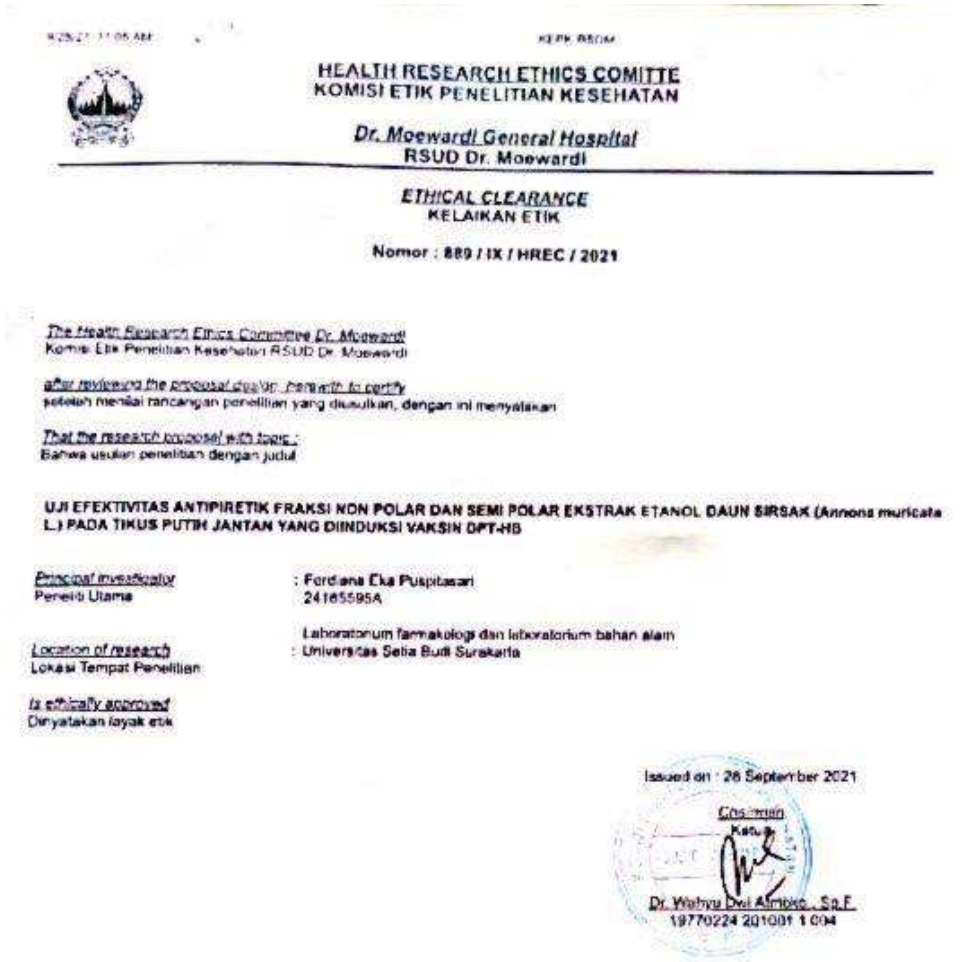
Lampiran 1. Surat Keterangan *Ethical Clearence*



HEALTH RESEARCH ETHICS COMITTE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 889 / IX / HREC / 2021

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi
Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi

after reviewing the proposal submitted herewith to certify
setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

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

UJI EFEKTIVITAS ANTIPIRETIK FRAKSI NON POLAR DAN SEMI POLAR EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI VAKSIN DPT-HB

Principal investigator
Peneliti Utama : Ferdiana Eka Puspitasari
24165595A

Location of research
Lokasi Tempat Penelitian : Laboratorium farmakologi dan laboratorium bahan alam
Universitas Setia Budi Surakarta

Is ethically approved
Dinyatakan layak etik

Issued on : 28 September 2021
Ketua

Dr. Wahyu Dwi Astuto , Sp.F
19770224 201001 1 004

Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi sirsak

KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
Jalan Lawu No.11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah 57792
Telepon (0271) 697 010 Faksimile (0271) 697 451
Laman b2p2toot.litbang.kemkes.go.id Surat Elektronik b2p2toot@litbang.kemkes.go.id

Nomor : KM.04.02/2/2789/2021 07 Desember 2021
Lampiran : -
Hal : Keterangan Determinasi

Yth. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Jalan Letjend. Sutoyo Solo 57127

Merujuk surat Saudara nomor: 485/H6-04/14.09.2021 tanggal 14 September 2021 hal permohonan determinasi, dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

Nama Pemohon	: Fordiana Eka Puspitasari
Nama Sampel	: Sirsak
Sampel	: Segar
Spesies	: *Annona muricata* L.
Sinonim	: *Annona macrocarpa* Wercklé
Familia	: Annonaceae
Penanggung Jawab	: Nur Rahmawati Wijaya, S.Si.

