....	32
4.	Pembuatan ekstrak etanol daun jeruk purut	32
5.	Hasil kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut	32
6.	Hasil kadar air serbuk daun jeruk purut	33
7.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut	33
8.	Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut	34
9.	Hasil uji aktivitas analgetik metode <i>tail flick</i>	34
10.	Hasil uji aktivitas analgetik metode <i>sigmund</i>	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		40
A.	Kesimpulan	40
B.	Saran	40

DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman jeruk purut	5
2. Struktur kimia asam mefenamat	14
3. Struktur kimia asam asetat	14
4. Struktur kimia tramadol	15
5. Pembuatan ekstrak daun jeruk purut	22
6. Pengujian analgetik metode <i>tail flick</i>	27
7. Pengujian analgetik metode <i>sigmund</i>	29
8. Grafik rata-rata waktu reaksi (detik) setelah pemberian sediaan uji.....	36
9. Grafik histogram persen daya analgetik	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah	32
Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering	32
Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun jeruk purut	32
Tabel 4. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk & ekstrak daun jeruk purut	33
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut	33
Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut	33
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun jeruk purut	34
Tabel 8. Hasil waktu rata-rata (detik) aktivitas analgetik dan SD.	35
Tabel 9. Persentase Hambatan Nyeri (PHN)	36
Tabel 8. Hasil Rata-rata jumlah kumulatif dan persen proteksi analgetik	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman daun jeruk purut	45
2. Surat keterangan hewan uji.....	46
3. Surat keterangan (resep) tramadol	47
4. Surat keterangan zat aktif asam mefenamat	48
5. Daun jeruk purut	49
6. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian	50
7. Penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut	51
8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut	52
9. Ekstrak etanol dan bebas etanol daun jeruk purut	55
10. Hewan uji dan larutan sediaan uji.....	56
11. Perlakuan pada hewan uji	57
12. Perhitungan rendemen daun kering terhadap daun basah, rendemen serbuk terhadap daun kering, persen rendemen ekstrak	58
13. Perhitungan kadar air	59
14. Perhitungan dosis <i>tail flick</i>	60
15. Perhitungan dosis <i>sigmund</i>	63
16. Perhitungan rata-rata waktu reaksi (detik)	66
17. Perhitungan rata-rata jumlah geliat	68
18. Perhitungan persen hambatan nyeri (PHN)	70
19. Perhitungan persen proteksi	71
20. Hasil uji statistik berdasarkan waktu reaksi (detik)	72
21. Hasil uji statistik berdasarkan jumlah kumulatif geliat.....	82

INTISARI

KUSSUKMAWATY, Y., 2017, UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *SIGMUND*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Analgetik adalah zat yang dapat mengurangi atau meringankan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas analgetik, menentukan dosis efektif ekstrak etanol daun jeruk purut, dan hasil dari metode *tail flick* dan *sigmund*.

Daun jeruk purut diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Dua puluh lima mencit putih jantan dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok I (CMC Na), kelompok II (tramadol dan asam mefenamat), kelompok III, IV, dan V diberikan ekstrak etanol daun jeruk purut dosis 77; 154, dan 308 mg/20 g BB. Pengukuran metode *tail flick* dengan cara mengukur waktu reaksi setelah 30 menit pemberian obat secara oral. Rangsangan nyeri metode *sigmund* dengan cara induksi asam asetat. Jumlah geliat merupakan respon nyeri setiap 30 menit setelah induksi. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan ANOVA satu arah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut dosis 77, 154, dan 308 mg/20 g BB memiliki aktivitas analgetik dengan metode *tail flick* dan *sigmund*. Dosis 308 mg/20 g BB mempunyai aktivitas analgetik yang paling efektif pada metode *tail flick* dan *sigmund*. *Tail flick* merupakan metode yang efektif dalam memberikan aktivitas analgetik pada ekstrak etanol daun jeruk purut.

Kata kunci : analgetik, ekstrak etanol daun jeruk purut, *tail flick*, *sigmund*

ABSTRACT

KUSSUKMAWATY, Y., 2017, THE ACTIVITY ANALGESIC EXTRACT ETHANOL ORANGE PURUT LEAVES (*Citrus hystrix DC.*) IN MICE WHITE MALE (*Mus musculus*) WITH THE METHODS *TAIL FLICK* AND *SIGMUND*. SKRIPSI. THE FACULTY PHARMACY. UNIVERSITY SETIA BUDI. SURAKARTA.

Analgesic is a substance can reduce or relieve pain without removing awareness. The research aimed to understand analgesic activity, determine doses effective extract ethanol orange purut leaves, and the result of method *tail flick* and *sigmund*.

Leaves orange purut extracted with the methods maserasi use ethanol 70 %. Twenty-five mice white male were divided into five groups. Group I (CMC Na), Group II (tramadol and acid mefenamat), group III, IV, and V given extract ethanol orange purut leaves doses 77; 154, and 308 mg/20g BB. The measurement of a method of *tail flick* by means of measuring time reaction after 30 minutes of medicine giving orally. Stimulation pain method *sigmund* by means of induction acetic acid. The number of wriggling is in response pain every 30 minutes after induction. The data collected were analysed use anova one direction.

The research results show that extracts ethanol orange purut leaves doses 77 , 154, and 308 mg/20g BB having activity analgesic with the methods *tail flick* and *sigmund*. 308 doses mg/20g BB have activity analgesic the most effective to the method *tail flick* and *sigmund*. *Tail flick* is an effective method in giving activity analgesic in extract ethanol orange purut leaves.

Keywords : analgesic, orange purut leaves ethanol extract, *tail flick*, *sigmund*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Nyeri merupakan gejala penyakit yang banyak dirasakan oleh masyarakat. Prevalensi nyeri pada orang dewasa mencapai 40 % setiap harinya, sedangkan 89 % merasakan episode nyeri minimal sebulan sekali (Agrensa 2013). Nyeri merupakan keluhan yang paling umum ketika masyarakat mencari pengobatan. Akan tetapi, untuk berbagai alasan kurangnya pelatihan dan ketidakpatuhan, nyeri tidak dapat diatasi dengan baik (Wilson & Gisvold 2012). Rasa nyeri dalam kebanyakan hal hanya merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan di jaringan, seperti peradangan, infeksi jasad renik atau kejang otot (Tjay & Rahardja 2007). Untuk mengatasi nyeri yang timbul, masyarakat biasanya menggunakan obat-obatan yang bersifat mengurangi rasa nyeri atau analgetik.

Analgetik atau obat penghalang nyeri adalah zat-zat yang mengurangi atau menghalau rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Analgetik menurunkan potensi kerjanya dapat dibagi dalam dua golongan yaitu analgetik narkotik dan analgetik perifer. Yang termasuk analgetik narkotik yaitu pertama agonis opiat: alkaloida candu contohnya seperti morfin, kodein, heroin, nikomorfin dan zat-zat sintetis contohnya metadon dan derivatnya (dekstromoramida, propoksifen, bezitramida), petidin dan derivatnya (fentanil, sufentanil) dan tramadol. Kedua antagonis opiat: nalokson, nalorfin, pentazosin, dan buprenorfin. Ketiga campuran: nalorfin, nalbufin. Golongan ini menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan yaitu, supresi SSP, pernapasan menjadi lebih dangkal, hipotensi, sekresi pankreas, usus dan empedu berkurang, gatal-gatal dan dapat menjadi kebiasaan. Sedangkan yang termasuk analgetik perifer yaitu pertama parasetamol. Kedua salisilat: asetosal, salisilamida, dan benorilat. Ketiga penghambat prostaglandin (NSAIDs): ibu profen. Keempat derivat antranilat: mefenaminat, glafenin. Kelima derivat pirazolinon: propifenazon, isopropilaminofenazon dan metamizol. Keenam golongan lainnya: benzydamin.

Efek samping yang paling umum dari obat tersebut adalah gangguan lambung usus, kerusakan darah, kerusakan hati dan ginjal, dan juga reaksi alergi kulit. Obat-obatan analgetik tersebut mempunyai efek samping yang merugikan dan selama ini masyarakat banyak menggunakan obat nyeri yang dapat dibeli secara bebas untuk meringankan atau menyembuhkan sendiri keluhan nyeri yang diderita. Dengan semakin mahalnya harga obat terutama bagi golongan ekonomi lemah, alternatif lain untuk mengatasi nyeri maka digunakan obat tradisional (Agrensa 2013).

Daun jeruk purut merupakan salah satu jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional. Jeruk purut termasuk suku Rutaceae yang berasal dari Asia Tenggara yang banyak ditanam di beberapa negara termasuk Indonesia. Tanaman ini berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Daun jeruk purut berguna untuk kosmetik, aromaterapi, pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung dan biopestisida (Munawaroh & Handayani 2010).

Daun jeruk purut mempunyai kandungan kimia antara lain flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin 1,8%, steroid / triterpenoid, minyak atsiri 1-1,5% v/b (Miean & Mohamed 2001). Minyak atsiri mempunyai khasiat sebagai analgetik, antiinflamasi, dan antireumatik. Minyak atsiri dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator nyeri (Kasim 2013). Flavonoid juga mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgetik, antialergik dan antiviral (Kasolo *et al.* 2010). Mekanisme kerja flavonoid adalah 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).

Penelitian yang pernah dilakukan terhadap suku *Rutaceae* yaitu ekstrak etanol daun klausena memiliki kandungan kimia yaitu minyak atsiri yang mengandung anethol 90-95%, disamping itu terdapat tanin, saponin, aldehid, keton, dan methyl khavicol (Yusuf 2001). Daun klausena dengan dosis 22, 66, 220, 660, dan 2200 mg/200 g BB dapat memberikan efek analgetik pada tikus (Yusuf 2001).

Penelitian ini akan dilakukan untuk menguji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada mencit putih jantan dengan metode *tail flick* dan *sigmund*. Metode *tail flick* digunakan untuk uji efek analgetik narkotik menggunakan alat analgesy-meter (Inayati 2010) dan metode *sigmund* untuk menguji senyawa analgetik dengan daya analgetik lemah (Hidayat 2010).

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai aktivitas analgetik pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol daun jeruk purut dapat memberikan aktivitas analgetik yang paling efektif pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*?

Ketiga, bagaimanakah hasil dari ekstrak etanol daun jeruk pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui aktivitas analgetik ekstrak etanol daun jeruk purut pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

Kedua, mengetahui dosis ekstrak etanol daun jeruk purut dapat memberikan aktivitas analgetik yang paling efektif pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

Ketiga, mengetahui hasil dari ekstrak etanol daun jeruk pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek analgetik daun jeruk perut, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan pada penggunaan obat tradisional dan dapat digunakan sebagai penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jeruk Purut

1. Sistematika tanaman

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menurut Dalimartha S 2006, diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Sapindales
Suku : Rutaceae
Marga : Citrus
Jenis : *Citrus hystrix* DC.



Gambar 1. Tanaman jeruk purut

2. Nama daerah

Nama lain sere di daerah lain yaitu jeruk purut (Melayu), unte mukur (Batak), lemau sarakan (Lampung), lemau puruik (Minangkabau), demakapalo (Nias), jeuk purut (Sunda), jeruk purut (Jawa), jeruk linglang (Bali), mude matang busur (Flores), lemo puru (Bugis), ahusilepea (Seram), munte kereng (Ambon), lemo jobatai (Halmahera) (Yuzammi *et al.* 2010).

3. Morfologi tanaman

Daunnya merupakan daun majemuk menyirip beranak daun satu. Tangkai daun sebagian melebar menyerupai anak daun. Helaian anak daun

berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, tepi beringgit, panjang 8-15 cm, lebar 2-6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengkilat, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, jika diremas baunya harum. Bunganya berbentuk bintang, berwarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Bentuk buahnya bulat telur, kulitnya hijau berkerut, berbenjol-benjol, rasanya asam agak pahit (Haryanto 2012).

4. Khasiat

Tanaman jeruk purut sering dipakai sebagai campuran bumbu masak. (Yuzammi *et al.* 2010). Jeruk purut berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Daun jeruk purut berguna untuk kosmetik, aromaterapi, pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung dan biopestisida (Munawaroh & Handayani 2010). Daun jeruk purut juga berkhasiat sebagai stimulan dan penyegar (Haryanto 2012).

5. Kandungan kimia

Daun jeruk purut mengandung minyak atsiri yang terdiri dari sitronellol, betasitronelol, linalool dan trans-caryophylen (Nugraheni 2012). Selain itu, jeruk purut juga mengandung flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin 1,8%, steroid / triterpenoid, minyak atsiri 1-1,5% v/b (Miean & Mohamed 2001).

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6-C3 (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida (Heinrich *et al.* 2010). Flavonoid mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgetik, antialergik dan antiviral (Kasolo *et al.* 2010). Mekanisme kerja flavonoid adalah 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).

5.2. Alkaloid. Alkaloid merupakan bahan alam heterosiklik yang mengandung nitrogen. Kegunaan alkaloid adalah untuk meredakan nyeri dan

sebagai stimulan (Heinrich *et al.* 2010). Mekanisme kerja alkaloid dalam memberikan efek analgetik adalah dengan bekerja terhadap reseptor opioid khas di SSP, hingga persepsi nyeri dan respon terhadap emosional terhadap nyeri berkurang (Safitri 2013).

5.3. Polifenol. Polifenol merupakan inti benzen yang mempunyai gugus hidroksi lebih dari satu. Senyawa-senyawa polifenol sederhana misalnya hidrokuinon, resorsinol, dan pirokatekol. Polifenol mudah larut dalam air karena berkaitan dengan gula sebagai glikosida (Harborne 2006).

5.4. Tanin. Tanin terbagi menjadi dua golongan yaitu tanin dapat terhidrolisis, yang terbentuk dari esterifikasi gula (misalnya glukosa) dengan asam fenolat sederhana yang merupakan tanin turunan-sikamat (misalnya asam galat), dan tanin tidak dapat terhidrolisis, yang berasal dari reaksi polimerisasi (kondensasi) antar flavonoid. Sesuai dengan namanya, tanin dapat terhidrolisis dapat dihidrolisis oleh basa untuk membentuk asam sederhana dan gula. Sifat utama tanin adalah kemampuannya berikatan dengan protein (Heinrich *et al.* 2010).

5.5. Steroid/Triterpenoid. Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu, dll. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan (Harborne 2006).

5.6. Minyak atsiri. Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak essensial karena pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap di udara terbuka. Minyak atsiri sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan & Mulyani 2004). Minyak atsiri mempunyai khasiat sebagai analgetik, antiinflamasi, dan antireumatik. Minyak atsiri dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator nyeri (Kasim 2013).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami perubahan proses apa pun dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya, juga dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi dari tanamannya (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Metode Ekstraksi Simplisia

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah segala proses penarikan zat utama yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih berdasarkan zat yang ingin dilarutkan. Bahan-bahan tanaman terdiri dari campuran zat yang berbeda-beda, beberapa bahan ada mempunyai efek farmakologi dan oleh karena itu dianggap sebagai zat yang dibutuhkan dan yang lainnya yang tidak aktif secara farmakologis dianggap sebagai zat inert (Ansel 2011)

1.1. Maserasi. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI 2000).

1.2. Remaserasi. Remaserasi merupakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI 2000).

1.3. Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Depkes RI 2000).

