

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU
(*Ruta angustifolia* [L.] Pers) DENGAN METODE *TAIL FLICK*
DAN *WRITHING TEST***



Oleh:

**Mia Ariasti
20144211A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU
(*Ruta angustifolia* [L.] Pers) DENGAN METODE *TAIL FLICK*
DAN *WRITHING TEST***

SKRIPSI



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

Oleh:

**Mia Ariasti
20144211 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

HALAMAN PENGESAHAN

berjudul

UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) DENGAN METODE TAIL FLICK DAN WRITHING TEST

Oleh :

Mia ariasti
20144211A

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

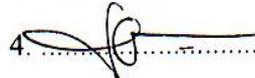
Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
Pembimbing Pendamping,

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt
Penguji :

1. Mamik Ponco Hahayu, M.Si., Apt
2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
3. Yane Dila Keswara, M.Si., Apt
4. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt

1. 
2. 
3. 
4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang

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

Orang yang beriman kepada Allah akan selalu berusaha mencari ilmu dan mengembangkannya dan kemudian mempergunakannya untuk mencari kebaikan dan mafaat bagi dirinya, keluarga dan masyarakat (QS. Al isra: 85)

Ku persembahkan karya ini kepada :

Allah SWT dan Nabi Muhammad s.a.w

Kedua orang tua yang selalu memberikan semangat dan doa untukku

Adikku serta teman-teman yang telah memberikan semangat

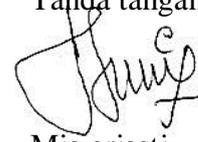
PERNYATAAN

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, 2018

Tanda tangan



Mia ariasti

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT atas cinta kasih-Nya dan kemudahan yang dikaruniakan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *WRITHING TEST*”** ini dengan baik.

Adapun Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional khususnya. Sebelum dan selama masa penelitian maupun selama penyusunan, banyak pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan yang berharga ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, bimbingan, dan masukan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberi motivasi, dukungan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

5. Mamik Ponco Hahayu, M.Si., Apt, selaku penguji I yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, masukan dan pengarahan demi tersusunnya skripsi ini.
6. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt, selaku penguji II yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, masukan dan pengarahan demi tersusunnya skripsi ini.
7. Yane Dila Keswara, M.Si., Apt, selaku penguji III yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, masukan dan pengarahan demi tersusunnya skripsi ini.
8. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi.
9. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
10. Keluarga tercinta (Bapak, Ibu dan Adik) yang tak henti mendoakan dan telah banyak berjuang demi tercapainya gelarku, serta semangat baruku yang selalu memberikan banyak dukungan kepada penulis.
11. Untuk teman Tim Inggus Mega, Tiwi dan teman-teman seperjuangan (Wiwin, Sari, Indri dan Kiki) dan teman-teman khususnya FKK 2, angkatan 2014 sukses selalu.
12. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan, namun penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surakarta, 2018

Mia Ariasti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman inggu (<i>Ruta angustifolia</i> [L.] Pers)	6
1. Sistematika tanaman	6
2. Nama lain	6
3. Deskripsi tanaman	7
4. Manfaat tanaman inggu	7
5. Kandungan inggu	7
5.1 Flavonoid	7
5.2 Steroid	8
5.3 Saponin	8
5.4 Tanin	8
B. Nyeri	8
1. Definisi	8
2. Mekanisme terjadinya nyeri	10
3. Penanganan nyeri	10

C.	Analgesik	10
1.	Analgesik sentral (narkotik).....	11
2.	Analgesik perifer (non-narkotik).....	11
D.	Metode Uji Analgesik	13
1.	Metode <i>hot plate</i>	13
2.	Metode <i>tail filck</i>	13
3.	Metode <i>randall selitto</i>	13
4.	Metode rangsangan kimia (<i>writhing test</i>).....	13
E.	Asam Asetat.....	14
F.	Simplisia	14
G.	Penyarian	15
1.	Ekstraksi	15
2.	Maserasi.....	16
3.	Larutan penyari	16
H.	Hewan Uji.....	17
1.	Sistematika.....	17
2.	Karakteristik hewan uji.....	17
3.	Jenis kelamin.....	17
4.	Teknik memegang dan cara penanganan.....	18
I.	Landasan Teori.....	18
J.	Hipotesis	19
 BAB III METODE PENELITIAN		 20
A.	Populasi dan Sampel	20
B.	Variabel penelitian	20
1.	Identifikasi variabel utama	20
2.	Klasifikasi variabel utama	20
2.1	Variabel bebas.....	20
2.2	Variabel tergantung.....	20
2.3	Variabel kendali.....	21
3.	Definisi operasional variabel utama	21
C.	Alat dan Bahan.....	21
1.	Alat penelitian.....	21
2.	Bahan.....	22
D.	Jalannya penelitian.....	22
1.	Determinasi tanaman.....	22
2.	Penyiapan dan pengumpulan bahan	22
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu	22
4.	Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun inggu	23
5.	Uji bebas etanol.....	23
6.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun inggu	24
6.1	Flavonoid.....	24
6.2	Tanin.....	24
6.3	Saponin.....	24
6.4	Steroid.....	24
7.	Pembuatan larutan dan penetapan dosis	24