Hasil determinasi tersebut hanya mencakup sampel tanaman yang telah dikirimkan ke B2P2TOOT.

Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.

Kepala Balai Besar Penelitian
dan Pengembangan Tanaman Obat
dan Obat Tradisional
Tawangmangu,

Akhmad Saikhu, S.K.M., M.Sc.PH.

Tembusan :
-

Dokumen ini ditandatangani secara elektronik melalui Aplikasi TTE/E-meterai menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan oleh BSrE. (1/1)

Lampiran 3. Surat bukti pembelian hewan uji

"ABIMANYU FARM"
√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
√ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand
Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:
Nama : Sigit Pramono

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

Nama	: Fordiana Eka Puspitasari
NIM	: 24185595A
Institusi	: Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan	: Tikus Wistar
Umur	: 2-3 bulan
Jumlah	: 20 ekor
Jenis kelamin	: Jantan
Keterangan	: Sehat
Asal-usul	: Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 23 Desember 2021
Hormat kami

Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 4. Gambar alat dan bahan

Daun sirsak segar

Serbuk daun sirsak

Rotatory evaporator

Alat *moisture analyzer*

Rangkaian alat S*terling-Bidwell*

Termometer digital

Etil asetat

n-heksan

Toluen

Ekstrak daun sirsak

Fraksi *n*-heksan

Fraksi etil asetat

Sediaan uji

Ethanol 96%

Hewan uji

Parasetamol

Timbangan analitik

Lampiran 5. Pengelolaan simplisia daun sirsak

Pemanenan dan sortasi basah

Pencucian

Perajangan

Pengeringan

Sortasi kering

Penggilingan

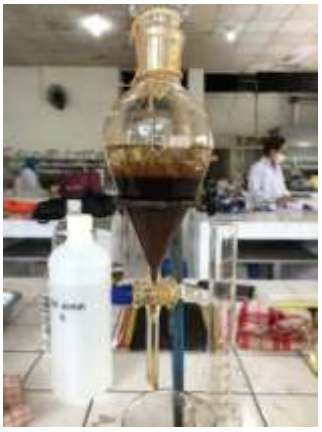
Pengayakan

Serbuk halus

Proses Maserasi

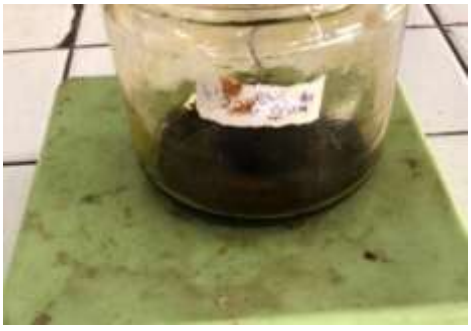
Pemekatan dengan *rotary evaporator*

Ekstrak daun sirsak



Proses Fraksinasi

Fraksi *n*-heksan



Fraksi etil asetat

Lampiran 6. Perhitungan rendemen daun sirsak

1. Rendemen daun kering terhadap daun basah

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\ \%$$

$$= \frac{5100\ \text{gram}}{9000\ \text{gram}} \times 100\ \%$$

= 56,67 % b/b

2. Rendemen serbuk terhadap daun kering

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat serbuk}}{\text{Berat kering}} \times 100\ \%$$

$$= \frac{3300\ \text{gram}}{5100\ \text{gram}} \times 100\ \%$$

= 64,71 % b/b

3. Rendemen ekstrak terhadap serbuk kering

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\ \%$$

$$= \frac{159\ \text{gram}}{1000\ \text{gram}} \times 100\ \%$$

= 15,9 % b/b

Lampiran 7. Uji susut pengeringan

Penimbangan uji susut pengeringan

Hasil uji susut pengeringan replikasi I

Hasil uji susut pengeringan replikasi II

Hasil uji susut pengeringan replikasi III

Lampiran 8. Kadar air simplisia metode *sterling-bidwell*

Rangkaian alat uji kadar air metode destilasi

Replikasi I

Replikasi II

Replikasi III

Lampiran 9. Perhitungan kadar air serbuk daun sirsak

Bobot serbuk (gram)	Volume terbaca (ml)	Kadar (% b/v)
20,143	1,8	8,9%
20,128	1,5	7,4%
20,132	1,9	9,4%
Rata - rata		8,5