1.4. Soxhletasi. Soxhletasi merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dalam mengekstraknya sehingga terjadi ekstraksi yang kontinyu dengan adanya jumlah pelarut yang konstan yang juga dibantu dengan pendingin balik yang biasa disebut kondensor. Selain itu diperhatikan suhu yang digunakan harus melebihi titik uap pelarut jangan sampai terlalu tinggi, karena dikhawatirkan akan merusak hasil ekstraksi (Agrensa 2013).

2. Pelarut

Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam pengekstraksian dari bahan mentah obat atau simplisia tertentu didasarkan pada daya kelarutan terhadap suatu zat aktif dan zat tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan juga tergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan, dan penilaian lainnya adalah dapat melarutkan zat aktif semaksimal mungkin dan seminimal mungkin untuk zat-zat aktif yang tidak diperlukan (Ansel 2011).

Pemakaian etanol 70% sebagai pelarut karena etanol 70% lebih selektif, kapang atau kuman sulit tumbuh, tidak beracun, bersifat netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air, dan panas yang digunakan untuk pemekatan lebih sedikit (Tusthi 2007).

D. Hewan Percobaan

1. Sistematika mencit

Menurut (Akbar 2010), sistematika mencit sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia
Divisi : Chordata
Kelas : Mamalia
Bangsa : Rodentia

Suku : Muridae
Marga : Mus
Jenis : *Mus musculus*

2. Karakteristik mencit

Mencit merupakan hewan mamalia pengerat yang berkembang baik dengan cepat, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar. Mencit memiliki tubuh yang kecil, berwarna putih, dan memiliki siklus estrus teratur antara 4-5 hari. Kondisi ruang pemeliharaan harus dijaga suhunya berkisar 18-19° C dengan kelembaban udara antara 30-70% (Akbar 2010).

3. Teknik memegang mencit

Untuk memegang mencit yang akan diperlakukan (baik pemberian obat maupun pengambilan darah) maka diperlakukan cara-cara yang khusus sehingga mempermudah cara perlakuannya. Secara alamiah mencit cenderung menggigit bila mendapat sedikit perlakuan kasar. Pengambilan mencit dari kandang dilakukan dengan mengambil ekornya kemudian mencit ditaruh pada kawat kasa dan ekornya sedikit ditarik. Cubit kulit bagian belakang kepala dan jepit ekornya (Darmono 2011).

4. Cara pemberian obat

Pertama-tama spuit diisi dengan sediaan uji dengan volume yang sudah ditentukan, kemudian pegang mencit dan masukkan ujung kanul sampai rongga tekak lalu berikan sediaan uji tersebut secara perlahan agar tidak tumpah-tumpah. Di tunggu beberapa detik agar sediaan uji masuk semua ke dalam saluran pencernaan, kemudian mencit boleh dibalik (Harmita & Radji 2004).

E. Nyeri

1. Patofisiologi nyeri

Nyeri adalah perasaan sensoris dan emosional yang tidak nyaman, berkaitan dengan (ancaman) kerusakan jaringan. Rasa nyeri dalam kebanyakan hal hanya merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan di jaringan, seperti peradangan, infeksi jasad renik atau kejang otot. Nyeri yang disebabkan oleh rangsangan mekanis, kimiawi atau fisis dapat

menimbulkan kerusakan pada jaringan. Rangsangan tersebut memicu pelepasan zat-zat tertentu yang disebut mediator nyeri seperti histamin, bradikin, leukotrien dan prostaglandin. Semua mediator nyeri itu merangsang reseptor nyeri (nociceptor) di ujung-ujung saraf bebas di kulit, mukosa serta jaringan lain dan demikian menimbulkan antara lain reaksi radang dan kejang-kejang. Reseptor nyeri (nociceptor) disalurkan ke otak melalui jaringan lebat dari taju-taju neuron dengan sangat banyak sinaps via sumsum belakang, sumsum lanjutan dan otak tengah. Pada thalamus impuls kemudian diteruskan ke pusat nyeri di otak besar, di mana impuls dirasakan sebagai nyeri (Tjay & Rahardja 2013).

2. Mekanisme terjadinya nyeri

Nyeri dapat digambarkan sebagai suatu pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berkaitan dengan kerusakan jaringan yang berpotensi atau sudah terjadi (Hartwig & Wilson 2006)

Nyeri digolongkan menjadi beberapa tipe antara lain: fisiologis, inflamatori dan neuropatik. Fisiologis merupakan nyeri yang paling umum, contohnya menyentuh benda panas atau tergores. Nyeri akibat inflamasi dapat dimulai dengan berbagai cara, seperti infeksi, atau cedera pada jaringan. Tipe neuropatik disebabkan oleh cedera pada sistem saraf pusat (SSP) atau perifer (Wilson & Gisvold 2011).

Nyeri berdasarkan durasinya, diklasifikasikan sebagai nyeri akut (nosiseptif) dan nyeri kronis (neuropatik). 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. 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. 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)

3. Penanganan nyeri

Penanganan nyeri dapat dilakukan dengan memberikan obat-obat analgetik. Semua obat yang mempunyai efek analgetik biasanya efektif untuk mengetahui nyeri. Hal tersebut dimungkinkan karena nyeri akan mereda atau hilang seiring dengan laju penyembuhan jaringan yang rusak atau sakit (Zakiyah 2015).

F. Analgetik

Analgetik atau obat penghalang nyeri adalah zat-zat yang mengurangi atau menghalau rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Analgetik menurunkan potensi kerjanya dapat dibagi dalam dua golongan yaitu analgetik narkotik dan analgetik perifer (Tjay & Rahardja 2007).

1. Analgetik sentral (narkotik)

Analgetik narkotik adalah obat-obat yang daya kerjanya meniru opioid endogen dengan memperpanjang aktivasi dari reseptor-reseptor opioid. Zat-zat ini bekerja terhadap reseptor opioid khas di SSP, hingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (dikurangi). Daya kerjanya di antagonir oleh antara lain nalokson (Tjay & Rahardja 2007).

Analgetik sentral dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu pertama agonis opiat: alkaloida candu contohnya seperti morfin, kodein, heroin, nikomorfin dan zat-zat sintetis contohnya metadon dan derivatnya (dekstromoramida, propoksifen, bezitramida), petidin dan derivatnya (fentanil, sufentanil) dan tramadol. Kedua antagonis opiat: nalokson, nalorfin, pentazosin, dan buprenorfin. Ketiga campuran: nalorfin, nalbufin (Tjay & Rahardja 2007).

Mekanisme kerja dari analgetik sentral yaitu endorfin bekerja dengan jalan menduduki reseptor-reseptor nyeri di SSP, hingga perasaan nyeri dapat diblokir. Khasiat analgetik opioid berdasarkan kemampuannya untuk menduduki sisa-sisa reseptor nyeri yang belum ditempati endorfin. Tetapi bila analgetika

tersebut digunakan terus-menerus, pembentukan reseptor-reseptor baru distimulasi dan produksi endorfin di ujung saraf otak dirintangi. Akibatnya terjadilah kebiasaan dan ketagihan (Tjay & Rahardja 2007).

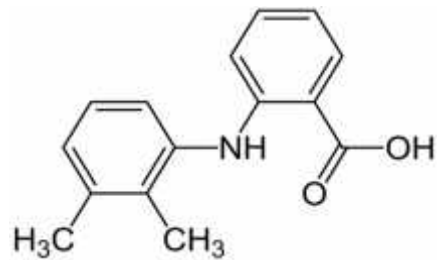
2. Analgetik perifer (non-narkotik)

Terdiri dari obat-obatan yang tidak bersifat narkotik dan tidak bekerja sentral. Obat-obatan golongan ini mampu meringankan atau menghilangkan rasa nyeri tanpa mempengaruhi sistem saraf pusat atau menurunkan kesadaran, juga tidak menimbulkan ketagihan. Kebanyakan zat ini juga berdaya antipiretik dan anti radang. Oleh karena itu, obat ini tidak hanya digunakan sebagai anti nyeri, melainkan juga pada gangguan demam dan peradangan seperti rematik dan encok. Obat ini banyak digunakan pada nyeri ringan sampai nyeri sedang yang penyebabnya beraneka ragam misalnya nyeri kepala, gigi, otot atau sendi, perut, nyeri haid, dan nyeri akibat benturan atau kecelakaan (trauma). Pada nyeri lebih berat seperti pembedahan atau fraktur (patah tulang), kerjanya kurang efektif (Tjay & Rahardja 2007).

Analgetik perifer dibagi menjadi beberapa golongan yaitu pertama parasetamol. Kedua salisilat: asetosal, salisilamida, dan benorilat. Ketiga penghambat prostaglandin (NSAIDs): ibu profen. Keempat derivat antranilat: mefenaminat, glafenin. Kelima derivat pirazolinon: propifenazon, isopropilaminofenazon dan metamizol. Keenam golongan lainnya: benzidamin (Tjay & Rahardja 2007).

Obat-obatan dalam kelompok ini memiliki target aksi pada enzim, yaitu enzim siklooksigenase (COX). Enzim COX berperan dalam sintesis mediator nyeri, salah satunya adalah prostaglandin. Mekanisme umum dari analgetik jenis ini adalah memblokir pembentukan prostaglandin dengan jalan menghambat enzim COX pada daerah yang terluka, sehingga mengurangi pembentukan mediator nyeri. Mekanismenya tidak berbeda dengan NSAID dan COX-2 inhibitor (Zakiyah 2015).

3. Asam mefenamat



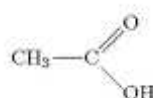
Gambar 2. Struktur kimia asam mefenamat (Rochma 2016)

Asam mefenamat merupakan turunan senyawa fenamat yang mempunyai sifat antiradang, antipiretik, dan analgetik. Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat sintesa prostaglandin dengan menghambat kerja enzim cyclooxygenase (COX-1 dan COX-2). Obat ini diabsorpsi cepat dan mempunyai durasi kerja yang pendek. Pada manusia, sekitar 50% dosis asam mefenamat diekskresikan dalam urin, terutama sebagai metabolit 3-hidroksimetil dan karboksil dan konjugasinya. Sekitar 20% obat ditemukan dalam feses, terutama sebagai metabolit 3-karboksil tidak terkonjugasi (Goodman & Gilman 2007).

Asam mefenamat berupa serbuk kristal putih keabu-abuan, yang tidak larut dalam air dan sukar larut dalam alkohol. Asam mefenamat tidak direkomendasikan untuk anak-anak dan selama kehamilan. Obat ini telah disetujui penggunaannya untuk pengobatan dismenorea primer yang mungkin disebabkan oleh konsentrasi prostaglandin dan endoperoksida yang berlebih (Wilson & Gisvold 2007).

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).

4. Asam asetat

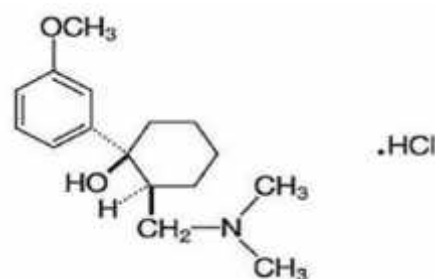


Gambar 3. Struktur kimia asam asetat (Pratiwi 2011)

Asam asetat, asam etanoat atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan.

Asam cuka memiliki rumus empiris $C_2H_4O_2$. Rumus ini seringkali ditulis dalam bentuk CH_3-COOH , CH_3COOH , atau CH_3CO_2H . Asam asetat murni (disebut asam asetat glasial) adalah cairan higroskopis tak berwarna dan memiliki titik beku $16,7^\circ C$ (Sari 2010). Asam asetat merupakan iritan yang dapat merusak jaringan secara lokal. Setelah pemberian secara intraperitoneal, asam asetat akan menyebabkan perubahan pH di dalam rongga akibat pembebasan ion H^+ dari asam asetat dan menyebabkan luka pada membran sel (Hidayat 2010).

5. Tramadol



Gambar 4. Struktur kimia tramadol (Ajartha 2007)

Tramadol HCl bersifat analgesik yang digunakan untuk mengatasi rasa nyeri yang hebat baik akut atau kronis. Tramadol HCl mempunyai ciri-ciri antara lain berwarna putih, pahit, kristal dan tidak berbau (Moffat *et al.* 2004 yang diacu dalam Dewi 2013). Mekanisme kerja obat ini adalah berikatan dengan reseptor opioid yang ada di spinal dan otak sehingga menghambat transmisi sinyal nyeri dari perifer ke otak, dan meningkatkan aktivitas saraf penghambat monoaminergik yang berjalan dari otak ke spinal sehingga terjadi inhibisi transmisi sinyal nyeri (Ajartha 2007). Efek sampingnya tidak begitu serius dan paling sering berupa berkeringat, pusing, mulut kering, mual, muntah, gatal-gatal, nyeri kepala dan rasa letih. Risiko habituasi, ketergantungan dan adiksi dianggap ringan (Tjay & Rahardja 2007).

G. Metode Uji Analgetik

1. Metode rangsangan zat kimia (*Sigmund*)

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 & Darmono 2011). Metode ini sederhana, reproducible (dapat diulang-ulang hasilnya), dan cukup peka untuk menguji senyawa analgetik dengan daya analgetik lemah, namun mempunyai kekurangan yaitu masalah kespesifikannya (Hidayat 2010).

2. Metode wolfe-mac donald

Metode ini menggunakan lempeng panas dari seng. Hewan coba diletakkan di atas lempeng tersebut pada suhu tertentu (50-60° C) dalam silinder kaca, silinder kaca dimaksudkan agar hewan tetap berada di atas lempeng panas. Reaksi sakit ditunjukkan dengan gerakan-gerakan kaki belakang, depan atau keduanya yang menyatakan rasa nyeri setempat (Syamsudin & Darmono 2011). Kekurangan dari metode ini adalah kesalahan dalam mencatat waktu pada pengujian berlangsung karena menggunakan stopwatch sehingga kurang efektif (Puspitasari *et al.* 2003).

3. Metode tail flick

Metode ini digunakan untuk uji efek analgetik narkotik menggunakan alat analgesy-meter yang terbuat dari logam tahan karat (Inayati 2010). Alat ini dilengkapi dengan termometer, stopwatch, dan alat pengatur suhu. Pada bagian atasnya terdapat kurungan mencit yang terbuat dari kaca yang berlubang sehingga leher dan ekor mencit terfiksasi sempurna. Parameter yang digunakan adalah waktu reaksi yang dibutuhkan untuk menimbulkan respon nyeri pada ekor mencit, setelah diberi rangsang thermal berupa panas pada temperatur 70° C yang diperoleh dari aliran listrik pada alat tersebut. Waktu reaksi ditandai dengan lamanya ekor mencit dalam keadaan diam sampai ekornya ditarik secara tiba-tiba. Metode ini lebih efektif dibandingkan dengan metode wolfe-mac donald karena waktu reaksi dapat dicatat langsung oleh komputer (Yusuf 2001).