7.1	Larutan CMC-Na 1%	24
7.2	Pembuatan suspensi asam mefenamat 1%	24
7.3	Pembuatan sediaan uji 2%	25
7.4	Pembuatan induksi asam asetat glasial 0,5% (v/v).	25
7.5	Penetapan dosis asam mefenamat.	25
7.6	Penetapan dosis ekstrak.	25
8.	Uji efek analgesik metode <i>tail flick</i>	25
9.	Prosedur pengujian efek analgesik metode <i>writhing test</i>	27
10.	Perhitungan persen daya analgesik	28
10.1	Metode <i>tail flick</i>	28
10.2	Metode <i>writhing test</i>	28
E.	Analisis Data	28
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		30
A.	Tanaman Inggu (<i>Ruta angustifolia</i> [L.] Pers)	30
1.	Hasil determinasi tanaman inggu	30
2.	Pengumpulan tanaman dan pengeringan daun inggu	30
3.	Hasil pembuatan serbuk daun inggu	31
B.	Ekstraksi Daun Inggu	31
1.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun inggu	31
2.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu	31
4.	Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun inggu	32
5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun inggu	32
C.	Uji Efek Analgesik Ekstrak Daun Inggu	33
1.	Pengujian aktivitas analgesik metode <i>tail flick</i>	33
2.	Pengujian aktivitas analgesik metode <i>writhing test</i>	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		44
A.	Kesimpulan	44
B.	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA		45
LAMPIRAN		51

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tanaman inggu (<i>Ruta angustifolia</i> [L.] Pers) (Hariana 2013)	6
Gambar 2. Mediator yang dapat menimbulkan rangsangan nyeri setelah kerusakan jaringan (Mutshler 1991).....	10
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol serbuk	23
Gambar 4. Uji analgesik metode <i>tail flick</i>	26
Gambar 5. Uji analgesik metode <i>writhing test</i>	27
Gambar 6. Waktu rata-rata (detik) aktivitas analgetik.....	34
Gambar 7. Grafik data rata-rata jumlah geliat.....	39

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah	31
Tabel 2.	Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering	31
Tabel 3.	Rendemen ekstrak etanol daun inggu	31
Tabel 4.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu	32
Tabel 5.	Hasil uji fitokimia ekstrak daun inggu	32
Tabel 6.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun inggu	33
Tabel 7.	Waktu rata-rata (detik) aktivitas analgesik dan SD	34
Tabel 8.	Persentase Hambatan Nyeri (PHN)	36
Tabel 9.	Data rata-rata jumlah geliat	39
Tabel 10.	Data AUC dan persentase daya analgesik metode <i>writhing test</i>	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1.	Hasil determinasi tanaman inggu..... 53
Lampiran 2.	Surat keterangan bahan baku asam mefenamat 54
Lampiran 3.	Sertifikasi hewan uji 55
Lampiran 4.	Foto daun dan serbuk daun inggu 56
Lampiran 5.	Peralatan dan perlengkapan penelitian..... 57
Lampiran 6.	Hasil ekstrak etanol daun inggu dan larutan uji 58
Lampiran 7.	Hasil identifikasi senyawa dari ekstrak daun inggu 59
Lampiran 8.	Perhitungan rendemen daun inggu 60
Lampiran 9.	Perhitungan dosis..... 61
Lampiran 10.	Perlakuan pada hewan uji..... 68
Lampiran 11.	Hasil uji analgesik ekstrak etanol daun inggu metode <i>tail flick</i> sebelum dikurangi T ₀ 69
Lampiran 12.	Hasil uji analgesik ekstrak etanol daun inggu metode <i>tail flick</i> setelah dikurangi T ₀ 70
Lampiran 13.	Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN)..... 71
Lampiran 14.	Hasil rata-rata jumlah geliat metode <i>writhing test</i> 73
Lampiran 15.	Perhitungan AUC metode <i>Writhing Test</i> 74
Lampiran 16.	Perhitungan % proteksi geliat..... 75
Lampiran 17.	Uji statistik % peningkatan ambang nyeri (daya analgesik) seluruh kelompok uji metode <i>tail flick</i> 76
Lampiran 18.	Uji statistik % inhibisi geliat (daya analgesik) seluruh kelompok uji selama 90 menit metode <i>writhing test</i> 79
Lampiran 19.	Uji statistik data AUC geliat (daya analgesik) seluruh kelompok uji selama 90 menit metode <i>writhing test</i> 82

INTISARI

ARIASTI, M., 2018, UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) DENGAN METODE *TAIL FLICK* DAN *WRITHING TEST*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Nyeri merupakan suatu pengalaman sensorik maupun emosional berkaitan dengan kerusakan jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek analgesik dari ekstrak etanol daun inggu dan mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun inggu dengan metode *tail flick* dan *writhing test*. Metode *tail flick* dan *writhing test* telah banyak digunakan secara luas untuk pengembangan obat antiinflamasi non-steroid.

Serbuk daun inggu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol positif asam mefenamat 9 mg/ 200 g BB, kontrol negatif CMC Na 1%, ekstrak etanol daun inggu dosis 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB dan 20 mg/ 200 g BB. Data yang diperoleh dianalisa dengan uji ANOVA, selanjutnya digunakan uji LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok

Hasil menunjukkan ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB, 20 mg/ 200 g BB dan kontrol positif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Dosis ekstrak 20 mg/ 200 g BB sebanding dengan kontrol positif menunjukkan bahwa dosis ekstrak 20 mg/ 200 g BB mempunyai aktifitas analgesik paling efektif. Senyawa steroid dan flavonoid yang terkandung dalam daun inggu diduga memiliki efek sebagai analgesik.

Kata kunci : Analgesik, *tail flick*, *writhing test*, daun inggu

ABSTRACT

ARIASTI, M., 2018 ANALGESIC ACTIVITY TEST OF (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) LEAF ETHANOL EXTRACT WITH *TAIL FLICK* AND *WRITHING TEST* METHOD, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACHY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Pain is defined as a sensory and emotional experience that not associated with tissue damage. . The aims of the research were to determine analgesic effect of *Ruta angustifolia* [L] Pers. Moore Leaf ethanolic extract and to determine the dose of *Ruta angustifolia* [L] Pers. Moore Leaf the effective analgesic activity with *tail flick* and *writhing test* method. *Tail flick* and *writhing test* method have been used extensively for the development of non-steroidal antiinflammatory drugs.