Persentase kadar air sampel 1 $= \frac{\text{volume terbaca (ml)}}{\text{bobot serbuk awal (gram)}}$ x 100%

$= \frac{1{,}8 \text{ ml}}{20{,}143 \text{ gram}}$ x 100%

= 8,9% b/v

Persentase kadar air sampel 2 $= \frac{\text{volume terbaca (ml)}}{\text{bobot serbuk awal (gram)}}$ x 100%

$= \frac{1{,}5 \text{ ml}}{20{,}128 \text{ gram}}$ x 100%

= 7,4% b/v

Persentase kadar air sampel 3 $= \frac{\text{volume terbaca (ml)}}{\text{bobot serbuk awal (gram)}}$ x 100%

$= \frac{1{,}9 \text{ ml}}{20{,}132 \text{ gram}}$ x 100%

= 9,4% b/v

Persentase rata-rata kelembapan $= \frac{8{,}9\% + 8{,}4\% + 9{,}4\%}{3}$

= 8,9% b/v

Lampiran 10. Foto kadar ekstrak etanol daun sirsak metode gravimetri

Pemanasan dalam oven metode gravimetri

Desikator

Lampiran 11. Perhitungan kadar ekstrak etanol daun sirsak metode gravimetri

Kadar air ekstrak metode gravimetri

$$\%\ \text{kadar air} = \frac{\textit{bobot bahan awal sebelum dikeringkan} - \textit{bobot bahan setelah dikeringkan}}{\textit{bobot bahan awal sebelum dikeringkan}}\ x\ 100\ \%$$

Replikasi I $= \frac{7{,}1305\ g - 6{,}4918\ g}{7{,}2305\ g}\ x\ 100\ \%$

$= 8{,}83\%$

Replikasi II $= \frac{6{,}9872\ g - 6{,}4918\ g}{6{,}4918\ g}\ x\ 100\ \%$

$= 7{,}63\%$

Replikasi III $= \frac{7{,}0566\ g - 6{,}4918\ g}{7{,}0566\ g}\ x\ 100\ \%$

$= 8{,}62\%$

Rata-rata % kadar air $= \frac{8{,}83\% + 7{,}63\% + 8{,}62\%}{3}$

$= 8{,}36\%$

Lampiran 12. Foto hasil uji bebas etanol

Hasil uji bebas etanol
(Tidak tercium aroma ester dari etil asetat yang khas)

Lampiran 13. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun sirsak

Alkaloid pereaksi mayer

Alkaloid pereaksi wagner

Alkaloid pereaksi dragendroff

Flavonoid

Saponin

Steroid

Tanin

Lampiran 14. Perhitungan uji KLT

Rf pembanding kuersetin

$$Rf = \frac{jarak\ tempuh\ sampel}{jarak\ tempuh\ eluen} = \frac{3,3}{6} = 0,55$$

Rf sampel fraksi *n*-heksan

$$Rf = \frac{jarak\ tempuh\ sampel}{jarak\ tempuh\ eluen} = \frac{5,7}{6} = 0,95$$

Rf sampel etil asetat

$$Rf_1 = \frac{jarak\ tempuh\ sampel}{jarak\ tempuh\ eluen} = \frac{3}{6} = 0,5$$

$$Rf_2 = \frac{jarak\ tempuh\ sampel}{jarak\ tempuh\ eluen} = \frac{5,3}{6} = 0,83$$

Lampiran 15. Perhitungan dosis dan penimbangan larutan stok

1. Control negative (CMC Na 1%)

   Menimbang 1000 mg CMC Na dilarutkan dalam aquadest panas sampai 100 ml aduk sampai homogen. Volume pemberian pada tikus 0,5 ml.