H. Landasan Teori

Jeruk purut termasuk suku Rutaceae yang berasal dari Asia Tenggara (Munawaroh & Handayani 2010). Daun jeruk purut berguna untuk kosmetik, aromaterapi, pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung dan biopestisida (Munawaroh & Handayani 2010). Kandungan kimia daun jeruk purut antara lain flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin 1,8%, steroid / triterpenoid, minyak atsiri 1-1,5% v/b (Miean & Mohamed 2001). Minyak atsiri mempunyai khasiat sebagai analgetik, antiinflamasi, dan antireumatik. Minyak atsiri dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator nyeri (Kasim 2013).

Penelitian yang pernah dilakukan terhadap suku *Rutaceae* yaitu ekstrak etanol daun klausena dengan dosis 22, 66, 220, 660, dan 2200 mg/200 g BB dapat memberikan efek analgetik pada tikus (Yusuf 2001). Kandungan kimia daun klausena adalah minyak atsiri yang mengandung anethol 90-95%, disamping itu terdapat tanin, saponin, aldehyd, keton, dan methyl khavicol (Yusuf 2001).

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Pemakaian etanol 70% sebagai pelarut karena etanol 70% lebih selektif, kapang atau kuman sulit tumbuh, tidak beracun, bersifat netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air, dan panas yang digunakan untuk pemekatan lebih sedikit (Tusthi 2007).

Aktivitas analgetik dari ekstrak etanol 70% daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) akan diuji pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode *tail flick* dan *sigmund*. Hasil yang dicatat adalah berupa waktu yang dibutuhkan hewan coba untuk bertahan pada rangsangan termal pada ekor hewan coba dan jumlah geliat untuk setiap perlakuan dalam kelompok (Yusuf 2001). Respon hewan coba yang terjadi adalah penjentikan atau penarikan ekor hewan coba secara tiba-tiba dan geliatnya hewan coba.

I. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah pertama ekstrak etanol daun jeruk purut dapat memberikan aktivitas analgetik pada hewan uji mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*. Kedua, dosis ekstrak etanol daun jeruk purut yang dapat memberikan aktivitas analgetik yang paling

efektif pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*. Ketiga, hasil dari ekstrak etanol daun jeruk pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang diperoleh dari Nusukan, Kota Surakarta, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut yang masih segar, daunnya berwarna hijau, tidak busuk dan bebas dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua sampel. Variabel utama terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jeruk purut dan efek analgetik yang ditunjukkan sebagai respon nyeri dengan penarikan ekor mencit dan geliat mencit.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun jeruk purut dengan berbagai dosis uji.

Variabel tergantung adalah titik permasalahan akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya analgetik ekstrak etanol 70% daun jeruk purut.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi, kondisi laboratorium, pengujian ke

hewan uji seperti jenis kelamin, berat badan, umur, dan kondisi fisik maupun lingkungan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jeruk purut adalah tanaman jeruk purut yang masih segar, daunnya berwarna hijau, tidak busuk, yang diambil pada bulan Januari 2017.

Kedua, serbuk daun jeruk purut adalah daun jeruk purut yang dikeringkan, kemudian dihaluskan menggunakan alat penggiling sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun jeruk purut adalah ekstrak hasil maserasi dari serbuk daun jeruk purut dengan etanol 70%, kemudian diuapkan dengan evaporator sampai kental.

Keempat, efek yang dimiliki dari ekstrak etanol daun jeruk purut adalah untuk mengurangi rasa nyeri pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

Kelima, metode *tail flick* adalah metode untuk menguji efek analgetik narkotik menggunakan alat *analgesy-meter*.

Keenam, penarikan ekor mencit adalah suatu respon nyeri pada saat diuji dengan menggunakan *tail flick*.

Ketujuh, persen hambatan nyeri adalah perhitungan daya analgetik dari metode *tail flick*.

Kedelapan, metode *sigmund* adalah metode untuk menguji analgetik dengan daya analgetik lemah menggunakan asam asetat.

Kesembilan, geliat mencit adalah suatu respon nyeri yang ditandai dengan pengamatan jumlah geliat setelah diinduksi menggunakan asam asetat.

Kesepuluh, persen proteksi analgetik adalah perhitungan daya analgetik dari metode *sigmund*.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan untuk membuat ekstrak yaitu penggiling, oven, neraca analitik, dan ayakan nomor 40. Peralatan untuk pembuatan ekstrak etanol 70% yaitu bejana

maserasi, rotary evaporator, batang pengaduk, gelas ukur, *moisture balance*, *sterling-bidwell*, beaker glass dan kain flanel. Peralatan untuk uji analgetik yaitu timbangan mencit, neraca analitik, spuit injeksi, jarum sonde, beaker glass, sarung tangan, masker, stopwatch, alat *analgesy-meter*. Peralatan untuk pengujian kualitatif yaitu tabung reaksi, pipet tetes, dan lampu spiritus.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah daun jeruk purut yang diperoleh dari Nusukan, Kota Surakarta, Jawa Tengah. Bahan untuk persiapan hewan uji yaitu mencit putih jantan yang diperoleh dari Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi dengan berat badan 20-30 g dan berumur 2-3 bulan, CMC-Na, asam asetat, asam mefenamat dan tramadol. Bahan untuk pembuatan ekstrak yaitu etanol 70%, aqua destilata, Mg, alkohol, asam klorida pekat, FeCl_3 , HCL 2N, amil alkohol, kloroform, asam sulfat pekat, dan asam asetat anhidrat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dalam melakukan penelitian ini adalah dengan melakukan determinasi tanaman daun jeruk purut dengan mencocokkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Daun jeruk purut yang masih segar, daunnya berwarna hijau, tidak busuk dan bebas dari hama yang diperoleh dari Nusukan, Kota Surakarta, Jawa Tengah.

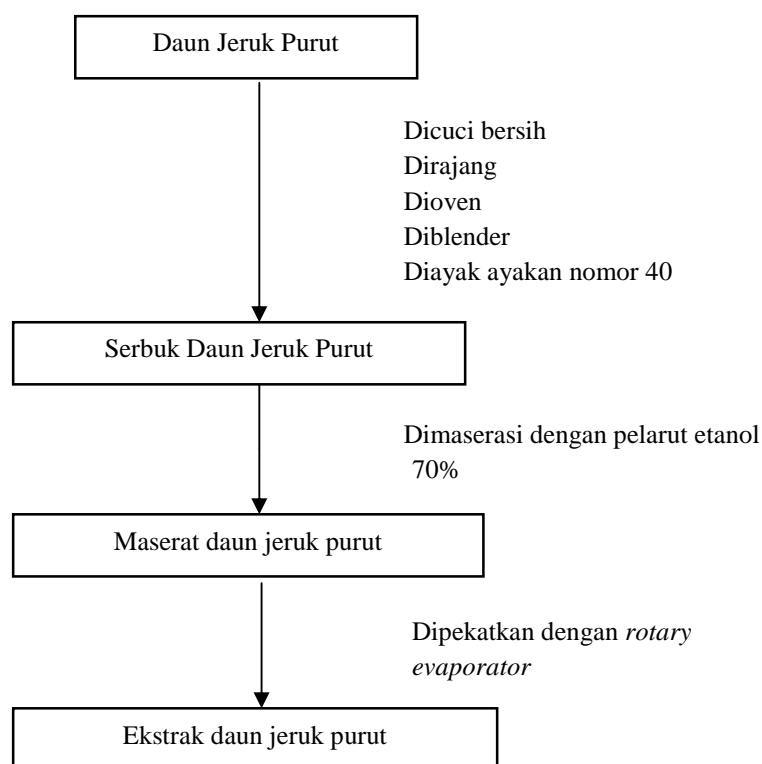
3. Pembuatan serbuk daun jeruk purut

Daun jeruk purut yang sudah dipanen dibersihkan dari kotoran-kotoran dengan air mengalir supaya bebas dari pengotor, kemudian dirajang dan dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 50°C sampai menjadi kering. Daun jeruk purut kemudian dihaluskan menggunakan alat penggiling dan diayak dengan ayakan nomor 40. Serbuk yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam wadah bersih tertutup rapat.

4. Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun jeruk purut

Serbuk daun kering jeruk purut diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 bagian. Serbuk daun jeruk purut ditimbang sebanyak 300 g kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca berwarna gelap, ditambahkan sebanyak 10 bagian pelarut etanol 70% kemudian ditutup, direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diampkan selama 18 jam. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan menggunakan *ala tvacum rotary evaporator* pada suhu 40° C sehingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes 2009).

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$



Gambar 5. Pembuatan ekstrak daun jeruk purut

5. Penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut

Penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak daun jeruk purut dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk dan ekstrak daun jeruk purut ditimbang masing-masing sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* dengan cara diratakan menggunakan pengaduk, dipanaskan pada suhu 105° C dan ditunggu sampai memberikan tanda atau bunyi. Kemudian dicatat angka pada alat *moisture balance*. Angka yang tertera pada alat tersebut merupakan persen kadar lembab selama proses pemanasan. Kadar lembab dalam serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

6. Penetapan kadar air daun jeruk purut.

Penetapan kadar air daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan dengan alat *Sterling-Bidwell*, serbuk ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell*, kemudian ditambahkan xylen sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi. Selanjutnya dilihat volume tetesan dan dihitung kadarnya dalam satuan persen (Sudarmadji *et al.* 2003) dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100 \%$$

7. Uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut sudah benar-benar tidak mengandung etanol, yaitu dengan cara ekstrak daun jeruk purut diuji etanolnya dengan melakukan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH kemudian dipanaskan. Hasil uji bebas etanol ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Rochma 2016).

8. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun jeruk purut

7.1. Identifikasi kandungan flavonoid. Identifikasi dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak sebanyak 100 mg ditambahkan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring dan ambil filtratnya 5 ml dimasukkan

dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker 2006).

7.2. Identifikasi kandungan alkaloid. Identifikasi dilakukan dengan cara melarutkan masing-masing serbuk dan ekstrak daun jeruk purut sebanyak 100 mg ke dalam air panas kemudian disaring dan diambil filtratnya, ditambahkan 2 tetes HCl 2N ditambahkan reagen Mayer LP terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan ditambahkan reagen Dragendrof bereaksi positif dengan endapan berwarna coklat sampai hitam (Rochma 2016).

7.3. Identifikasi kandungan tanin. Identifikasi dilakukan dengan cara mengambil 100 mg serbuk dan ekstrak dan menambakkannya dengan 2 ml air suling dalam tabung reaksi, lalu menambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 . Amati dengan teliti jika terjadi warna hijau kehitaman merupakan indikasi keberadaan tanin (Safitri 2013).

7.4. Identifikasi kandungan polifenol. Identifikasi dilakukan dengan cara dilarutkan masing-masing serbuk dan ekstrak daun jeruk purut sebanyak 100 mg ke dalam air panas kemudian disaring dan diambil filtratnya. Kemudian ditambah 5 ml pereaksi besi (III) klorida akan terbentuk warna ungu, hijau atau biru (Rochma 2016).

7.5. Identifikasi steroid/triterpenoid. Sejumlah tertentu serbuk dan ekstrak sebanyak 100 mg ditambahkan dengan satu tetes Liebermann Bouchard yang terdiri dari 1 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terbentuk warna hijau atau biru menunjukkan positif steroid dan warna merah atau ungu menunjukkan positif triterpenoid (Harborne 2006).

7.6. Identifikasi kandungan minyak atsiri. Dibuat larutan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dua tetes asam sulfat pekat. Kemudian amati, positif jika menunjukkan warna ungu (Gunawan & Mulyani 2004).

9. Penetapan dosis dan pembuatan larutan

8.1. Ekstrak etanol 70% daun jeruk purut. Berdasarkan dari hasil orientasi, didapatkan dosis ekstrak daun jeruk purut dalam tiga peringkat variasi konsentrasi yang berbeda, yaitu: $\frac{1}{2}$ dosis (77 mg/20 g BB; 1 x dosis (154 mg/20 g BB); dan 2 x dosis (308 mg/20 g BB). Ekstrak etanol daun jeruk purut ditimbang 25 g kemudian dilarutkan dengan CMC Na hingga 50 ml yang telah dibuat sebelumnya dan diaduk sampai homogen, sediaan uji dibuat berdasarkan volume ideal yang boleh dimasukkan ke dalam tubuh hewan percobaan secara oral.

8.2. Pembuatan larutan Na CMC 1%. Larutan Na CMC 1% dibuat dengan ditimbang serbuk Na CMC sebanyak 1000 mg kemudian ditaburkan di cawan penguap yang sudah berisi air panas 50 ml sedikit demi sedikit hingga mengembang. Setelah mengembang dimasukkan ke dalam mortir dan digerus dengan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

8.3. Pembuatan larutan asam mefenamat 1%. Dosis asam mefenamat ditentukan berdasarkan faktor konversi dosis manusia. Dosis lazim asam mefenamat adalah 500 mg sekali pakai. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70 mg/kg ke mencit adalah 0,0026. Jadi dosis asam mefenamat yang diberikan pada mencit adalah $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg/20 gram BB}$. Larutan asam mefenamat 1% dibuat dengan cara menimbang serbuk asam mefenamat sebanyak 200 mg dan ditambahkan Na CMC sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume 20 ml sampai terbentuk larutan suspensi.

8.4. Pembuatan larutan asam asetat 1%. Larutan uji asam asetat 1% dibuat dengan mengencerkan asam asetat 1 ml dalam 100 ml aquadest dalam labu takar (Nugrahaini 2015).