Ruta angustifolia [L] Pers. Moore Leaf was extracted by maceration method with ethanol 96%. 25 male white rats strain wistar divided in 5 groups, positive control mefenamic acid 9 mg/ 200 g BB, negative control CMC Na, *Ruta angustifolia* [L] Pers. Moore Leaf ethanolic extract doses 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB and 20 mg/ 200 g BB. Data were analyzed using ANOVA and LSD test was done to know the difference between the treatment groups.

The result of the research showed that ethanolic extract doses 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB and 20 mg/ 200 g BB compare with positive control was indicated that ethanolic extract doses 20 mg/ 200 g BB showed the highest analgesic activity. Steroid and flavonoid compounds contained in *Ruta angustifolia* [L] Pers. Moore Leaf are thought to have an analgesic effect

Key words : analgesic, *tail flick*, *writhing test*, inggu leaves

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Setiap orang pasti pernah mengalami rasa nyeri semasa hidupnya. Nyeri sebenarnya dapat menyebabkan kerusakan di dalam tubuh, baik sadar maupun tidak sadar. Nyeri berfungsi untuk melindungi tubuh dan sebagai isyarat yang bahaya tentang adanya gangguan di jaringan, dan sering kali mempermudah diagnosis penyakit (Mutschler 1991). Rasa nyeri dalam kebanyakan hal merupakan suatu kondisi gejala dengan memberikan tanda-tanda adanya gangguan di dalam tubuh yang mendakan adanya peradangan seperti infeksi kuman dan kejang yang terjadi pada otot. Nyeri dapat diklasifikasikan berdasarkan lamanya yaitu nyeri akut dan kronik. Nyeri akut merupakan nyeri dengan durasi sampai 7 hari dan biasanya terjadi secara mendadak, sedangkan nyeri kronis adalah nyeri dengan durasi lebih dari 7 hari, bisa berbulan-bulan dan bahkan bertahun-tahun (Ikawati 2011).

Penyebab rasa nyeri adalah rangsangan-rangsangan mekanis atau kimiawi, kalor atau listrik, yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan melepaskan zat yang disebut mediator nyeri (Mutschler 1986). Mediator nyeri yang terpenting adalah histamin, serotonin (5-HT), prostaglandin, bradikinin serta ion kalium. Zat-zat tersebut kemudian merangsang reseptor nyeri yang letaknya pada ujung syaraf bebas dikulit, selaput lendir dan jaringan lain. Dari ujung syaraf bebas kulit dan jaringan rangsangan dialirkan melalui saraf sensoris ke sistem saraf pusat (SSP), melalui sumsum tulang belakang ke thalamus (optikus) kemudian ke pusat nyeri dalam otak besar, dimana rangsangan terasa sebagai nyeri (Tjay & Rahardja 2002).

Obat analgesik sebagai penghalang nyeri adalah zat-zat yang mengurangi rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Berdasarkan mekanisme kerjanya, analgesik terdiri dari dua golongan yaitu golongan analgesik kuat (narkotik) dan analgesik lemah (non narkotik). Analgesik kuat (narkotik) memiliki daya untuk mengurangi rasa nyeri sangat kuat untuk mengurangi kesadaran, menimbulkan

rasa nyaman, mengakibatkan toleransi dan kebiasaan, serta ketergantungan fisik dan psikis (Aznam & Sulistiowati 2001). Analgesik narkotik bekerja melalui susunan syaraf pusat (SSP) sehingga dapat menimbulkan efek analgesik kuat yang biasanya digunakan untuk nyeri dengan intensitas tinggi, seperti nyeri karena patah tulang, nyeri kanker dan nyeri setelah pembedahan (Sutedjo 2008). Contoh obat golongan ini diantaranya morfin, kodein (metilmorfin), petidin, dan metadon. Obat analgesik lemah (non narkotik) tidak mempunyai daya untuk menurunkan kesadaran ataupun ketagihan. Kelompok obat tersebut selain untuk mengurangi rasa nyeri juga dapat berkhasiat untuk menurunkan suhu sehingga disebut analgesik-antipiretik. Salah satu contoh obat golongan ini diantaranya asetosal, aspirin, fenasetin, dan aminofenazon (aminopirin dan piramidon) (Sutedjo 2008). Berdasarkan masyarakat Indonesia sudah sejak ratusan tahun yang lalu memiliki tradisi memanfaatkan tumbuhan dari lingkungan sebagai obat tradisional. Sejak lebih dari dua puluh tahun yang lalu masyarakat dunia, tidak hanya di negara-negara timur melainkan juga di negara-negara barat, mulai menoleh kembali dan tertarik untuk menggunakan obat-obat alam, yang kita kenal sebagai gerakan kembali ke alam atau *back to nature* (Noer dan Pratiwi 2016).

Adanya kecenderungan pola hidup *back to nature* ini dipicu oleh keyakinan bahwa mengkonsumsi obat alami relatif lebih aman dibanding dengan obat sintetik yang memiliki banyak efek samping negatif, itu sebabnya industri obat tradisional, baik di luar negeri maupun di Indonesia makin meningkat jumlah dan pasarnya, sehingga industrialisasi obat-obat alam menyebabkan harga obat alam semakin meningkat, sehingga saat ini banyak obat tradisional alami yang harganya tidak kurang mahal dibandingkan dengan obat-obat konvensional sintesis (Noer dan Pratiwi 2016). Pada pengobatan tradisional tidak jauh berbeda dalam mengobati berbagai macam penyakit, walaupun telah banyak ilmu pengetahuan yang telah maju atau berkembang terutama dalam bidang kesehatan tetapi, kurangnya pengetahuan dan informasi mengenai jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional dan cara pembuatannya merupakan masalah dan kesulitan bagi masyarakat peminat obat tradisional (Tone *et al.* 2013).

Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan obat-obatan yang berkhasiat sebagai analgesik adalah daun inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers). Inggu merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili *Rutaceae*, daun inggu dapat digunakan untuk terapi dan bisa digunakan untuk pengobatan hipertensi, pengobatan topikal untuk sakit telinga dan sakit kepala, serta pengobatan eksternal berupa antiseptik kulit dan obat nyamuk (Permatasari 2013). Pada mulanya tumbuhan ini berasal dari mediteranian (Wulandari 2010). Salah satu bagian utama yang paling penting digunakan sebagai bahan obat adalah daunnya. Cara pengelohan daun tersebut yang paling sederhana atau sering digunakan adalah dengan cara menempelkan pada tempat bagian yang sakit. Adapun cara lain adalah dengan merebus segenggam daun inggu segar sampai air menjadi setengahnya lalu kemudian diminum atau di tempelkan pada bagian yang sakit secara rutin. Penyakit yang dipercaya dapat diatasi dengan ramuan daun inggu adalah sakit kepala, sakit telinga, sakit gigi dan sebagainya (Noer & Pratiwi 2016).

Menurut Noer & Pratiwi (2016). Dari hasil uji kualitatif fitokimia (skrining fitokimia) daun inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) terdapat kandungan senyawa kimia meliputi flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian sebelumnya menurut Luhurningtyas *et al.* (2013) pada batang inggu mengandung senyawa alkaloid, kumarin, flavonoid dan terpenoid. Flavonoid berperan sebagai analgesik dengan mekanisme kerja menghambat kerja enzim siklooksigenase yang akan mengurangi produksi asam arakhidonat sehingga dapat mengurangi rasa nyeri yang di alami (Robinson 1995). Dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakhidonat sehingga dapat mengurangi rasa nyeri (Gunawan *et al* 2008). Steroid berkhasiat sebagai analgesik dapat menghambat enzim fosfolipase sehingga menyebabkan rasa nyeri (Robinson 1995), sedangkan saponin pada analgesik untuk menghambat prostaglandin yang berperan sebagai penyebab peradangan dan saponin dapat larut dalam air, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995).

Penelitian mengenai efek analgesik ekstrak etanol daun inggu belum banyak dilakukan, dilihat dari populasi nyeri di Indonesia yang semakin

meningkat terutama pada penyakit osteoarthritis dengan mengkonsumsi obat-obat analgesik dalam jangka panjang, sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan kajian tentang ekstrak etanol daun inggu mengenai aktivitas analgesik yang akan diuji pada tikus putih jantan galur wistar dengan menggunakan dua metode, yaitu metode *tail flick* dan *writhing test* (rangsang kimia). Prinsip Metode *tail flick* dalam bentuk respon gerakan dengan menjentikkan ekornya (Voigt 1995), sedangkan prinsip metode *writhing test* adalah respon gerakan geliat dengan asam asetat glasial sebagai penginduksi rasa nyeri. Metode ini memberikan evaluasi yang cepat terhadap jenis analgesik perifer (Gupta *et al.* 2013).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, karena maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari serta cocok untuk ekstraksi awal (Depkes RI 2000). Penyari yang digunakan dalam proses ekstrak adalah etanol 96%, karena etanol 96% bersifat stabil tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan tidak mudah menguap, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit dan dapat bercampur dengan air untuk segala perbandingan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun inggu dapat memberikan efek analgesik pada tikus putih jantan galur wistar dengan menggunakan metode *tail flick analgesy-meter* dan *writhing test*?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol daun inggu yang paling efektif sebagai analgesik pada tikus putih jantan galur wistar dengan menggunakan metode *tail flick analgesy-meter* dan *writhing test*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas analgesik ekstrak etanol daun inggu pada tikus putih jantan galur wistar yang diuji dengan metode *tail flick analgesy-meter* dan *writhing test*.

Kedua, untuk mengetahui dosis ekstrak etanol yang paling efektif dapat memberikan aktivitas analgesik pada tikus putih jantan galur wistar yang diuji dengan metode *tail flick* dan *writhing test*.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah bahwa ekstrak daun inggu dapat digunakan sebagai obat tradisional atau alternatif sebagai pengobatan untuk mengurangi rasa nyeri. Untuk memberikan pengetahuan kepada masyarakat bahwa selain obat sintesis yang kita kenal, pengobatan tradisional daun inggu dapat berfungsi sebagai analgesik (penghilang rasa nyeri) sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan rasa nyeri.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers)



Gambar 1. Tanaman inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) (Hariana 2013)

1. Sistematika tanaman

Tanaman inggu memiliki sistematika sebagai berikut.

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub kelas : Rosidae
- Ordo : Spindales
- Famili : Rutaceae
- Genus : Ruta
- Spesies : *Ruta angustifolia* (L.) Pers (Noer & Pratiwi 2016)

2. Nama lain

Nama lokal inggu (Sunda), Godong minggu (Jawa), Aruda (Sumatra), Anruda busu (Makasar). Nama asing diantaranya Raute (Jerman), Ruta (Italia), Wijnruit (Belanda), Common rue herb, rue, herb of grace (Inggris).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman ini memiliki ciri seperti, herba bertahun, lebat di dasarnya, tinggi 0,3-1,5 m, daun menyusun susunan spiral, 2-3-bertakuk menyirip, membulat telur sungsang, lonjong-bundar telur sungsang di barisan luar, 4-15 cm x 2-9 cm, ruas pokok bundar telur sungsang-melanset sampai agak lonjong sekitar 8-14 mm x 1,5-3,5 mm, beringgitan, kelenjar tembus pandang, berbau kuat, daun di bagian bawah bertangkai pendek, perbungaan terbatas, terminal atau di helaian bagian atas ketiak, sering mengkombinasi ke dalam gundung, daun gagang melanset, kurang luas atau tidak luas dari pada dahan yang tersubten, kelenjar biasanya berbulu halus, bunga 4(-5)-merous, daun kelopak mendelta bundar telur, 2-3 mm x 1-2 mm, meruncing terbenam (subacute), kelenjar berbulu halus, daun mahkota lonjong, panjang 7-10 mm, berjumbai dengan bulu getar selebar daun mahkota, kapsul gundul, ruas melancip. Di Asia Tenggara hanya dikenal untuk dikultivasi (Noer & Pratiwi 2016).