2. Control positif (Paracetamol 1%)

Dosis paracetamol = 500 mg/kg BB manusia
Faktor konversi manusia ke tikus 200 gram = 0,018
Dosis untuk tikus = 500 mg/kg BB manusia x 0,018
= 9 mg/200 gram BB tikus
Larutan stok 1% = 1000 mg / 100 ml
= 100 mg / 10 ml

Menimbang 1 gram CMC Na lalu larutkan kedalam air suling ad 100 ml. Menimbang 1 gram paracetamol, lalu larutkan kedalam larutan CMC Na ad 100 ml. Volume pemberian untuk masing-masing hewan uji sebagai berikut:

- Replikasi I 190 g BB Tikus $= \frac{190\ g}{200\ g}\ x\ 9\ mg$
  = 8,55 mg / 190 g BB tikus
  Volume pemberian $= \frac{8,55\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  = 0,855 ml/190 g BB tikus
- Replikasi II 200 g BB Tikus $= \frac{200\ g}{200\ g}\ x\ 9\ mg$
  = 9 mg / 200 g BB tikus
  Volume pemberian $= \frac{9\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  = 0,9 ml/200 g BB tikus

- Replikasi III 200 g BB Tikus $= \frac{200\ g}{200\ g}\ x\ 9\ mg$
  $= 9$ mg / 200 g BB tikus
  Volume pemberian $= \frac{200\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}9$ ml/200 g BB tikus
- Replikasi IV 190 g BB Tikus $= \frac{190\ g}{200\ g}\ x\ 9\ mg$
  $= 8{,}55$ mg / 190 g BB tikus
  Volume pemberian $= \frac{8{,}55\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}855$ ml/190 g BB tikus
- Replikasi V 180 g BB Tikus $= \frac{180\ g}{200\ g}\ x\ 9\ mg$
  $= 8{,}1$ mg / 180 g BB tikus
  Volume pemberian $= \frac{8{,}1\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}81$ ml/180 g BB tikus

3. Induksi pepton 5%

   Menimbang sebanyak 5 gram pepton lalu dilarutkan dalam 100 ml aqua pro injeksi sedikit demi sedikit hingga homogen, lalu tambahkan aqua pro injeksi hingga 100 ml. Menginduksi pepton dengan dosis 5% dengan volume pemberian 1 ml/tikus.

4. Kelompok fraksi *n*-heksan

   Rendemen Fraksi $= \frac{Fraksi\ yang\ diperoleh}{ekstrak\ yang\ diperoleh}\ x\ 100\ \%$
   $= \frac{1\ g}{30\ g}\ x\ 100\ \%$
   $= 3{,}3\ \%$
   Dosis Fraksi = Rendemen fraksi x dosis ekstrak
   $= \frac{3{,}3}{100}$x 400 mg/kg BB tikus
   $= 13{,}3$ mg / kg BB tikus

   - Replikasi I 190 gram BB Tikus $= \frac{190\ g}{1000\ g}\ x\ 13{,}3\ mg$
     $= 2{,}53$ mg/190 g BB tikus
     Volume Pemberian $= \frac{2{,}53\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
     $= 0{,}253$ ml/170 g BB tikus
   - Replikasi II 200 g BB tikus $= \frac{200\ g}{1000\ g}\ x\ 13{,}3\ mg$
     $= 2{,}66$ mg/200 g BB tikus
     Volume Pemberian $= \frac{2{,}66\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
     $= 0{,}266$ ml/200 g BB tikus

- Replikasi III 200 g BB tikus $= \frac{200\ g}{1000\ g}\ x\ 240\ mg$
  $= 2{,}66$ mg/200 g BB tikus

  Volume Pemberian $= \frac{2{,}66\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}266$ ml/200 g BB tikus
- Replikasi IV 190 g BB tikus $= \frac{190\ g}{1000\ g}\ x\ 13{,}3\ mg$
  $= 2{,}53$ mg/190 g BB tikus

  Volume Pemberian $= \frac{2{,}53\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}53$ ml/190 g BB tikus
- Replikasi V 180 g BB tikus $= \frac{180\ g}{1000\ g}\ x\ 13{,}3\ mg$
  $= 2{,}39$ mg/180 g BB tikus

  Volume Pemberian $= \frac{2{,}39\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
  $= 0{,}239$ ml/180 g BB tikus

5. Kelompok fraksi etil asetat

   Rendemen Fraksi $= \frac{Fraksi\ yang\ diperoleh}{ekstrak\ yang\ diperoleh}\ x\ 100\ \%$
   $= \frac{9\ g}{30\ g}\ x\ 100\ \%$
   $= 30\ \%$

   Dosis Fraksi = Rendemen fraksi x dosis ekstrak
   $= \frac{30}{100}$x 400 mg/kg BB tikus
   = 120 mg / kg BB tikus

   - Replikasi I 190 gram BB Tikus $= \frac{190\ g}{1000\ g}\ x\ 120\ mg$
     $= 22{,}8$ mg/190 g BB tikus