8.5. Pembuatan larutan tramadol 0,5 %. Dosis tramadol ditentukan berdasarkan faktor konversi dosis manusia. Dosis lazim tramadol adalah 50 mg sekali pakai. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70 mg/kg ke mencit adalah 0,0026. Jadi dosis asam mefenamat yang diberikan pada mencit adalah $50 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,13 \text{ mg/20 gram BB}$. Larutan tramadol 0,5 % dibuat dengan cara

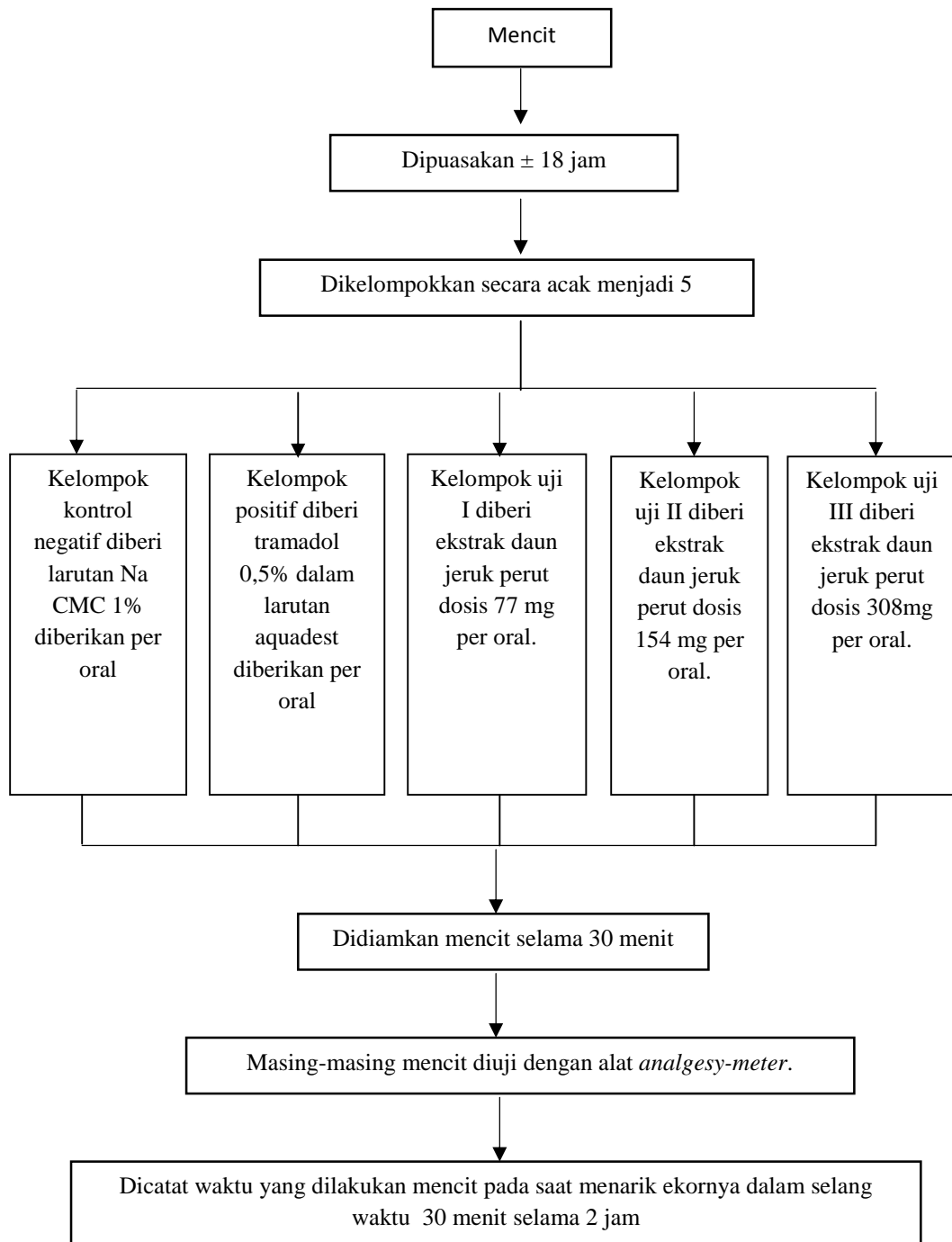
larutan tramadol sebanyak 100 ml dan ditambahkan Na CMC sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume 20 ml sampai terbentuk larutan suspensi.

10. Uji efek analgetik metode *tail flick*

Mencit yang telah dipuaskan selama lebih kurang 18 jam tetapi minum tetap diberikan, dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok uji tersebut adalah sebagai berikut:

1. Kelompok 1, yaitu dengan kontrol negatif yang diberikan per oral larutan Na CMC 1%.
2. Kelompok II, yaitu dengan kontrol positif yang diberikan per oral larutan tramadol 0,5%.
3. Kelompok III, yaitu dengan pemberian dosis 77 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.
4. Kelompok IV, yaitu dengan pemberian dosis 154 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.
5. Kelompok V, yaitu dengan pemberian dosis 308 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.

Sebelum hewan uji diberikan larutan uji, hewan uji dihitung terlebih dahulu t_0 , selanjutnya hewan uji diberi larutan uji sesuai kelompoknya. Mencit didiamkan selama 30 menit, setelah itu masing-masing hewan uji diuji dengan menggunakan alat *analgesy-meter*. Kemudian dicatat waktu hewan uji mulai menarik ekornya untuk setiap perlakuan dalam kelompok. Pengujian dilakukan pada menit ke 30, 60, 90, dan 120. Skema penelitian dapat dilihat pada gambar 6.



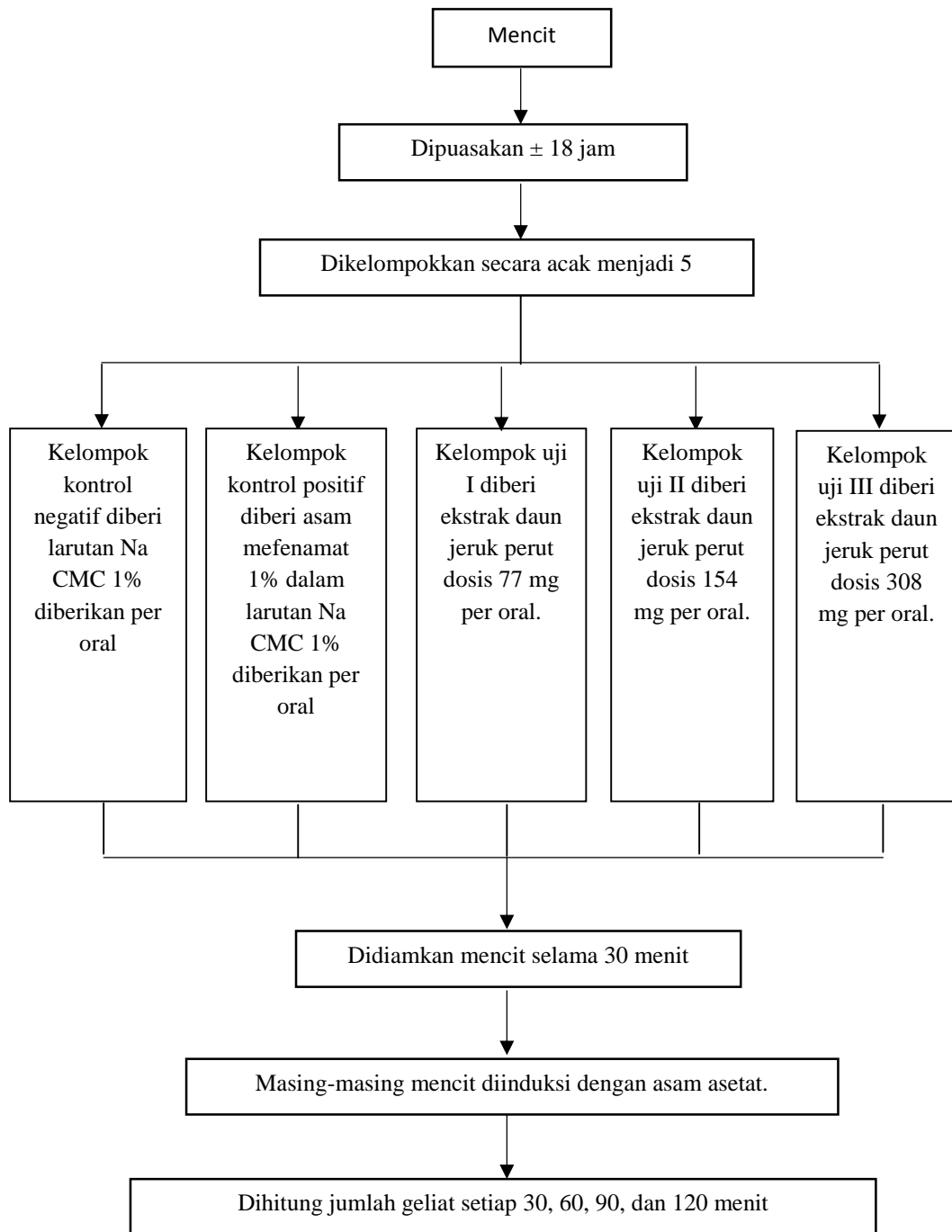
Gambar 6. Skema uji analgetik metode *tail flick*.

11. Uji efek analgetik metode *sigmund*

Mencit yang telah dipuasakan selama lebih kurang 18 jam tetapi minum tetap diberikan, dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok uji tersebut adalah sebagai berikut:

1. Kelompok 1, yaitu dengan kontrol negatif yang diberikan per oral larutan Na CMC 1%.
2. Kelompok II, yaitu dengan kontrol positif yang diberikan per oral larutan asam mefenamat 1%.
3. Kelompok III, yaitu dengan pemberian dosis 77 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.
4. Kelompok IV, yaitu dengan pemberian dosis 154 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.
5. Kelompok V, yaitu dengan pemberian dosis 308 mg ekstrak daun jeruk purut yang diberikan per oral pada mencit.

Setelah diberi perlakuan dosis tunggal peroral, 30 menit kemudian hewan uji diberi perangsang nyeri berupa asam asetat dengan cara intraperitoneal (ip). Kemudian diamati dan dicatat jumlah geliat yang ditunjukkan hewan uji setiap 30, 60, 90, dan 120 menit. Skema penelitian dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Skema uji analgetik metode *sigmund*.

12. Perhitungan persen daya analgetik

11.1. Metode *tail flick*. Berdasarkan Rochma 2016, perhitungan persen daya analgetik metode *tail flick* dapat dinyatakan dengan persen hambatan nyeri (PHN) yang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{PHN} = \frac{T_2 - T_1}{T_1} \times 100\%$$

Dimana:

T_1 = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian kelompok kontrol tanpa obat.

T_2 = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian bahan uji.

11.2. Metode *sigmund*. Analisis dilakukan untuk mengetahui perbedaan pada semua kelompok perlakuan. Data penelitian metode *sigmund* berupa jumlah kumulatif geliat pada masing-masing kelompok perlakuan digunakan untuk menghitung proteksi analgetik dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ proteksi analgetik} = 100 - [P/K \times 100] \%$$

Keterangan:

P = Jumlah geliat kumulatif kelompok percobaan rata-rata tiap individu

K = Jumlah geliat kumulatif kelompok kontrol rata-rata.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini adalah waktu reaksi (dalam detik). Harga rata-rata (*Mean*) dan Standart Deviasi (SD) waktu reaksi setiap kelompok dicatat. Data waktu reaksi, dianalisa dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data terdistribusi normal, dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan Analisis Variasi Satu Arah (*One Way Anova*). Apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* sehingga dapat diketahui perbedaan antar kelompok tersebut signifikan atau tidak signifikan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman jeruk purut

Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan pada suatu penelitian yang menggunakan sampel berupa tanaman dan penggunaannya pada beberapa bagian dari tanaman tersebut. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan ciri morfologi tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Determinasi tanaman dari daun jeruk purut dilakukan di Universitas Setia Budi. Berdasarkan hasil determinasi No : 142/DET/UPT-LAB/05/I/2017 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) (Lampiran 1). Hasil determinasi tanaman *Citrus hystrix* DC. adalah sebagai berikut : 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27b – 28b – 29b – 30b – 31a – 32b – 74a – 75b – 76a – 77b – 104b – 106b – 107b – 186b – 287b – 288b – 289b – 298b – 302a – 303a. familia 133. Rutaceae. 1b – 2a – 3a. 23. Citrus. 1a – 2a. ***Citrus hystrix* DC.**

2. Pengumpulan dan pengeringan daun jeruk purut

Tanaman jeruk purut yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Nusukan, Kota Surakarta, Jawa Tengah pada bulan januari 2017. Daun diambil dalam kondisi yang masih segar, daunnya berwarna hijau, tidak busuk dan bebas dari hama.

Daun jeruk purut yang telah diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada daun dan ditiriskan. Daun kemudian dirajang untuk mempercepat proses pengeringan dan dikeringkan dengan oven. Pengeringan harus dijaga pada suhu konstan 50° C 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 daun. Selain itu pengeringan juga dapat dilakukan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan jamur, dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Data randemen berat daun kering terhadap berat basah daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 1 dan Lampiran 12.

Tabel 1. Randemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Bobot daun basah (g)	Bobot simplisia (g)	Randemen (%)b/b
4000	1100	27,5 %

3. Pembuatan serbuk daun jeruk purut

Daun jeruk purut yang telah dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C sampai kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat penggiling dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Hasil dari pembuatan serbuk dapat dilihat pada Tabel 2 dan Lampiran 12.

Tabel 2. Randemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Bobot simplisia (g)	Bobot serbuk (g)	Randemen (%)b/b
1100	1050	95,45

4. Pembuatan ekstrak etanol daun jeruk purut

Serbuk daun jeruk purut digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol. Ekstrak didapatkan dengan proses ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama dua kali 24 jam. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sampai didapat ekstrak yang pekat. Data randemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 12.

Tabel 3. Randemen ekstrak etanol daun jeruk purut

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Randemen (%)b/b
300	38,55	12,85

5. Hasil kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut

Kadar kelembaban serbuk dan ekstrak daun jeruk purut diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Kadar kelembaban yang terlalu tinggi pada serbuk dan ekstrak akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk dan ekstrak.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak daun jeruk purut

Bahan	Replikasi	Kadar kelembaban (%)±SD
Serbuk daun jeruk purut	1. 6,5 %	6,57±0,115470
	2. 6,5 %	
	3. 6,7 %	
Ekstrak daun jeruk purut	1. 6,4 %	6,73±0,305505
	2. 7,0 %	
	3. 6,8 %	

Tabel 4 menunjukkan hasil rata-rata kadar kelembaban serbuk dan ekstrak daun jeruk purut adalah 6,57±0,115470 dan 6,73±0,305505. Hal ini menunjukkan bahwa kadar lembab serbuk dan ekstrak daun jeruk purut memenuhi syarat, yaitu kadar kelembaban serbuk dan ekstrak tidak lebih dari 10%.

6. Hasil kadar air serbuk daun jeruk purut

Serbuk daun jeruk purut yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut

No	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,2	6
2	20	1,2	6
3	20	1,0	5
Rata-rata			5,67

Hasil rata-rata kadar air serbuk daun jeruk purut adalah 5,67%. Kadar air serbuk daun jeruk purut sudah memenuhi pustaka, yaitu kurang dari 10% (Depkes 1985). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 13.

7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut

Ekstrak daun jeruk purut dilakukan uji esterifikasi etanol. Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jeruk purut

Hasil pustaka	Hasil uji
Bila positif tercium bau ester yang khas pada etanol	Tidak tercium bau ester yang khas

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut telah bebas dari etanol yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol bertujuan agar ekstrak yang akan dipakai untuk pengujian pada hewan uji tidak mengandung etanol sehingga tidak mempengaruhi perlakuan ke hewan uji.

8. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak daun jeruk purut

Berdasarkan identifikasi serbuk dan ekstrak daun jeruk purut didapatkan hasil bahwa serbuk dan ekstrak daun jeruk purut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, steroid dan minyak atsiri. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 8.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak daun jeruk purut

Kandungan senyawa	Metode/reagen uji	Hasil	
		Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Serbuk Mg, asam klorida, amil alkohol	+	+
Alkaloid	Mayer	+	+
	Dragendorf	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+
Polifenol	FeCl ₃	+	+
Steroid	Liebermann Bourchard	+	+
Triterpenoid	Liebermann Bourchard	-	-
Minyak atsiri	Asam sulfat pekat	+	+

9. Hasil uji aktivitas analgetik metode *tail flick*

Pengujian aktivitas analgetik ekstrak etanol daun jeruk purut menggunakan metode *tail flick* yang diujikan pada mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Bahan uji yang digunakan adalah larutan CMC-Na, larutan tramadol, dan larutan ekstrak etanol daun jeruk purut. Kontrol negatif yang digunakan adalah CMC-Na, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah tramadol.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan. Pemilihan jenis kelamin jantan dikarenakan kondisi biologisnya lebih stabil, tidak mudah stres dan pengaruh hormonal. Alat yang digunakan untuk metode *tail flick* adalah *analgesy-meter*, faktor yang mempengaruhi penggunaan alat tersebut adalah ketepatan dalam membaca waktu yang muncul pada alat setelah hewan uji memberikan efek nyeri.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok I (kontrol negatif), diberikan larutan CMC-Na 1% per oral. Kelompok II (kontrol positif), diberikan larutan per oral tramadol 0,5%. Kelompok III diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun jeruk purut dengan dosis 77 mg/20 g BB. Kelompok IV diberikan larutan per oral ekstrak

etanol daun jeruk purut dengan dosis 154 mg/20 g BB. Kelompok V diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun jeruk purut dengan dosis 308 mg/20 g BB. Selanjutnya dilakukan pengujian efek analgetik menggunakan alat *tail flick analgesy-meter*.

Pengujian aktivitas analgetik didapatkan data kuantitatif rata-rata waktu (detik) hewan uji dapat menahan dari rangsangan nyeri dan SD. Hasil dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Waktu rata-rata (detik) aktivitas analgetik dan SD

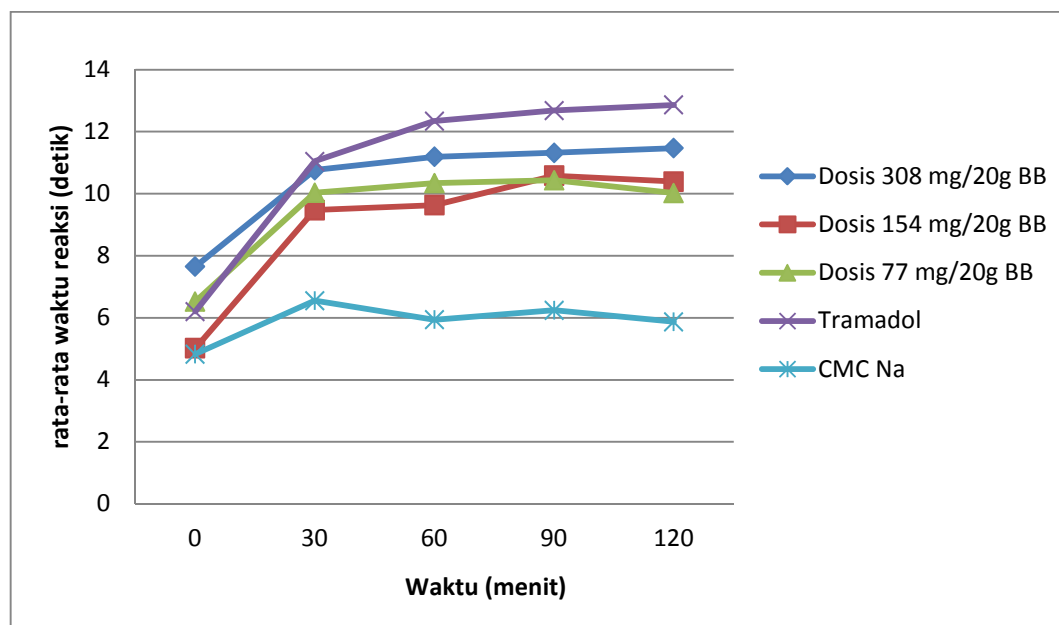
Kelompok	Rata-rata waktu (detik)				
	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
CMC Na	4,83±1,08	6,55±1,08	5,94±1,05	6,24±2,39	5,87±0,83
Tramadol	6,20±2,51	11,04±2,51	12,34±1,93	12,68±2,13	12,86±1,51 ^a
Dosis 77 mg/20g BB	6,52±1,69	10,03±1,69	10,34±2,51	10,43±1,08	10,02±1,38 ^{ab}
Dosis 154 mg/20g BB	5,02±3,72	9,47±3,72	9,63±2,40	10,58±1,60	10,39±2,74 ^b
Dosis 308 mg/20g BB	7,65±3,99	10,76±3,99	11,19±1,86	11,32±1,93	11,47±1,68 ^{ab}

Keterangan:

a = terdapat perbedaan dengan kontrol negatif (CMC Na)

b = tidak terdapat perbedaan dengan kontrol positif (tramadol)

Pemberian ekstrak daun jeruk purut terbukti mampu memperlama waktu reaksi dan berbeda secara signifikan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut memiliki aktivitas analgetik. Secara statistik pada menit ke 120 dengan uji *Dunnet T3*, dihasilkan bahwa semua kelompok dosis ekstrak memiliki waktu reaksi yang tidak berbeda signifikan, artinya peningkatan dosis menyebabkan peningkatan waktu reaksi. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, semua kelompok dosis ekstrak tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut dapat memberikan aktivitas analgetik yang setara dengan kontrol positif tramadol. Oleh sebab itu, dosis ekstrak daun jeruk purut yang efektif sebagai analgetik adalah pada dosis 308 mg/20g BB.



Gambar 8. Rata-rata waktu reaksi (detik) setelah pemberian sediaan uji

Gambar 8 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (CMC Na) mempunyai rata-rata waktu reaksi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol uji lainnya. Hal ini diakibatkan karena CMC Na tidak mempunyai aktivitas analgetik. Pada menit ke 30 kelompok postif (tramadol), dosis 77 mg/20g BB, 154 mg/20g BB dan 308 mg/20g BB memiliki rata-rata waktu reaksi yang tinggi dari kontrol negatif setelah pemberian obat secara oral. Hal ini menunjukkan bahwa tramadol dan kelompok kontrol ekstrak mempunyai efek analgetik pada waktu reaksi yang sama. Tramadol pada menit ke 30 sampai menit 120 memberikan efek analgetik yang meningkat, hal ini karena tramadol memiliki absorpsi yang cepat dan kadar puncak dari tramadol dapat dicapai 2 jam setelah pemberian secara oral.

Data waktu reaksi dianalisis persentase hambatan nyeri (PHN) dengan hasil pada kelompok perlakuan. Hasil dapat dilihat pada tabel 9 dan perhitungan persentase hambatan nyeri (PHN) dapat dilihat pada lampiran 18.

Tabel 9. Persentase Hambatan Nyeri (PHN)

Waktu (menit)	Persen Hambatan Nyeri (%)			
	Tramadol 50 mg/kg BB	Dosis 77 mg/ 20g BB	Dosis 154 mg/ 20g BB	Dosis 308 mg/20g BB
30	68,49	56,12	53,05	64,26
60	107,78	77,51	74,14	88,45
90	103,21	54,38	67,20	81,44
120	102,04	46,83	70,69	95,54

Pada tabel 9 menunjukkan bahwa dosis 308 mg/20g BB dan tramadol pada menit ke 30 hingga ke 120 mempunyai aktivitas hambatan nyeri yang lebih besar dibandingkan dengan dosis 77 mg/20g BB dan dosis 154 mg/20g BB. Dosis 308 mg/20g BB memberikan data persen hambatan nyeri yang lebih tinggi daripada kelompok dosis ekstrak lainnya, sehingga dosis tersebut memberikan data persen hambatan nyeri yang paling efektif.

Ekstrak etanol daun jeruk purut memiliki aktivitas analgetik karena mengandung senyawa yang dapat berefek sebagai analgetik. Senyawa yang terkandung dalam daun jeruk purut seperti flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, steroid, dan minyak atsiri. Alkaloid bekerja dalam memberikan efek analgetik terhadap reseptor opioid khas di SSP, hingga persepsi nyeri dan respon terhadap emosional terhadap nyeri berkurang (Safitri 2013)

10. Hasil uji efek analgetik metode *sigmund*

Pengujian efek analgetik ekstrak etanol daun jeruk purut menggunakan metode *sigmund*. Mencit diberi perangsang nyeri berupa asam asetat sehingga memberikan respon rasa nyeri dalam bentuk geliat. Data yang diperoleh dari penelitian adalah jumlah geliat yang ditunjukkan pada menit ke 30, 60,90, dan 120. Hasil waktu rata-rata jumlah kumulatif geliat dan persen proteksi analgetik dari masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10 dan diplotkan pada Gambar 9.

Tabel 10. Rata-rata jumlah kumulatif dan persen proteksi analgetik

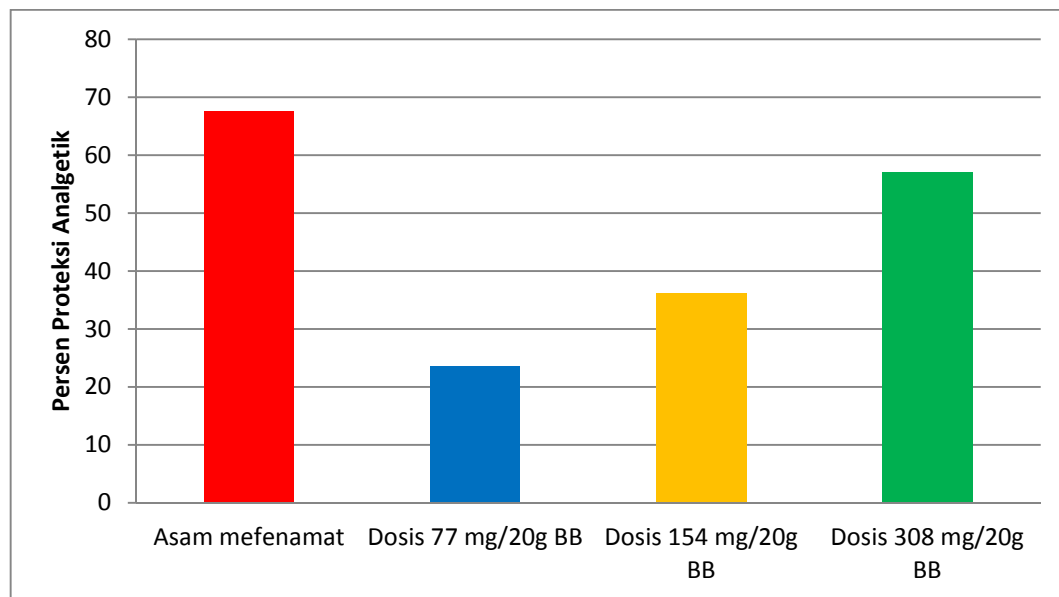
Kelompok	Rata-rata jumlah kumulatif	% proteksi analgetik
CMC Na	274,8 ^b	
Asam mefenamat	89,2 ^a	67,54
Dosis 77 mg/20g BB	210 ^{ab}	23,58
Dosis 154 mg/20g BB	175,4 ^{ab}	36,17
Dosis 308 mg/20g BB	117,8 ^a	57,13

Keterangan:

a = terdapat perbedaan dengan kontrol negatif (CMC Na)

b = terdapat perbedaan dengan kontrol positif (asam mefenamat)

Rata-rata jumlah kumulatif geliat mencit pada kelompok ekstrak daun jeruk purut dosis 77 mg/20g BB, dosis 154 mg/20g BB dan dosis 308 mg/20g BB menunjukkan jumlah kumulatif geliat lebih kecil daripada kelompok kontrol negatif CMC Na 1%, hal ini berarti kelompok ekstrak daun jeruk purut sudah dapat memberikan efek analgetik.



Gambar 9. Gambar histogram persen proteksi analgetik

Sediaan uji dikatakan efektif bila kelompok uji memiliki persen proteksi analgetik 50% dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pengamatan terhadap persen proteksi analgetik selama 120 menit menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut dosis 308 mg/20g BB memberikan efek analgetik yang efektif dengan persen proteksi analgetik sebesar 57,13% bila dibandingkan dengan kelompok uji lainnya hal ini dapat diduga ada hubungan antara dosis dengan efek analgetiknya (Gambar 9).

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan metode analisa varian (ANAVA) satu arah (Lampiran 21). Uji aktivitas analgetik ini analisa awal dilakukan uji normalitas dengan metode *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat distribusi data jumlah geliat mencit terhadap kelompok perlakuan. Hasil dari data uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikan $0,792 > 0,05$ (H_0 diterima). Dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal.

Setelah itu, dilakukan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Hasil uji analisa dari *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai probabilitas *Levene Statistic* adalah $0,068 > 0,05$ (H_0 diterima). Maka dapat dikatakan kelima perlakuan yang diberikan mempunyai variasi yang sama (homogen). Hasil dari uji ANOVA diperoleh signifikansi $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak), berarti perbedaan perlakuan yang diberikan pada uji analgetik ekstrak daun jeruk purut dengan

beberapa variasi dosis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan respon geliat mencit selama 120 menit.

Untuk mengetahui makna perbedaan antara kelompok perlakuan lainnya dilakukan *Post Hoc Test*. Hasil dari *Tukey* menunjukkan bahwa, semua kelompok terdapat perbedaan secara bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jeruk purut dengan dosis 77 mg/20g BB, dosis 154 mg/20g BB, dan dosis 308 mg/20g BB dapat menurunkan geliat pada mencit putih jantan yang diinduksi asam asetat 1% dan pada dosis 308 mg/20g BB mencit memberikan efek analgetik yang sama dengan asam mefenamat sebagai kontrol positifnya.

Ekstrak daun jeruk purut pada dosis 308 mg/20g BB mencit disimpulkan memberikan aktivitas analgetik efektif pada mencit yang diinduksi asam asetat. Dari hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun jeruk purut pada hewan uji yang diinduksi asam asetat, menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun jeruk purut mempengaruhi persen proteksi analgetik pada hewan uji. Semakin besar dosis, semakin besar pula aktivitas analgetiknya. Aktivitas analgetik yang dihasilkan diduga merupakan aktivitas dari senyawa kimia yang terkandung dalam daun jeruk purut seperti flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol, steroid, dan minyak atsiri. Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin (Pandey *et al.* 2013). Minyak atsiri dapat menghambat prostaglandin yang merupakan mediator nyeri (Kasim 2013).