4. Manfaat tanaman inggu

Tanaman ini rasanya pedas, agak pahit, dingin, berkhasiat sebagai penurun demam (Antipiretik), obat sakit gigi, penghilang nyeri (Analgesik), anti radang, penawar racun (Antitoksik), peluruh kentut (Kerminatif, membunyarkan bekuan darah, pereda kejang (Antikonvulsan), peluruh haid (Emenagog), abortivum, pembersih darah, stimulan pada sistem saraf dan kandungan (Uterus), antelmentik (Noer & Pratiwi 2016).

5. Kandungan inggu

Daun dan batang inggu mengandung minyak atsiri yang terdiri dari metil nonilketon mencapai 90%, pinen, 1-limonen, cineol, kokusaganin, edulin, skimianin, bergapten, graveolin, dan beberapa senyawa flavonoid meliputi rutin, rhamno glikosid, quersetin, ksantotoksin dan sedikit senyawa tanin (Agoes 2010). Tambahan menurut Noer & Pratiwi (2016) Dari hasil uji kualitatif fitokimia (skrining fitokimia) daun inggu (*Ruta angustifolia*) terdapat kandungan senyawa kimia yaitu flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan triterpenoid.

5.1 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon dan dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆- C₃- C₆. Artinya

kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi). Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut pada pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton. Salah satu fungsi flavonoid yaitu dapat menghambat prostaglandin dan mekanisme flavonoid pada analgesik sebagai penghambat enzim siklooksigenase yang akan mengurangi produksi dari asam arakhidonat sehingga dapat mengurangi rasa nyeri (Robinson 1995).

5.2 Steroid. Steroid adalah senyawa organik lemak sterol yang tidak terhidrolisis dapat menghasilkan reaksi penurunan dari terpena atau skualena. Steroid merupakan senyawa yang mempunyai kerangka dasar triterpen asiklik. Pada umumnya steroid terdapat empat system cincin dimana ketiga cincin mempunyai enam atom karbon dan satu cincin memiliki lima atom karbon. Khasiat steroid sebagai analgesik adalah menghambat enzim fosfolipase sehingga dapat menghambat rasa nyeri (Robinson 1995).

5.3 Saponin. Saponin adalah glikodida triterpen yang bersifat menyerupai sabun, dan merupakan senyawa aktif permukaan dan dapat dikocok dalam air sehingga menimbulkan busa dengan konsentrasi rendah dan dapat menyebabkan hemolis sel darah merah. Mekanisme saponin pada analgesik untuk menghambat prostaglandin yang berperan sebagai penyebab peradangan dan saponin dapat laut dalam air, tetapi tidak laut dalam eter (Robinson 1995).

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 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).

B. Nyeri

1. Definisi

Rasa nyeri dalam kebanyakan hal merupakan suatu gejala yang berfungsi melindungi tubuh, namun terkadang nyeri dapat digunakan sebagai tanda adanya

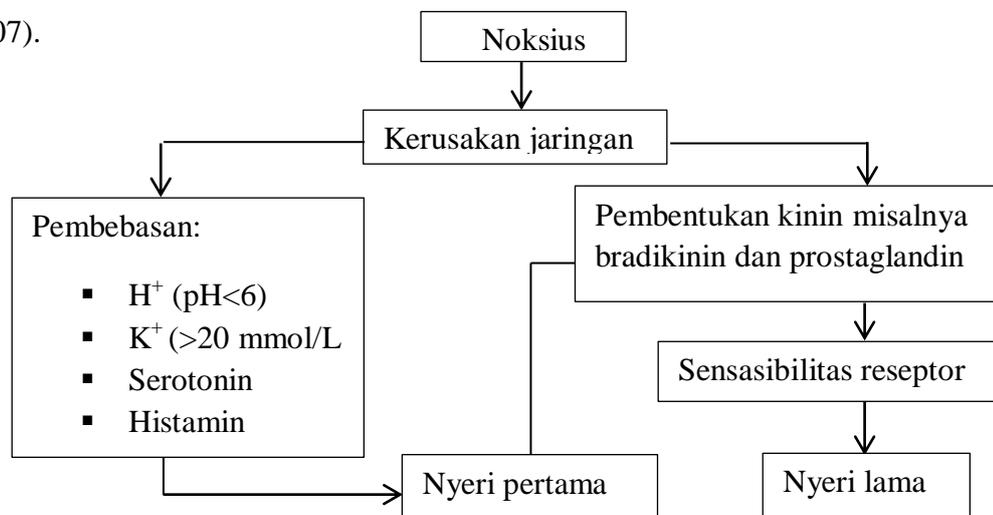
kerusakan pada jaringan, seperti peradangan, atau kejang otot. Berdasarkan Burton (2007) bahwa nyeri merupakan sensasi yang tidak menyenangkan dengan variasi nyeri dari yang ringan hingga nyeri yang berat. Nyeri ini merupakan respon terhadap impuls dari nervus perifer dari jaringan yang rusak.