     Volume Pemberian $= \frac{22{,}8\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
     $= 2{,}28$ ml/170 g BB tikus
   - Replikasi II 200 g BB tikus $= \frac{200\ g}{1000\ g}\ x\ 120\ mg$
     $= 24$ mg/200 g BB tikus

     Volume Pemberian $= \frac{24\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$
     $= 2{,}4$ ml/200 g BB tikus
   - Replikasi III 200 g BB tikus $= \frac{200\ g}{1000\ g}\ x\ 120\ mg$
     $= 24$ mg/200 g BB tikus

     Volume Pemberian $= \frac{24\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$

= 2,4 ml/200 g BB tikus

- Replikasi IV 190 g BB tikus $= \frac{190\ g}{1000\ g}\ x\ 120\ mg$

  = 22,8 mg/190 g BB tikus

  Volume Pemberian $= \frac{22{,}8\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$

  = 2,28 ml/190 g BB tikus

- Replikasi V 180 g BB tikus $= \frac{180\ g}{1000\ g}\ x\ 120\ mg$

  = 21,6 mg/180 g BB tikus

  Volume Pemberian $= \frac{21{,}6\ mg}{10\ mg}\ x\ 1\ ml$

  = 2,16 ml/180 g BB tikus

Lampiran 16. Foto perlakuan hewan uji

Induksi pepton secara subkutan

Pengoralan

Pengoralan sediaan uji

Pengukuran suhu

Lampiran 17. Hasil pengukuran suhu tikus

Kelompok	Replikasi	T0	Tdemam	T 30'	T 60'	T90'	T120'
Kontrol negatif (CMC 1%)	1	36,6	37,6	37,9	38,1	38,3	38,5
	2	36,3	37,4	37,5	38,3	38,7	38,9
	3	36,2	37,2	37,3	38,1	38,4	38,8
	4	36,6	37,6	37,7	38,1	38,3	38,6
	5	36,5	37,1	37,7	38,5	38,8	38,9
Rata-rata		36,44	37,38	37,62	38,22	38,5	38,74
SD		0,18166	0,22804	0,22804	0,17889	0,23452	0,18166
Kontrol positif (paracetamol 1%)	1	36,7	38,2	37,4	36,9	36,6	36,4
	2	36,6	37,9	37,1	36,8	36,5	36,1
	3	36,9	37,8	37,4	36,8	35,7	35,2
	4	36,1	38,1	37	36,7	36	35,7
	5	36,5	37,6	37,4	36,6	36,4	36,2
Rata-rata		36,56	37,92	37,26	36,76	36,24	35,92
SD		0,29665	0,23875	0,19494	0,11402	0,37815	0,47645
Dosis fraksi n-heksan 13,3 mg/200 g BB	1	36,3	37,6	37,3	37	36,6	36,2
	2	36,6	37,8	37,4	37	36,7	36,5
	3	36,8	37,9	37,6	37,3	37,3	37,2
	4	36,1	38	37,5	37,1	36,6	36,4
	5	36,8	37,9	37,6	37,2	36,8	36,7
Rata-rata		36,52	37,84	37,48	37,12	36,8	36,6
SD		0,31145	0,15166	0,13038	0,13038	0,29155	0,38079
Dosis fraksi etil asetat 120 mg/200 g BB	1	36,7	37,6	37,3	37	36,6	36,2
	2	36,9	38	37,4	36,7	36,3	36
	3	36,3	37,1	36,8	36,7	36,4	36,2
	4	36,7	37,4	37	36,4	36,3	35,8
	5	36,1	37,2	36,8	36,5	36,3	36,2
Rata-rata		36,54	37,46	37,06	36,66	36,38	36,08
SD		0,32863	0,35777	0,27928	0,23022	0,13038	0,17889

Lampiran 18. Perhitungan AUC

1. Kontrol negative (CMC Na 1%)

Replikasi I

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,6 + 37,9}{2}$ (30 - 0) = 1132,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,9 + 38,1}{2}$ (60 – 30) = 1140

AUC_{60}^{90} = $\frac{38,1 + 38,3}{2}$ (90 - 60) = 1146

AUC_{90}^{120} = $\frac{38,3 + 38,5}{2}$ (120 - 90) = 1152

Total AUC = 4570,5

Replikasi II

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,4 + 37,5}{2}$ (30 - 0) = 1123,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,5 + 38,3}{2}$ (60 – 30) = 1137

AUC_{60}^{90} = $\frac{38,3 + 38,7}{2}$ (90 - 60) = 1155

AUC_{90}^{120} = $\frac{38,7 + 38,9}{2}$ (120 - 90) = 1164

Total AUC = 4579,5

Replikasi III

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,2 + 37,3}{2}$ (30 - 0) = 1117,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,3 + 38,1}{2}$ (60 – 30) = 1131