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa metode *tail flick* memberikan hasil yang lebih efektif dibandingkan dengan metode *sigmund*. Sehingga, dapat dinyatakan bahwa daun jeruk purut dapat digunakan sebagai analgetik pada tingkat sedang hingga kuat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ketiga dosis ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai aktivitas analgetik pada mencit putih jantan yang diuji dengan menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

Kedua, ekstrak etanol daun jeruk purut dosis 308 mg/20g BB memberikan aktivitas analgetik yang paling efektif yang diuji dengan menggunakan metode *tail flick* dan *sigmund*.

Ketiga, metode *tail flick* memberikan hasil yang lebih efektif pada ekstrak dibandingkan dengan metode *sigmund*. Sehingga, dapat dinyatakan bahwa daun jeruk purut dapat digunakan sebagai analgetik pada tingkat sedang hingga kuat.

B. Saran

Saran pada para peneliti selanjutnya adalah:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas analgetik dari ekstrak daun jeruk purut menggunakan metode ekstraksi yang lain dengan pelarut yang berbeda.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas analgetik dari ekstrak daun jeruk purut menggunakan metode analgetik lainnya.

Ketiga, perlu dilakukan pengujian toksisitas untuk menunjang keamanan penggunaan daun jeruk purut.

DAFTAR PUSTAKA


- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal: 1-15.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral POM. Hal: 7-8; 10-11; 13-17.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Agrensa RS. 2013. Efek Analgetik Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum*L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Ajartha R. 2007. Efek Pemberian Tramadol Intramuskular Terhadap Nyeri Persalinan Pada Primigravida [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press. Hal: 6.
- Ansel HC. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ibrahim F. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms. Hal: 605-608.
- Dalimartha S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia I*. Jakarta: Puspa Swara. Hal: 6
- Darmono S. 2011. *Farmakologi Eksperimental*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. Hal: 5; 65-67.
- Dewi CIK. 2013. Optimasi Formulasi Tablet Lepas Lambat Tramadol HCL Dengan Kombinasi Matriks Mukoadesif Karbopol 940 Dan Polivinilpirolidon Secara Simplex Lattice Design [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi
- Goodman dan Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi 10. Siswah C, Elviana E, Syarief WR, Hanif A, Manurung J, penerjemah. Penerbit: Buku Kedokteran EGC.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (alih bahasa: Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro). Bandung: Penerbit ITB.

- Harmita dan Radji M. 2004. *Analisis Hayati*. Jakarta: FMIPA Universitas Indonesia. Hal: 47-54.
- Hartwig MS dan Wilson LM. 2006. *Nyeri: Patofisiologi Konsep Klinis. Proses-proses Penyakit*. Vol 2. Jakarta: EGC.
- Haryanto S. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Penerbit: Palmall. Hal: 246.
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: EGC.
- Hidayat R. 2010. Efek Analgesik Dan Antiinflamasi Jus Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Pada Mencit Betina Galur Swiss [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Inayati. 2010. Uji Efek Analgetik Dan Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Secara In Vivo [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Kasim IP. 2013. Efek Analgetik Ekstrak Air Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Pada Mencit Dengan Metode Geliat [Naskah Publikasi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kasolo JN, Bimeya GS, Ojok L, Ochieng J, Ogwal-okeng JW. 2010. *Phytochemicals and Uses of Moringa oleifera Leaves in Ugandal rural Communities*. Journal of Medical Plant Research 4 (9): 753-757.
- Kurniawan K. 2015. Aktivitas Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Terhadap Enzim Glutation Peroksidase Dan Superoksida Dismutase Pada Tikus Diabetes [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Miean KH & Mohamed S. 2001. *Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin & Apigenin) Content of Edible Tropical Plants*. Journal Agriculture Food Chemistry, no 49. Faculty of Food Science and Biotechnology. University Putra Malaysia, Serdang Selangor, Malaysia.
- Moffat AC, Osselton MD and Widdrof B. 2004. *Clarke's Analysis of Drug and Poison*. 3rd Edition. Pharmaceutical Press, 93-95.
- Munawaroh S dan Handayani PA. 2010. Ekstraksi minyak daun jeruk purut (*Citrus Hystrix* DC.) dengan pelarut etanol dan N-heksana [Jurnal Kompetensi Teknik]. Universitas Negeri Semarang: Program Studi Teknik Kimia. Vol 2, No 1.
- Nugrahaini, W.F.B. 2015. Uji Efektifitas Analgetik Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Naga Daging Merah (*Hylocereus polyrhizus* Cortex) Dengan Metode

- Geliat Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nugraheni KS. 2012. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Dan Metode Destilasi Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Kayu Manis. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Pandey PV, Bodhi W, Yudistira A. 2013. Uji efek analgetik ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus*). Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Pratiwi DN. 2011. Optimalisasi Reaksi Esterifikasi Asam Asetat Dengan 1-Heksena, Sebagai Salah Satu Tahapan Pada Proses Pembuatan Etanol. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Puspitasari H, Listyawati S, Widiyani T. 2003. Aktivitas Analgetik Ekstrak Umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan. Biofarmasi 1 (2): 50-57.
- Rochma EN. 2016. Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Sere (*Andropogon citratus* DC.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). Surakarta: Universitas Setia Budi.
- 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. Hal: 12.
- Sari GP. 2010. Uji Efek Analgetik Dan Antiinflamasi Ekstrak Kering Air Gambir Secara *In Vivo* [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Hal: 15.
- Sarker SD, Latif Z, Gray Al. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hal: 341.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AP, Kusnandar. 2009. *Iso Farmakoterapi*. Penerbit: PT ISFI. Hal: 517.
- Tan HT dan Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting. Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi VI Cetakan Pertama. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo. Hal: 303.
- Tusthi GNT. 2007. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Senggangi (*Melastoma polyanthum* Bl.) Pada Mencit Putih Betina [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

- Wilson dan Gisvold. 2012. *Buku Ajar Kimia Medisinal Organik dan Kimia Farmasi*. Edisi 11. Jakarta: penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal: 1078.
- Yusuf H. 2001. Efek Analgesia Ekstrak Daun Klausena (*Clausena anisa* Hook.f.) Pada Tikus Putih Dengan Metode Rat Tail Analgesy Test [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Yuzammi, Witono JR, Hidayat S, Handayani T, Sugiarti, Mursidawati S, Triono T, Astuti IP, Sudarmono, Wawangningrum H. 2010. *Ensiklopedia Flora*. Penerbit: PT Kharisma Ilmu.
- Zakiyah A. 2015. *Nyeri: Konsep dan Penatalaksanaan Dalam Praktik Keperawatan Berbasis Bukti*. Penerbit: Salemba Medika. Hal: 85.

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi daun jeruk purut



**UNIVERSITAS
SETIA BUDI**

UPT- LABORATORIUM

No : 142/DET/UPT-LAB/05/1/2017
 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :


Nama : Yulinda Kusumawaty
 NIM : 19133972 A
 Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)**
 Hasil determinasi berdasarkan : **Baker : Flora of Java**
 1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b
 - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32b - 74a - 75b - 76a - 77b - 104b - 106b - 107b -
 186b - 287b - 288b - 289b - 298b - 302a - 303a. familia 133. Rutaceae. 1b - 2a - 3a. 23.
 Citrus. 1a - 2a. *Citrus hystrix* DC.

Deskripsi :

Habitus : Perdu, tinggi 2 - 12 meter.
 Akar : Tunggang.
 Batang : Percabangan monopodial, bulat, berduri, hijau, yang sudah tua berwarna coklat.
 Daun : Majemuk menyirip beranak daun satu. Anak daun bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai runcing, tepi beringgit, panjang 3,5 - 6 cm, lebar 2,7 - 4,1 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilap, permukaan bawah hijau muda, bila diremas berbau harus spesifik.
 Bunga : Majemuk, tandan, di terminal atau aksilar, kelopak bentuk bintang, petala 4 - 5, putih kekuningan, stamen 24 - 30, tangkai putik panjang, silindris.
 Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff - Groningen - The Netherlands.

Surabaya, 05 Januari 2017



Drs. Kusumah Wiryosoendjojo, SU.

Jl. Let. Jen Sutuyo, Mejosongo-Solo 57127 Telp.0271-852558, Fax.0271-853275
 Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"
 ✓ Mencit putih jantan ✓ Tikus Wistar ✓ Swis Webster ✓ Cacing
 ✓ Mencit Balb/C ✓ Kalinci New Zealand
 Ngampon RT 04 / RW 04, Mojosoongo Kec. Jebres Surakarta, Phone 085 629 994 33 / Lab US8 Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:
 Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:
 Nama : Yulinda Kussukmawati
 Nim : 19133972 A
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta



Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:
 Jenis hewan : Mencit Swiss
 Umur : 2-3 bulan
 Jenis kelamin : Jantan
 Jumlah : 35 ekor
 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, 18 Mei 2017
 Hormat kami


 Sigit Pramono
 "ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Surat keterangan (resep) tramadol

		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">Buka 24 Jam</div>	
<p>kimia farma APOTEK KIMIA FARMA JL. Kol. Sutarto 57, Tlp. (0271) 633313 Surakarta SIA : 449/025/SIA/2016 APA : Drs. Sutarno, Apt. SIPA : 19631007/SIPA_33.72/2016/1209</p>			
COPY RESEP			
Salinan Resep No. :	63		
Dari Dokter :	ESID MARGA ET		
Untuk :	Adlene	Um :	
Diterima Tgl :	21-3-2017	Tgl :	
<p>R/ Tramadol inj II dia orasit inj I ---- 19 Spirit 3ml II ----</p>			
			

Lampiran 4. Surat keterangan zat aktif asam mefenamat

 PT.DEXA MEDICA Jl. Jendral Bambang Utuyo 138 Palembang Tel.62-711-711390 Fax.62-711-713242	
TANDA TERIMA	
	No : 029/TT/PGA/III/2017 Palembang, 2 Maret 2017
Yth, Universitas Setia Budi Fakultas Farmasi Jl. Let. Jend. Sutoyo - Solo 57127 Attn. Sdri. Ita Ariati (NIM : 19133969A), Sdri. Emi Sukmawati Kaderi (NIM : 19133967A), Sdri. Hapsari Dyah Ayu P. (NIM : 19133957A), & Sdri. Yulinda Kusukmawaty (NIM : 19133972A)	
Mohon dapat diterima :	
<ul style="list-style-type: none">• 20 Gram Paracetamol / Acetaminophen• 40 Gram Mefenamic Acid	
Keterangan : Sumbangan untuk penelitian skripsi mahasiswa Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi	
Demikianlah, surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya. Terima kasih atas perhatian dan kerjasamanya.	
Yang menyerahkan,	Yang menerima
 Muslim Kurniadi GA Officer	 (EMI SUKMAWATI KADERI)
<p>Note : Mohon dilax kembali ke 0711-713242 / Muslim Kurniadi atau email ke reni.apsa@dexa-medica.com</p>	

Lampiran 5. Daun jeruk purut

Gambar daun basah



Gambar daun kering



Gambar serbuk daun jeruk purut

Lampiran 6. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian

Gambar bejana remaserasi



Gambar Gilingan

Gambar *rotary evaporator*

Gambar Oven

Gambar alat *moisture balance*Gambar alat *sterling-bidwell*

Lampiran 7. Penetapan kadar kelembaban serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut



Gambar kadar
kelembaban serbuk



Gambar kadar
kelembaban ekstrak

Lampiran 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun jeruk purut



Gambar identifikasi
flavonoid serbuk



Gambar identifikasi
flavonoid ekstrak



Gambar identifikasi
tanin serbuk



Gambar identifikasi
tanin ekstrak



Gambar identifikasi
polifenol serbuk



Gambar identifikasi
polifenol ekstrak



Gambar identifikasi
alkaloid serbuk



Gambar identifikasi
alkaloid ekstrak



Gambar identifikasi

Steroid bubuk



Gambar identifikasi

Steroid ekstrak



Gambar identifikasi

Minyak atsiri bubuk



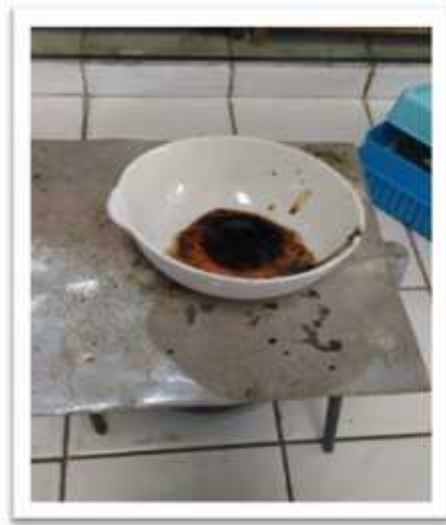
Gambar identifikasi

Minyak atsiri ekstrak

Lampiran 9. Ekstrak etanol dan bebas etanol daun jeruk purut



Gambar ekstrak etanol
daun jeruk purut



Gambar bebas etanol

Lampiran 10. Hewan uji dan larutan sediaan uji

Gambar mencit putih jantan



Gambar larutan CMC Na



Gambar larutan tramadol



Gambar larutan asam mefenamat



Gambar larutan ekstrak

Lampiran 11. Perlakuan pada hewan uji

Gambar pemberian larutan uji secara oral



Gambar pemberian induksi asam asetat



Gambar pengujian dengan alat *analgesy-meter*



Gambar geliat hewan uji

Lampiran 12. Perhitungan rendemen daun kering terhadap daun basah, rendemen serbuk terhadap daun kering, persen rendemen ekstrak.

Randemen berat daun kering terhadap berat daun basah		
Bobot daun basah (g)	Bobot simplisia (g)	Randemen (%)b/b
4000	1100	27,5

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat daun kering}}{\text{Berat daun basah}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1100 \text{ g}}{4000 \text{ g}} \times 100 \% = 27,5 \%$$

Randemen berat serbuk terhadap berat daun kering		
Bobot simplisia (g)	Bobot serbuk (g)	Randemen (%)b/b
1100	1050	95,45

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat serbuk}}{\text{Berat daun kering}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1050 \text{ g}}{1100 \text{ g}} \times 100 \% = 95,45 \%$$

Randemen ekstrak etanol daun jeruk purut		
Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Randemen (%)b/b
300	38,55	12,85

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{38,55 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100 \% = 12,85 \%$$

Lampiran 13. Perhitungan kadar air

Hasil penetapan kadar air serbuk daun jeruk purut			
No	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,2	6
2	20	1,2	6
3	20	1,0	5
Rata-rata			5,67

- Rumus kadar air = $\frac{\text{volume terbaca}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$
 1. Kadar air = $\frac{1,2 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 6\%$
 2. Kadar air = $\frac{1,2 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 6\%$
 3. Kadar air = $\frac{1,0 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 5\%$

Lampiran 14. Perhitungan dosis *tail flick*

1. CMC-Na

Pembuatan larutan CMC-Na 1% adalah dengan 1000 mg CMC-Na ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml.