Berdasarkan durasinya, nyeri dapat dikelompokkan sebagai nyeri akut (nonsisepitif) dan nyeri kronis (neuropatik) (Hartwig & Wilson 2006; Sukandar *et al.* 2009). Nyeri akut 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. Nosiseptor merupakan terjadinya proses rangsangan pada ujung saraf bebas, proses ini menjadi tahap awal yang mengawali timbulnya rasa nyeri. Reseptor ini dapat ditemukan baik di struktur viseral ataupun somatik, serta teraktivasi oleh rangsangan mekanis, panas dan kimiawi. Pelepasan bradikinin, K⁺, prostaglandin, histamin, leukotrien dan serotonin, yang dapat menimbulkan kepekaan atau mengaktivasi nosiseptor. Nyeri kronis (neuropatik) terjadi akibat proses input sensorik yang abnormal oleh sistem saraf pusat atau perifer, yang berlangsung selama 6 bulan atau lebih. Terdapat sejumlah besar sindroma nyeri neuropatik yang sulit diatasi, misalnya nyeri punggung bawah, neuropati diabetik, nyeri akibat kanker (Sukandar *et al.* 2009).

Nyeri merupakan suatu gejala penyakit yang timbul karena disebabkan oleh rangsangan mekanis, termal, kimia, atau listrik yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan dengan pembebasan mediator nyeri seperti bradikinin dan prostaglandin. Kemudian prostaglandin tersebut menimbulkan hiperalgesia, sehingga mediator nyeri seperti bradikinin dan histamin menimbulkan rasa nyeri (Marlyne 2012). Nyeri dapat diatasi dengan berbagai macam cara, yaitu dengan pembentukan rangsangan reseptor-reseptor analgesik perifer, menghalangi penyaluran rangsangan nyeri dalam saraf-saraf sensorik contohnya dengan anestesi lokal, dan memblokir dari pusat nyeri dalam sistem saraf pusat (SSP) dengan analgesik sentral (narkotik) atau dengan anestetik umum (Tjay dan Rahardja 2008).

2. Mekanisme terjadinya nyeri

Rasa nyeri terjadi karena rangsangan mekanis, kimiawi, atau fisik, yang melampaui nilai ambang nyeri sehingga dapat memicu pelepasan mediator-mediator nyeri, seperti histamine, bradikinin, leukotrine, dan prostaglandin. Mediator nyeri tersebut yang nantinya akan merangsang reseptor nyeri pada ujung saraf bebas kulit, mukosa, serta jaringan lain yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan seperti reaksi peradangan, kejang-kejang dan demam (Tjay & Rahardja 2007).



Gambar 2. Mediator yang dapat menimbulkan rangsangan nyeri setelah kerusakan jaringan (Mutshler 1991)

3. Penanganan nyeri

Penanganan nyeri dapat dilakukan dengan pemberian obat analgesik. Semua obat yang mempunyai efek analgesik biasanya efektif untuk mengetahui nyeri. Hal tersebut kemungkinan karena nyeri dapat hilang seiring dengan laju penyembuhan jaringan yang rusak atau sakit (Zakiyah 2015).

C. Analgesik

Analgesik adalah senyawa dalam dosis terapi yang digunakan untuk mengurangi rasa nyeri tanpa menghilangkan rasa kesadaran. Obat analgesik dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu analgesik kuat (narkotik) dan analgesik lemah (non narkotik) (Aznam & Sulistiowati 2001).

1. Analgesik sentral (narkotik)

Zat-zat ini mempunyai daya menghalangi rasa nyeri yang kuat dengan titik kerja yang terletak di SSP atau disebut dengan analgesik kuat (hipoanalgesik). Pada umumnya analgesik sentral ini dapat mengurangi kesadaran, menimbulkan rasa nyaman, mengakibatkan toleransi dan serta mengakibatkan ketergantungan fisik dan psikis seperti contohnya golongan morfin dan turunannya seperti morfin, kodein, heroin, hidromorfin, hidrokodeon dan diodin (Aznam & Sulistiowati 2001).

2. Analgesik perifer (non-narkotik)

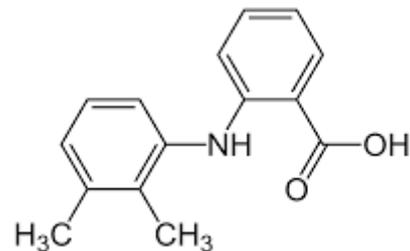
Kebanyakan dari analgesik non narkotik mempunyai aktivitas antipiretik, antirematik dan antiinflamasi disamping untuk meringankan rasa nyeri (Mutchler 1991). Obat-obat golongan ini sudah banyak terbukti untuk mempengaruhi metabolisme atau kerja sejumlah mediator pada proses peradangan. Mekanisme kerja analgesik perifer yaitu menghambat atau menghalangi pembentukan prostaglandin dan metabolisme yang bersangkutan yang dapat menyebabkan terjadinya rasa nyeri, demam dan radang (Hite 1981).

Analgesik perifer berdasarkan golongannya diabsorpsi dengan baik dan cepat. Kebanyakan berdaya antipiretik dan atau antiinflamasi. Oleh karena itu obat ini tidak hanya digunakan sebagai anti nyeri melainkan juga gangguan demam dan peradangan. Obat ini banyak digunakan pada kisaran nyeri ringan sampai sedang, seperti sakit kepala, sakit gigi, otot, perut, masalah menstruasi, dan lain sebagainya (Tjay dan Rahardja 2002)

Analgesik yang diberikan kepada penderita mampu mengurangi rasa sakit yang dapat menimbulkan berbagai jenis rangsangan nyeri seperti rangsangan mekanik, kimia dan fisika. Berdasarkan rangsangan tersebut terdapat beberapa metode penetapan daya analgesik suatu obat salah satunya adalah dengan menggunakan rangsangan kimia sebagai penimbun rasa nyeri. Rasa nyeri setiap orang sangat berbeda.