AUC_{60}^{90} = $\frac{38,1 + 38,4}{2}$ (90 - 60) = 1147,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{38,4 + 38,8}{2}$ (120 - 90) = 1158

Total AUC = 4554

Replikasi IV

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,6 + 37,7}{2}$ (30 - 0) = 1129,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,7 + 38,1}{2}$ (60 – 30) = 1137

AUC_{60}^{90} = $\frac{38,1 + 38,3}{2}$ (90 - 60) = 1146

AUC_{90}^{120} = $\frac{37,3 + 37,6}{2}$ (120 - 90) = 1161

Total AUC = 4573,5

Replikasi V

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,1 + 37,7}{2}$ (30 - 0) = 1122

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,7 + 38,5}{2}$ (60 – 30) = 1143

AUC_{60}^{90} = $\frac{38,5 + 38,8}{2}$ (90 - 60) = 1159,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{38,8 + 38,9}{2}$ (120 - 90) = 1165,5

Total AUC = 4590

2. Kontrol positif (paracetamol 45 mg/kg BB)

Replikasi I

AUC_{0}^{30} = $\frac{38,2 + 37,4}{2}$ (30 - 0) = 1134

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,4 + 36,9}{2}$ (60 – 30) = 1114.5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,9 + 36,6}{2}$ (90 - 60) = 1102,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,6 + 36,4}{2}$ (120 - 90) = 1095

Total AUC = 4446

Replikasi II

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,9 + 37,1}{2}$ (30 - 0) = 1125

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,1 + 36,8}{2}$ (60 – 30) = 1108,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,8 + 36,5}{2}$ (90 - 60) = 1099,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,5 + 36,1}{2}$ (120 - 90) = 1089

Total AUC = 4422

Replikasi III

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,8 + 37,4}{2}$ (30 - 0) = 1128

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,4 + 36,8}{2}$ (60 – 30) = 1113

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,8 + 35,7}{2}$ (90 - 60) = 1087,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{35,7 + 35,2}{2}$ (120 - 90) = 1063,5

Total AUC = 4392

Replikasi IV

AUC_{0}^{30} = $\frac{38,1 + 37,0}{2}$ (30 - 0) = 1126,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,0 + 36,7}{2}$ (60 – 30) = 1105,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,7 + 36,0}{2}$ (90 - 60) = 1092

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,0 + 35,7}{2}$ (120-90) = 1075,5

Total AUC = 4399,5

Replikasi V

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,6 + 37,4}{2}$ (30 - 0) = 1125

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,4 + 36,6}{2}$ (60 – 30) = 1110

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,6 + 36,4}{2}$ (90 - 60) = 1095

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,4 + 36,2}{2}$ (120 - 90) = 1089

Total AUC = 4419

3. Dosis fraksi *n*-heksan (13,3 mg/kg BB)

Replikasi I

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,6 + 37,3}{2}$ (30 - 0) = 1123,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,3 + 37,0}{2}$ (60–30) = 1114,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,0 + 36,6}{2}$ (90 - 60) = 1104

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,6 + 36,2}{2}$ (120 - 90) = 1092

Total AUC = 4434

Replikasi II

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,8 + 37,4}{2}$ (30 - 0) = 1128

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,4 + 37,0}{2}$ (60 – 30) = 1116

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,0 + 36,7}{2}$ (90 - 60) = 1105,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,7 + 36,5}{2}$ (120 - 90) = 1098

Total AUC = 4447,5

Replikasi III

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,9 + 37,6}{2}$ (30 - 0) = 1132,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,6 + 37,3}{2}$ (60 – 30) = 1123,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,3 + 37,3}{2}$ (90 - 60) = 1119

AUC_{90}^{120} = $\frac{37,3 + 37,2}{2}$ (120 - 90) = 1117,5

Total AUC = 4492,5

Replikasi IV

AUC_{0}^{30} = $\frac{38,0+37,5}{2}$ (30 - 0) = 1132,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,5+37,1}{2}$ (60 – 30) = 1119

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,1+36,6}{2}$ (90 - 60) = 1105,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,6+36,4}{2}$ (120 - 90) = 1095

Total AUC = 4452

Replikasi V

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,9+37,6}{2}$ (30 - 0) = 1132,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,6+37,2}{2}$ (60 – 30) = 1122