2. Tramadol

Dosis tramadol adalah 50 mg (pada manusia 70 kg)

❖ Dosis untuk mencit = $0,0026 \times 50 \text{ mg} = 0,13 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$

❖ Larutan stok = $100 \text{ ml}/20 \text{ ml}$

• Mencit I

❖ Berat 22,48 g $= \frac{22,48}{20 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,146 \text{ mg}$

❖ Volume oral $= \frac{0,146}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,029 \text{ ml}$

• Mencit II

❖ Berat 21,19 g $= \frac{21,19}{20 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,137 \text{ mg}$

❖ Volume oral $= \frac{0,137}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,027 \text{ ml}$

• Mencit III

❖ Berat 22,09 g $= \frac{22,09}{20 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,143 \text{ mg}$

❖ Volume oral $= \frac{0,143}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,029 \text{ ml}$

• Mencit IV

❖ Berat 23,32 g $= \frac{23,32}{20 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,151 \text{ mg}$

❖ Volume oral $= \frac{0,151}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,030 \text{ ml}$

• Mencit V

❖ Berat 22,16 g $= \frac{22,16}{20 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,144 \text{ mg}$

❖ Volume oral $= \frac{0,144}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,029 \text{ ml}$

3. Dosis 77 mg/20 g BB

• Mencit I

❖ Berat 23,80 g $= \frac{23,80}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 91,63 \text{ mg}$

- ❖ Volume oral $= \frac{91,63}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,183 \text{ ml}$
 - Mencit II
 - ❖ Berat 22,20 g $= \frac{22,20}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 85,47 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{85,47}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,170 \text{ ml}$
 - Mencit III
 - ❖ Berat 22,41 g $= \frac{22,41}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 86,278 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{86,278}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,172 \text{ ml}$
 - Mencit IV
 - ❖ Berat 21,93 g $= \frac{21,93}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 84,430 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{84,430}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,168 \text{ ml}$
 - Mencit V
 - ❖ Berat 24,66 g $= \frac{24,66}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 94,941 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{94,941}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,189 \text{ ml}$
- 4. Dosis 154 mg/20 g BB**
- Mencit I
 - ❖ Berat 26,11 g $= \frac{26,11}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 201,047 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{201,047}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,402 \text{ ml}$
 - Mencit II
 - ❖ Berat 23,38 g $= \frac{23,38}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 180,026 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{180,026}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,360 \text{ ml}$
 - Mencit III
 - ❖ Berat 22,78 g $= \frac{22,78}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 175,406 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{175,406}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,350 \text{ ml}$
 - Mencit IV

$$\text{❖ Berat 21,61 g} = \frac{21,61}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 166,397 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{166,397}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,332 \text{ ml}$$

- Mencit V

$$\text{❖ Berat 24,02 g} = \frac{24,02}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 184,954 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{184,954}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,369 \text{ ml}$$

5. Dosis 308 mg/20 g BB

- Mencit I

$$\text{❖ Berat 23,35 g} = \frac{23,35}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 359,59 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{359,59}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,719 \text{ ml}$$

- Mencit II

$$\text{❖ Berat 21,24 g} = \frac{21,24}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 327,096 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{327,096}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,654 \text{ ml}$$

- Mencit III

$$\text{❖ Berat 24,53 g} = \frac{24,53}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 377,762 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{377,762}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,755 \text{ ml}$$

- Mencit IV

$$\text{❖ Berat 25,04 g} = \frac{25,04}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 385,616 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{385,616}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,771 \text{ ml}$$

- Mencit V

$$\text{❖ Berat 22,78 g} = \frac{22,78}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 350,812 \text{ mg}$$

$$\text{❖ Volume oral} = \frac{350,812}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,701 \text{ ml}$$

Lampiran 15. Perhitungan dosis *sigmund*

1. CMC-Na

Pembuatan larutan CMC-Na 1% adalah dengan 1000 mg CMC-Na ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml.

2. 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 = $200 \text{ mg}/20 \text{ ml}$

- Mencit I

- ❖ Berat 23,77 g $= \frac{23,77}{20 \text{ mg}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,545 \text{ mg}$
- ❖ Volume oral $= \frac{1,545}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,154 \text{ ml}$

- Mencit II

- ❖ Berat 22,14 g $= \frac{22,14}{20 \text{ mg}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,439 \text{ mg}$
- ❖ Volume oral $= \frac{1,439}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,143 \text{ ml}$

- Mencit III

- ❖ Berat 22,96 g $= \frac{22,96}{20 \text{ mg}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,492 \text{ mg}$
- ❖ Volume oral $= \frac{1,492}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,149 \text{ ml}$

- Mencit IV

- ❖ Berat 24,63 g $= \frac{24,63}{20 \text{ mg}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,601 \text{ mg}$
- ❖ Volume oral $= \frac{1,601}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,160 \text{ ml}$

- Mencit V

- ❖ Berat 23,47 g $= \frac{23,47}{20 \text{ mg}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,526 \text{ mg}$
- ❖ Volume oral $= \frac{1,526}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,152 \text{ ml}$

3. Dosis 77 mg/20 g BB

- Mencit I

- ❖ Berat 24,46 g $= \frac{24,46}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 94,171 \text{ mg}$

- ❖ Volume oral $= \frac{94,171}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,188 \text{ ml}$
- Mencit II
 - ❖ Berat 23,13 g $= \frac{23,13}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 89,051 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{89,051}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,178 \text{ ml}$
- Mencit III
 - ❖ Berat 23,58 g $= \frac{23,58}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 90,783 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{90,783}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,182 \text{ ml}$
- Mencit IV
 - ❖ Berat 22,23 g $= \frac{22,23}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 85,586 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{85,586}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,171 \text{ ml}$
- Mencit V
 - ❖ Berat 25,43 g $= \frac{25,43}{20 \text{ mg}} \times 77 \text{ mg} = 97,906 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{97,906}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,196 \text{ ml}$
- 4. Dosis 154 mg/20 g BB**
 - Mencit I
 - ❖ Berat 26,88 g $= \frac{26,88}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 206,976 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{206,976}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,414 \text{ ml}$
 - Mencit II
 - ❖ Berat 24,04 g $= \frac{24,04}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 185,108 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{185,108}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,370 \text{ ml}$
 - Mencit III
 - ❖ Berat 23,56 g $= \frac{23,56}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 181,412 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{181,412}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,363 \text{ ml}$

- Mencit IV
 - ❖ Berat 22,32 g $= \frac{22,32}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 171,864 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{171,864}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,344 \text{ ml}$

- Mencit V
 - ❖ Berat 25,15 g $= \frac{25,15}{20 \text{ mg}} \times 154 \text{ mg} = 193,655 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{193,655}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,387 \text{ ml}$

5. Dosis 308 mg/20 g BB

- Mencit I
 - ❖ Berat 23,94 g $= \frac{23,94}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 368,676 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{368,676}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,737 \text{ ml}$

- Mencit II
 - ❖ Berat 22,06 g $= \frac{22,06}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 339,724 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{339,724}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,679 \text{ ml}$

- Mencit III
 - ❖ Berat 25,27 g $= \frac{25,27}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 389,158 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{389,158}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,778 \text{ ml}$

- Mencit IV
 - ❖ Berat 25,86 g $= \frac{25,86}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 398,244 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{398,244}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,796 \text{ ml}$

- Mencit V
 - ❖ Berat 23,36 g $= \frac{23,36}{20 \text{ mg}} \times 308 \text{ mg} = 359,744 \text{ mg}$
 - ❖ Volume oral $= \frac{359,744}{500 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,719 \text{ ml}$

Lampiran 16. Perhitungan rata-rata waktu reaksi (detik)

Kelompok Dosis	No. Hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
CMC-Na	1	3,72	5,13	5,48	3,22	5,68
	2	5,04	6,41	6,53	4,48	5,63
	3	4,62	5,97	4,34	6,67	5,41
	4	6,64	7,62	6,99	9,13	7,32
	5	4,14	7,63	6,36	7,69	5,30
Rata-rata			6,552	5,94	6,238	5,868
SD			1,08209	1,04864	2,39048	0,82654

Kelompok Dosis	No. Hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
Tramadol	1	5,87	9,91	13,46	10,04	12,34
	2	4,97	10,79	15,52	13,22	10,20
	3	7,14	11,88	10,32	12,81	11,33
	4	7,52	8,02	9,94	15,72	12,28
	5	5,49	14,60	12,47	11,59	13,13
Rata-rata			11,04	12,342	12,676	12,856
SD			2,44126	2,30348	2,10403	1,12429

Kelompok Dosis	No. Hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
Dosis 77 mg/ 20g BB	1	6,66	8,61	7,35	9,94	12,08
	2	6,82	10,79	9,15	10,41	8,46
	3	8,73	11,76	12,69	10,38	10,11
	4	4,88	8,81	10,26	12,56	9,33
	5	5,51	10,17	12,27	8,86	10,10
Rata-rata			10,028	10,344	10,43	10,016
SD			1,33181	2,21415	1,08453	1,33863

Kelompok Dosis	No. Hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
Dosis 154 mg/ 20g BB	1	4,12	6,47	8,44	10,14	8,52
	2	8,19	13,13	11,86	12,36	9,06
	3	4,40	7,03	10,33	11,32	12,89
	4	3,65	6,79	6,42	8,09	13,77
	5	4,76	13,93	11,09	10,99	7,71
Rata-rata			9,47	9,628	10,58	10,39
SD			3,72234	2,19742	1,60295	2,74420

Kelompok Dosis	No. Hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
Dosis 308 mg/ 20g BB	1	6,69	14,96	8,55	12,37	13,84
	2	9,73	11,40	14,38	8,43	12,11
	3	10,13	14,18	9,53	13,59	11,22
	4	5,19	6,37	11,54	9,41	8,83
	5	6,51	6,90	11,97	12,79	11,37
Rata-rata			10,762	11,194	11,318	11,474
SD			3,99743	2,27113	2,25923	1,61669

Lampiran 17. Perhitungan rata-rata jumlah geliat

Kelompok Dosis	No. Hewan	Jumlah geliat				Jumlah
		t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	
CMC-Na	1	102	85	69	30	286
	2	107	89	61	38	295
	3	94	75	57	26	252
	4	98	80	55	35	268
	5	110	76	59	28	273
Rata-rata kumulatif geliat						274,8

Kelompok Dosis	No. Hewan	Jumlah geliat				Jumlah
		t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	
Asam mefenamat	1	32	27	19	12	90
	2	41	29	16	8	94
	3	45	31	22	9	107
	4	29	19	17	4	69
	5	36	28	16	6	86
Rata-rata kumulatif geliat						89,2

Kelompok Dosis	No. Hewan	Jumlah geliat				Jumlah
		t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	
Dosis 77 mg/20g BB	1	88	71	52	30	241
	2	73	54	49	19	195
	3	90	78	67	38	273
	4	68	43	26	15	152
	5	76	55	38	20	189
Rata-rata kumulatif geliat						210

Kelompok Dosis	No. Hewan	Jumlah geliat				Jumlah
		t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	
Dosis 154 mg/20g BB	1	76	58	32	25	191
	2	60	46	21	18	145
	3	82	71	50	28	231
	4	63	52	38	21	174
	5	57	39	24	16	136
Rata-rata kumulatif geliat						175,4

Kelompok Dosis	No. Hewan	Jumlah geliat				Jumlah
		t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	
Dosis 308 mg/20g BB	1	57	45	30	21	153
	2	53	38	26	14	131
	3	49	36	22	12	119
	4	37	21	16	8	82
	5	41	33	20	10	104
Rata-rata kumulatif geliat						117,8

Lampiran 18. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN)

$$\text{PHN} = \frac{T_2 - T_1}{T_1} \times 100\%$$

PHN tramadol 50 mg/kg

- $t_{30} = \frac{11,04 - 6,552}{6,552} \times 100\% = 68,49\%$
- $t_{60} = \frac{12,342 - 5,94}{5,94} \times 100\% = 107,78\%$
- $t_{90} = \frac{12,676 - 6,238}{6,238} \times 100\% = 103,21\%$
- $t_{120} = \frac{12,856 - 5,868}{5,868} \times 100\% = 119,09\%$

PHN dosis 77 mg/20 g BB

- $t_{30} = \frac{10,228 - 6,552}{6,552} \times 100\% = 56,12\%$
- $t_{60} = \frac{10,544 - 5,94}{5,94} \times 100\% = 77,51\%$
- $t_{90} = \frac{9,63 - 6,238}{6,238} \times 100\% = 54,38\%$
- $t_{120} = \frac{8,616 - 5,868}{5,868} \times 100\% = 46,83\%$

PHN dosis 154 mg/20 g BB

- $t_{30} = \frac{10,028 - 6,552}{6,552} \times 100\% = 53,05\%$
- $t_{60} = \frac{10,344 - 5,94}{5,94} \times 100\% = 74,14\%$
- $t_{90} = \frac{10,43 - 6,238}{6,238} \times 100\% = 67,20\%$
- $t_{120} = \frac{10,016 - 5,868}{5,868} \times 100\% = 70,69\%$

PHN dosis 308 mg/20 g BB

- $t_{30} = \frac{10,762 - 6,552}{6,552} \times 100\% = 64,26\%$
- $t_{60} = \frac{11,194 - 5,94}{5,94} \times 100\% = 88,45\%$
- $t_{90} = \frac{11,318 - 6,238}{6,238} \times 100\% = 81,44\%$
- $t_{120} = \frac{11,474 - 5,868}{5,868} \times 100\% = 95,54\%$

Lampiran 19. Perhitungan Persen Proteksi

Persen Proteksi = $100 - [P/K \times 100] \%$

P = Jumlah geliat kelompok perlakuan

K = Jumlah geliat kelompok kontrol

1. Asam mefenamat $= 100 - \left[\frac{89,2}{274,8} \times 100 \right] \% = 67,54 \%$
2. Dosis 77 mg/20g BB $= 100 - \left[\frac{210}{274,8} \times 100 \right] \% = 23,58 \%$
3. Dosis 154 mg/20g BB $= 100 - \left[\frac{175,4}{274,8} \times 100 \right] \% = 36,17 \%$
4. Dosis 308 mg/20g BB $= 100 - \left[\frac{117,8}{274,8} \times 100 \right] \% = 57,13 \%$

Lampiran 20. Hasil uji statistik berdasarkan waktu reaksi (detik)

- Waktu reaksi t_{30}

Npar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Waktu reaksi
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.5704
	Std. Deviation	3.02426
Most Extreme Differences	Absolute	.139
	Positive	.139
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.697
Asymp. Sig. (2-tailed)		.716

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data waktu reaksi menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,716 ($p > 0,05$).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Waktu reaksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.981	4	20	.002

Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$), artinya varians tidak homogen.