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,2+36,8}{2}$ (90 - 60) = 1110

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,8+36,7}{2}$ (120 - 90) = 1102,5

Total AUC = 4467

4. Dosis fraksi etil asetat (120 mg/kg BB)

Replikasi I

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,6+37,3}{2}$ (30 - 0) = 1128

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,3+37,0}{2}$ (60 – 30) = 1114,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{37,0+36,6}{2}$ (90 - 60) = 1104

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,6+36,2}{2}$ (120 - 90) = 1092

Total AUC = 4438,5

Replikasi II

AUC_{0}^{30} = $\frac{38,0+37,4}{2}$ (30 - 0) = 1131

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,4+36,7}{2}$ (60 – 30) = 1111,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,7+36,3}{2}$ (90 - 60) = 1095

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,3+36,0}{2}$ (120 - 90) = 1084,5

Total AUC = 4419

Replikasi III

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,1 + 36,8}{2}$ (30 - 0) = 1108,5

AUC_{30}^{60} = $\frac{36,8 + 36,7}{2}$ (60 – 30) = 1102,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,7 + 36,4}{2}$ (90 - 60) = 1096,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,4 + 36,2}{2}$ (120 - 90) = 1089

Total AUC = 4396,5

Replikasi IV

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,4 + 37,0}{2}$ (30 - 0) = 1125

AUC_{30}^{60} = $\frac{37,0 + 36,4}{2}$ (60 – 30) = 1113

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,4 + 36,3}{2}$ (90 - 60) = 1090,5

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,3 + 35,8}{2}$ (120 - 90) = 1081,5

Total AUC = 4410

Replikasi V

AUC_{0}^{30} = $\frac{37,2 + 36,8}{2}$ (30 - 0) = 1110

AUC_{30}^{60} = $\frac{36,8 + 36,5}{2}$ (60 – 30) = 1099,5

AUC_{60}^{90} = $\frac{36,5 + 36,3}{2}$ (90 - 60) = 1092

AUC_{90}^{120} = $\frac{36,3 + 36,2}{2}$ (120 - 90) = 1087,5

Total AUC = 4389

Lampiran 19. Rata-rata AUC daya antipiretik

Kelompok	Replikasi	AUC_0^{30}	AUC_{30}^{60}	AUC_{60}^{90}	AUC_{90}^{120}	Total AUC
Kontrol negatif (CMC 1%)	1	1132,5	1140	1146	1152	4570,5
	2	1123,5	1137	1155	1164	4579,5
	3	1117,5	1131	1147,5	1158	4554
	4	1129,5	1137	1146	1161	4573,5
	5	1122	1143	1159,5	1165,5	4590
Rata-rata						4573,5
SD						13,20511
Kontrol positif (paracetamol 1%)	1	1134	1114,5	1102,5	1095	4446
	2	1125	1108,5	1099,5	1089	4422
	3	1128	1113	1087,5	1063,5	4392
	4	1126,5	1105,5	1092	1075,5	4399,5
	5	1125	1110	1095	1089	4419
Rata-rata						4415,7
SD						21,17073
Dosis fraksi n-heksan 13,3 mg/200 g BB	1	1123,5	1114,5	1104	1092	4434
	2	1128	1116	1105,5	1098	4447,5
	3	1132,5	1123,5	1119	1117,5	4492,5
	4	1132,5	1119	1105,5	1095	4452
	5	1132,5	1122	1110	1102,5	4467
Rata-rata						4458,6
SD						22,31423
Dosis fraksi etil asetat 120 mg/200 g BB	1	1128	1114,5	1104	1092	4438,5
	2	1131	1111,5	1092	1084,5	4419
	3	1108,5	1102,5	1096,5	1089	4396,5
	4	1125	1113	1090,5	1081,5	4410
	5	1110	1099,5	1092	1087,5	4389
Rata-rata						4410,6
SD						19,45957

Lampiran 20. Perhitungan % Daya Antipiretik (DAP)

Kelompok kontrol positif (Paracetamol 45 mg/kg BB)

$$\%DAP = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

%DAP tikus 1	$= \frac{4570,5 - 4446}{4570,5} \times 100\%$	= 2,72 %
%DAP tikus 2	$= \frac{4579,5 - 4422}{4579,5} \times 100\%$	= 3,43 %
%DAP tikus 3	$= \frac{4554 - 4392}{4554} \times 100\%$	= 3,55 %
%DAP tikus 4	$= \frac{4573,5 - 4399,5}{4573,5} \times 100\%$	= 3,80 %
%DAP tikus 5	$= \frac{4590 - 4419}{4590} \times 100\%$	= 3,72 %
Total DAP		= 17,22 %
SD		= 0,429

Kelompok fraksi *n*-heksan 13,3 mg/kg BB

$$\%DAP = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

%DAP tikus 1	$= \frac{4570,5 - 4434}{4570,5} \times 100\%$	= 2,98 %
%DAP tikus 2	$= \frac{4579,5 - 4447,5}{4579,5} \times 100\%$	= 2,88 %
%DAP tikus 3	$= \frac{4554 - 4492,5}{4554} \times 100\%$	= 1,35 %
%DAP tikus 4	$= \frac{4573,5 - 4452}{4573,5} \times 100\%$	= 2,65 %
%DAP tikus 5	$= \frac{4590 - 4467}{4590} \times 100\%$	= 2,67 %
Total DAP		= 12,53 %
SD		= 0,661

Kelompok fraksi etil asetat 120 mg/kg BB

$$\%DAP = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

%DAP tikus 1	$= \frac{4570,5 - 4438,5}{4570,5} \times 100\%$	= 2,88 %
%DAP tikus 2	$= \frac{4579,5 - 4419}{4579,5} \times 100\%$	= 3,50 %
%DAP tikus 3	$= \frac{4554 - 4396,5}{4554} \times 100\%$	= 3,45 %
%DAP tikus 4	$= \frac{4573,5 - 4410}{4573,5} \times 100\%$	= 3,57 %
%DAP tikus 5	$= \frac{4590 - 4389}{4590} \times 100\%$	= 4,37 %
Total DAP		= 17,86 %
SD		= 0,529

Lampiran 21. Hasil uji statistic data rata-rata AUC total

Uji *Shapiro-wilk*

Tujuan : untuk melihak apakah data tersebut normal atau tidak sebagai syarat untuk uji *One-way ANOVA*

Kriteria uji :

Sig < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig >0,05 berarti H_0 diterima

Hasil :

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	KELOMPOK	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUC	Kontrol Negatif	,210	5	,200*	,977	5	,916
	Kontrol Positif	,183	5	,200*	,952	5	,754
	Kelompok Fraksi n-heksana	,216	5	,200*	,954	5	,765
	Kelompok Fraksi Etil Asetat	,166	5	,200*	,970	5	,875

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

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan : Sig. >0,05 maka AUC dapat terdistribusi normal.

Uji *Levene*

Kriteria uji :

Sig. <0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. >0,05 berarti H_0 diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,547	3	16	,657

Uji *One-way ANOVA*

Kriteria uji :

Sig. <0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. >0,05 berarti H_0 diterima

Hasil :

ANOVA

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	86012,100	3	28670,700	76,497	,000
Within Groups	5996,700	16	374,794		
Total	92008,800	19			

Kesimpulan : Sig. <0,05 maka H_0 ditolak. Terdapat perbedaan AUC antar kelompok perlakuan.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: AUC

Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	157,80000*	12,24408	,000	122,7694	192,8306
	Kelompok Fraksi n-heksana	114,90000*	12,24408	,000	79,8694	149,9306
	Kelompok Fraksi Etil Asetat	162,90000*	12,24408	,000	127,8694	197,9306
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-157,80000*	12,24408	,000	-192,8306	-122,7694
	Kelompok Fraksi n-heksana	-42,90000*	12,24408	,014	-77,9306	-7,8694
	Kelompok Fraksi Etil Asetat	5,10000	12,24408	,975	-29,9306	40,1306
Kelompok Fraksi n-heksana	Kontrol Negatif	-114,90000*	12,24408	,000	-149,9306	-79,8694
	Kontrol Positif	42,90000*	12,24408	,014	7,8694	77,9306
	Kelompok Fraksi Etil Asetat	48,00000*	12,24408	,006	12,9694	83,0306
Kelompok Fraksi Etil Asetat	Kontrol Negatif	-162,90000*	12,24408	,000	-197,9306	-127,8694
	Kontrol Positif	-5,10000	12,24408	,975	-40,1306	29,9306
	Kelompok Fraksi n-heksana	-48,00000*	12,24408	,006	-83,0306	-12,9694

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

AUC

Tukey HSD[a]

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok Fraksi Etil Asetat	5	4410,6000		
Kontrol Positif	5	4415,7000		
Kelompok Fraksi n-heksana	5		4458,6000	
Kontrol Negatif	5			4573,5000
Sig.		,975	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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