ANOVA

Waktu reaksi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.549	4	16.137	2.083	.121
Within Groups	154.958	20	7.748		
Total	219.508	24			

Hasil uji *Anova* menunjukkan tidak terdapat perbedaan dengan nilai signifikansi sebesar 0,121 ($p > 0,05$).

- Waktu reaksi t_{60}

Npar Tests

		Waktu reaksi
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.8896
	Std. Deviation	2.90925
Most Extreme Differences	Absolute	.089
	Positive	.089
	Negative	-.075
Kolmogorov-Smirnov Z		.443
Asymp. Sig. (2-tailed)		.989

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data waktu reaksi menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,989 ($p > 0,05$).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Waktu reaksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.794	4	20	.543

Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi 0,543 ($p > 0,05$), artinya varians homogen.

ANOVA

Waktu reaksi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	117.950	4	29.487	6.924	.001
Within Groups	85.179	20	4.259		
Total	203.129	24			

Hasil uji *Anova* menunjukkan terdapat perbedaan dengan nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$).

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Waktu reaksi

Tukey HSD

(I) Perlakuan t60 (J) Perlakuan t60		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif (CMC)	Kontrol Positif (Tramadol)	-6.40200*	1.30522	.001	-10.3077	-2.4963
	Dosis 77 mg/20 g BB	-4.40400*	1.30522	.022	-8.3097	-.4983
	Dosis 154 mg/20 g BB	-3.68800	1.30522	.070	-7.5937	.2177
	Dosis 308 mg/20 g BB	-5.25400*	1.30522	.005	-9.1597	-1.3483
Kontrol Positif (Tramadol)	Kontrol negatif (CMC)	6.40200*	1.30522	.001	2.4963	10.3077
	Dosis 77 mg/20 g BB	1.99800	1.30522	.556	-1.9077	5.9037
	Dosis 154 mg/20 g BB	2.71400	1.30522	.267	-1.1917	6.6197
	Dosis 308 mg/20 g BB	1.14800	1.30522	.901	-2.7577	5.0537
Dosis 77 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	4.40400*	1.30522	.022	.4983	8.3097
	Kontrol Positif (Tramadol)	-1.99800	1.30522	.556	-5.9037	1.9077
	Dosis 154 mg/20 g BB	.71600	1.30522	.981	-3.1897	4.6217
	Dosis 308 mg/20 g BB	-.85000	1.30522	.964	-4.7557	3.0557
Dosis 154 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	3.68800	1.30522	.070	-.2177	7.5937
	Kontrol Positif (Tramadol)	-2.71400	1.30522	.267	-6.6197	1.1917
	Dosis 77 mg/20 g BB	-.71600	1.30522	.981	-4.6217	3.1897
	Dosis 308 mg/20 g BB	-1.56600	1.30522	.751	-5.4717	2.3397
Dosis 308 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	5.25400*	1.30522	.005	1.3483	9.1597
	Kontrol Positif (Tramadol)	-1.14800	1.30522	.901	-5.0537	2.7577
	Dosis 77 mg/20 g BB	.85000	1.30522	.964	-3.0557	4.7557
	Dosis 154 mg/20 g BB	1.56600	1.30522	.751	-2.3397	5.4717

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

1. Kelompok kontrol negatif CMC Na berbeda signifikan dengan kontrol positif tramadol, dosis 77 mg/20 g BB dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.
2. Kelompok kontrol positif tramadol berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara dosis 77 mg/20 g BB, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
3. Kelompok ekstrak dosis 77 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB dan 308 mg/20 g BB.
4. Kelompok ekstrak dosis 154 mg/20 g BB tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol negatif CMC Na, kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
5. Kelompok ekstrak dosis 308 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.

Homogeneous Subsets

Waktu reaksi

Tukey HSD^a

Perlakuan t60	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol negatif (CMC)	5	5.9400	
Dosis 154 mg/20 g BB	5	9.6280	9.6280
Dosis 77 mg/20 g BB	5		10.3440
Dosis 308 mg/20 g BB	5		11.1940
Kontrol Positif (Tramadol)	5		12.3420
Sig.		.070	.267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

- Waktu reaksi t_{90}

Npar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Waktu reaksi
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.2484
	Std. Deviation	2.84914
Most Extreme Differences	Absolute	.097
	Positive	.080
	Negative	-.097
Kolmogorov-Smirnov Z		.485
Asymp. Sig. (2-tailed)		.973

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data waktu reaksi menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,973 ($p > 0,05$).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Waktu reaksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.068	4	20	.398

Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi 0,398 ($p > 0,05$), artinya varians homogen.

ANOVA

Waktu reaksi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	116.318	4	29.079	7.408	.001
Within Groups	78.504	20	3.925		
Total	194.822	24			

Hasil uji *Anova* menunjukkan terdapat perbedaan dengan nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$).

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Waktu reaksi

Tukey HSD

(I) Perlakuan t90 (J) Perlakuan t90		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif (CMC)	Kontrol Positif (Tramadol)	-6.43800*	1.25303	.000	-10.1875	-2.6885
	Dosis 77 mg/20 g BB	-4.19200*	1.25303	.024	-7.9415	-.4425
	Dosis 154 mg/20 g BB	-4.34200*	1.25303	.018	-8.0915	-.5925
	Dosis 308 mg/20 g BB	-5.08000*	1.25303	.005	-8.8295	-1.3305
Kontrol Positif (Tramadol)	Kontrol negatif (CMC)	6.43800*	1.25303	.000	2.6885	10.1875
	Dosis 77 mg/20 g BB	2.24600	1.25303	.405	-1.5035	5.9955
	Dosis 154 mg/20 g BB	2.09600	1.25303	.472	-1.6535	5.8455
	Dosis 308 mg/20 g BB	1.35800	1.25303	.813	-2.3915	5.1075
Dosis 77 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	4.19200*	1.25303	.024	.4425	7.9415
	Kontrol Positif (Tramadol)	-2.24600	1.25303	.405	-5.9955	1.5035
	Dosis 154 mg/20 g BB	-.15000	1.25303	1.000	-3.8995	3.5995
	Dosis 308 mg/20 g BB	-.88800	1.25303	.952	-4.6375	2.8615
Dosis 154 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	4.34200*	1.25303	.018	.5925	8.0915
	Kontrol Positif (Tramadol)	-2.09600	1.25303	.472	-5.8455	1.6535
	Dosis 77 mg/20 g BB	.15000	1.25303	1.000	-3.5995	3.8995
	Dosis 308 mg/20 g BB	-.73800	1.25303	.975	-4.4875	3.0115
Dosis 308 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	5.08000*	1.25303	.005	1.3305	8.8295
	Kontrol Positif (Tramadol)	-1.35800	1.25303	.813	-5.1075	2.3915
	Dosis 77 mg/20 g BB	.88800	1.25303	.952	-2.8615	4.6375
	Dosis 154 mg/20 g BB	.73800	1.25303	.975	-3.0115	4.4875

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

1. Kelompok kontrol negatif CMC Na berbeda signifikan dengan kontrol positif tramadol, dosis 77 mg/20 g BB, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
2. Kelompok kontrol positif tramadol berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara dosis 77 mg/20 g BB, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
3. Kelompok ekstrak dosis 77 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB dan 308 mg/20 g BB.
4. Kelompok ekstrak dosis 154 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB dan 308 mg/20 g BB.
5. Kelompok ekstrak dosis 308 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.

Homogeneous Subsets

Waktu reaksi

Tukey HSD^a

Perlakuan t90	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol negatif (CMC)	5	6.2380	
Dosis 77 mg/20 g BB	5		10.4300
Dosis 154 mg/20 g BB	5		10.5800
Dosis 308 mg/20 g BB	5		11.3180
Kontrol Positif (Tramadol)	5		12.6760
Sig.		1.000	.405

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

- Waktu reaksi t_{120}

Npar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Waktu reaksi
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10.1208
	Std. Deviation	2.88371
Most Extreme Differences	Absolute	.126
	Positive	.098
	Negative	-.126
Kolmogorov-Smirnov Z		.629
Asymp. Sig. (2-tailed)		.823

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data waktu reaksi menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,823 ($p > 0,05$).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Waktu reaksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.316	4	20	.031

Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi 0,031 ($p < 0,05$), artinya varians tidak homogen.

ANOVA

Waktu reaksi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	137.411	4	34.353	11.052	.000
Within Groups	62.168	20	3.108		
Total	199.579	24			

Hasil uji *Anova* menunjukkan terdapat perbedaan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Waktu reaksi

Dunnett T3

(I) Perlakuan t120 (J) Perlakuan t120		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif (CMC)	Kontrol Positif (Tramadol)	-6.98800*	.76840	.001	-10.0300	-3.9460
	Dosis 77 mg/20 g BB	-4.14800*	.70358	.006	-6.8674	-1.4286
	Dosis 154 mg/20 g BB	-4.52200	1.28170	.112	-10.1949	1.1509
	Dosis 308 mg/20 g BB	-5.60600*	.88885	.007	-9.2615	-1.9505
Kontrol Positif (Tramadol)	Kontrol negatif (CMC)	6.98800*	.76840	.001	3.9460	10.0300
	Dosis 77 mg/20 g BB	2.84000	.90122	.102	-.4709	6.1509
	Dosis 154 mg/20 g BB	2.46600	1.39998	.600	-3.0759	8.0079
	Dosis 308 mg/20 g BB	1.38200	1.05225	.846	-2.5034	5.2674
Dosis 77 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	4.14800*	.70358	.006	1.4286	6.8674
	Kontrol Positif (Tramadol)	-2.84000	.90122	.102	-6.1509	.4709
	Dosis 154 mg/20 g BB	-.37400	1.36547	1.000	-5.9149	5.1669
	Dosis 308 mg/20 g BB	-1.45800	1.00589	.775	-5.2256	2.3096
Dosis 154 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	4.52200	1.28170	.112	-1.1509	10.1949
	Kontrol Positif (Tramadol)	-2.46600	1.39998	.600	-8.0079	3.0759
	Dosis 77 mg/20 g BB	.37400	1.36547	1.000	-5.1669	5.9149
	Dosis 308 mg/20 g BB	-1.08400	1.46954	.993	-6.6952	4.5272
Dosis 308 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	5.60600*	.88885	.007	1.9505	9.2615
	Kontrol Positif (Tramadol)	-1.38200	1.05225	.846	-5.2674	2.5034
	Dosis 77 mg/20 g BB	1.45800	1.00589	.775	-2.3096	5.2256
	Dosis 154 mg/20 g BB	1.08400	1.46954	.993	-4.5272	6.6952

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

1. Kelompok kontrol negatif CMC Na berbeda signifikan dengan kontrol positif tramadol, dosis 77 mg/20 g BB dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.
2. Kelompok kontrol positif tramadol berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara dosis 77 mg/20 g BB, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
3. Kelompok ekstrak dosis 77 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB dan 308 mg/20 g BB.
4. Kelompok ekstrak dosis 154 mg/20 g BB tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol negatif CMC Na, kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
5. Kelompok ekstrak dosis 308 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.

Lampiran 21. Hasil uji statistik berdasarkan jumlah kumulatif geliat

Npar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			Jumlah Geliat
N			25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean		173.44
	Std. Deviation		73.188
Most Extreme Differences	Absolute		.130
	Positive		.130
	Negative		-.104
Kolmogorov-Smirnov Z			.650
Asymp. Sig. (2-tailed)			.792

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh data waktu reaksi menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,792 ($p > 0,05$).

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Geliat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.585	4	20	.068

Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi 0,068 ($p > 0,05$), artinya varians tidak homogen.

ANOVA

Jumlah Geliat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	109032.560	4	27258.140	27.926	.000
Within Groups	19521.600	20	976.080		
Total	128554.160	24			

Hasil uji *Anova* menunjukkan terdapat perbedaan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Jumlah Geliat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif (CMC)	Kontrol positif (Asam mefenamat)	185.600*	19.759	.000	126.47	244.73
	Dosis 77 mg/20 g BB	64.800*	19.759	.027	5.67	123.93
	Dosis 154 mg/20 g BB	99.400*	19.759	.001	40.27	158.53
	Dosis 308 mg/20 g BB	157.000*	19.759	.000	97.87	216.13
Kontrol positif (Asam mefenamat)	Kontrol negatif (CMC)	-185.600*	19.759	.000	-244.73	-126.47
	Dosis 77 mg/20 g BB	-120.800*	19.759	.000	-179.93	-61.67
	Dosis 154 mg/20 g BB	-86.200*	19.759	.002	-145.33	-27.07
	Dosis 308 mg/20 g BB	-28.600	19.759	.606	-87.73	30.53
Dosis 77 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	-64.800*	19.759	.027	-123.93	-5.67
	Kontrol positif (Asam mefenamat)	120.800*	19.759	.000	61.67	179.93
	Dosis 154 mg/20 g BB	34.600	19.759	.427	-24.53	93.73
	Dosis 308 mg/20 g BB	92.200*	19.759	.001	33.07	151.33
Dosis 154 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	-99.400*	19.759	.001	-158.53	-40.27
	Kontrol positif (Asam mefenamat)	86.200*	19.759	.002	27.07	145.33
	Dosis 77 mg/20 g BB	-34.600	19.759	.427	-93.73	24.53
	Dosis 308 mg/20 g BB	57.600	19.759	.059	-1.53	116.73
Dosis 308 mg/20 g BB	Kontrol negatif (CMC)	-157.000*	19.759	.000	-216.13	-97.87
	Kontrol positif (Asam mefenamat)	28.600	19.759	.606	-30.53	87.73

Dosis 77 mg/20 g BB	-92.200*	19.759	.001	-151.33	-33.07
Dosis 154 mg/20 g BB	-57.600	19.759	.059	-116.73	1.53

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

1. Kelompok kontrol negatif CMC Na berbeda signifikan dengan kontrol positif asam mefenamat, dosis 77 mg/20 g BB, dosis ekstrak 154 mg/20 g BB dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
2. Kelompok kontrol positif asam mefenamat berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na, dosis 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 154 mg/20 g BB. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
3. Kelompok ekstrak dosis 77 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na, kontrol positif asam mefenamat, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.
4. Kelompok ekstrak dosis 154 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na dan kontrol positif asam mefenamat. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara dosis ekstrak 77 mg/20 g BB, dan dosis ekstrak 308 mg/20 g BB.
5. Kelompok ekstrak dosis 308 mg/20 g BB berbeda signifikan dengan kontrol negatif CMC Na dan dosis ekstrak 77 mg/20 g BB. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif tramadol, dan dosis ekstrak 154 mg/20 g BB.

Homogeneous Subsets

Jumlah Geliat

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol positif (Asam mefenamat)	5	89.20			
Dosis 308 mg/20 g BB	5	117.80	117.80		
Dosis 154 mg/20 g BB	5		175.40	175.40	
Dosis 77 mg/20 g BB	5			210.00	
Kontrol negatif (CMC)	5				274.80
Sig.		.606	.059	.427	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.