Asam mefenamat merupakan salah satu obat golongan AINS (Anti Inflamasi Non Steroid) yang merupakan turunan dari asam *N-phenylanthranilic* (Gilman *et al.* 1996). Asam mefenamat adalah N-(2,3 Xilil) antranilat dengan

rumus molekul $C_{15}H_{15}NO_2$ dan berat molekul 241,28 (Depkes 1995). Rumus molekul asam mefenamat sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur kimia asam mefenamat (Rochma 2016)

Asam mefenamat (gambar 3) adalah turunan salah satu senyawa fenamat yang mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi, antipiretik dan analgesik. Mekanisme kerja obat ini adalah menghambat sintesa prostaglandin dan menghambat kerja enzim cyclooxygenase (COX-1 dan COX-2). Asam mefenamat diabsorpsi cepat dan mempunyai durasi kerja yang pendek. Pada manusia, sekitar 50 % dosis asam mefenamat diekskresikan dalam urin, terutama pada metabolit 3-hidroksimetil dan karbiksil dan konjugasinya, sedangkan 20 % obat didapatkan pada feses, terutama metabolit 3-hidroksil yang tidak terkonjugasi (Goodman & Gilman 2007). Dosis asam mefenamat untuk dewasa adalah 2-3 kali 250-500 mg sehari, karena efek toksik obat tidak boleh dianjurkan untuk anak dibawah umur 14 tahun dan wanita hamil, dan cara pemberiannya tidak melebihi 7 hari (Gunawam *et al.* 2007). Asam mefenamat dapat mencapai puncak kadar dalam plasma selama 2-4 jam setelah penggunaan dosis tunggal.

Efek samping yang secara umum dalam penggunaan asam mefenamat adalah gangguan lambung dan usus. Asam mefenamat dikontra indikasikan pada kehamilan, dan belum dibuktikan keamanan penggunaan pada anak kecil (Tjay & Rahardja 2002). Efek samping lain yang berdasarkan hipersensitivitas adalah eritema kulit dan bronkokonstriksi dan anemia hemolitik (Wilmana dan Gan 2007). Asam mefenamat berikatan kuat dengan protein plasma, berdasarkan mekanisme kerjanya obat ini dapat menghambat sintesa prostaglandin dengan menghambat kerja enzim *cyclooxygenase* (COX-1 dan COX-2) (Katzung 2002).

D. Metode Uji Analgesik

1. Metode *hot plate*

Metode ini dilakukan dengan melihat respon hewan uji berupa melompat dan atau menjilat saat diberi rangsangan panas. Respon hewan uji berupa lompatan dan atau jilatan ini merupakan reaksi nyeri yang ditimbulkan oleh rangsangan panas (Mantiri *et al.* 2013).

2. Metode *tail flick*

Metode *tail flick* adalah metode yang menggunakan alat *tail flick analgesy-meter*. Alat ini dilengkapi dengan thermometer, *stopwach*, dan alat pengatur suhu ruangan. Parameter yang digunakan adalah waktu retensi yang menimbulkan respon nyeri pada ekor hewan uji (tikus), setelah diberikan rangsang thermal berupa panas dengan suhu 70°C yang di peroleh dari aliran listrik pada alat tersebut. Waktu yang diberikan pada respon hewan uji ditandai dengan lamanya ekor hewan tersebut dalam keadaan diam sampai hewan uji menarik kakinya secara spontan (Yusuf 2001).

3. Metode *randall selitto*

Metode ini merupakan suatu alat untuk mengevaluasi kemampuan obat analgesik yang dapat mempengaruhi ambang reaksi terhadap rangsangan tekanan mekanis di jaringan inflamasi (Anseloni *et al.* 2003). Prinsip dasar metode ini adalah inflamasi dapat meningkatkan sensitivitas yang dapat dikurangi pada obat analgesik. Bahan kimia yang digunakan untuk mendapatkan suatu inflamasi yaitu *brewer's yeast* dengan cara diinjeksikan secara subkutan pada permukaan kaki/tangan tikus. Hasil yang diperoleh dapat dilihat dengan besarnya tekanan kemudian dicatat pada saat tikus merasakan nyeri akibat rangsangan tekanan tersebut yang ditandai dengan tikus menarik kaki untuk melepaskan diri dari penekan (Parmar dan Prakash 2006).

4. Metode rangsangan kimia (*writhing test*)

Metode *writhing test* adalah pengujian yang dilakukan dengan cara memberikan induksi asam asetat intraperitoneal pada hewan uji (Al- Tahan 2012). Penilaian obat tersebut dilakukan berdasarkan kemampuan dalam menekan rasa nyeri yang diinduksikan pada hewan uji. Rasa nyeri yang diamati dalam bentuk

respon geliat, yaitu kedua pasang kaki ke depan dan ke belakang serta perut menekan sampai lantai yang muncul maksimal setelah 5 menit induksi (Marlyne 2012).

E. Asam Asetat

Asam asetat lebih di kenal sebagai asam cuka (CH_3COOH) adalah suatu senyawa berbentuk cairan, tak berwarna, berbau menyengat, memiliki rasa asam yang tajam dan larut di dalam air, alkohol, gliserol, dan eter. Pada tekanan atmosferik, titik didihnya $118,1^\circ\text{C}$. Asam asetat mempunyai aplikasi yang sangat luas di bidang industri dan pangan (Hardoyo *et al.* 2007). Bentuk murni dari asam asetat adalah asam asetat glasial. Asam asetat glasial mempunyai ciri-ciri tidak berwarna, mudah terbakar (titik beku 17°C dan titik didih 118°C) dengan bau menyengat, dapat bercampur dengan air dan banyak pelarut organik, tidak teroksidasi dan terfotosensitisasi. Asam asetat glasial dalam bentuk cair atau uap, sangat korosif terhadap kulit dan jaringan lain suatu molekul asam asetat mengandung gugus OH dan dengan sendirinya dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air. Karena adanya ikatan hidrogen ini, maka asam asetat yang mengandung atom karbon satu sampai empat dan dapat bercampur dengan air. Asam asetat memberikan efek nyeri melalui suatu mekanisme kerja dalam memberi suasana asam dengan adanya ion hidrogen yang akan menyebabkan pH pada asam lambung makin rendah, sehingga menimbulkan rasa nyeri dan peningkatan ion hidrogen (Hewitt 2003).

F. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang sering digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibedakan dengan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Gunawan dan Mulyani 2004). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan yang utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari sel, atau senyawa nabati lainnya yang

dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Anonim 1986).

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dapat dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia termasuk cara penyarian bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Depkes 2000).

G. Penyarian

Penyarian adalah suatu peristiwa zat aktif yang dicari dari simplisia obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat aktif yang diinginkan akan larut. Pemilihan zat pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan sejumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

1. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 2000).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dilihat sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogkan dengan komoditi bahan baku obat dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal atau sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak sebagai produk jadi berarti yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita (Depkes 2000).

2. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Prinsip metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinue (secara terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserasi pertama dan seterusnya (Depkes 2000).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, dimasukkan dalam bejana lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, sari kemudian diencerkan dan ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Keuntungan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan (Depkes 2000).

3. Larutan penyari

Larutan penyari yang biasa digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa dengan kandungan yang berkhasiat. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dari kandungan senyawa lainnya. Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemulihan cairan penyari adalah selektifitas, ekonomis, ramah lingkungan dan aman digunakan. Larutan penyari harus mempunyai syarat kefarmasian dalam hal untuk manusia ataupun hewan coba. Pelarut yang diperbolehkan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes 2000).

Etanol 96% merupakan suatu larutan penyari yang mudah diperoleh, stabil fisik dan kimia, selektif, tidak beracun, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Depkes 1986). Etanol 96% Dapat digunakan untuk menarik senyawa flavonid dan dapat digunakan untuk menghilangkan pengotor yaitu pada asam amino, protein, dan mineral (Fardhani 2014). Etanol tidak

menyebabkan pembengkakan membran sel, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dapat dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1994).

H. Hewan Uji

1. Sistematika

Sistematika hewan yang digunakan dalam percobaan ini sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Akbar 2010).

2. Karakteristik hewan uji

Hewan uji yang akan digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*). Tikus putih adalah satwa lair dan resisten terhadap infeksi, mudah ditangani, tidak bersifat fotofobia seperti mencit dan kecendrungan berkumpul dengan kelompoknya tidak begitu besar (Sugiyanto 1995). Tikus putih mempunyai tiga galur Long-Evans, galur Sprague-Dawley dan galur wistar. Galur Sprague-Dawley yang secara umum digunakan untuk penelitian mempunyai ciri berwarna putih albino, berkepala kecil, dan ekornya lebih panjang dari badannya (Malole dan Pramono 1989). Tikus putih galur wistar merupakan salah satu dari kebanyakan binatang yang telah dipelajari dalam ilmu pengetahuan (Myers 2004). Pada penelitian yang secara umum digunakan tikus yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram (Priyambodo 2003).

3. Jenis kelamin

Tikus jantan memiliki kondisi biologi yang tubuhnya lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina. Keuntungan lain dari tikus jantan lebih tenang dan mudah ditangani serta mempunyai sistem hormonal yang lebih stabil

dibandingkan dengan tikus betina sehingga dapat memberikan hasil percobaan yang baik (Bule 2014).

4. Teknik memegang dan cara penanganan

Tikus biasanya cenderung menggigit bila ditangkap. Tikus biasanya ditangkap dengan cara memegang ekor pada bagian pangkal ekornya (bukan pada bagian ujung ekornya). Diangkat dan diletakan diatas alas kasar atau ram kawat, kemudian tikus tersebut ditarik secara pelan-pelan dan dengan cepat dipegang bagian tengkuknya dengan ibu jari dan jari telunjuk menggunakan tangan kiri, kaki belakang tikus dipegang bersama ekor dengan menggunakan jari keempat atau jari kelingking sambil menunggu sesaat sebelum tikus diletakkan di atas ram kawat dengan tetap memegang ekor tikus supaya tikus tidak balik ke tangan pemegang (Mursiti 2014).

I. Landasan Teori

Rasa sakit atau nyeri menjadi suatu masalah adanya perubahan kondisi dalam tubuh. Nyeri yang digambarkan berupa suatu pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan kerusakan jaringan yang berpotensi atau yang sudah terjadi (Jahwa 2016). Keadaan nyeri merupakan suatu mekanisme pelindung tubuh untuk melindungi kerusakan jaringan dan terdapat pada mediator kimiawi yang dapat mencetus respon nyeri seperti bradikinin, serotonin, histamin, ion kalium, asam asetikoin, dan enzim proteolitik (Guyton dan Hall 2012).

Banyak hal yang sering dilakukan oleh masyarakat dalam penanganan dalam mengobati rasa nyeri adalah dengan menggunakan berbagai macam obat analgesik yang dapat mengurangi efek nyeri dengan cara menghambat mediatornya. Obat analgesik golongan NSAID yang bekerja menghambat pembentukan prostaglandin yang diperantarai oleh enzim cyclooksigenase yang bekerja menghambat enzim fosfolipase. Beberapa contoh dari obat golongan NSAID misalnya asam mefenamat, ibuprofen, asetosal. Beberapa efek samping terjadi dalam penggunaan obat analgesik membuat masyarakat lebih mempertimbangkan menggunakan obat tradisional, meskipun banyak obat

analgesik yang didapatkan dengan mudah dan tidak harus menggunakan resep dokter. Efek samping tersebut dapat berupa efek samping ringan seperti alergi atau ruam kulit sehingga efek samping yang berat seperti gangguan gastrointestinal meliputi dyspepsia, mual muntah dan perdarahan lambung.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk mengobati nyeri adalah daun inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers). Bagian tanaman yang digunakan yaitu bagian daunnya. Kandungan kimia yang terdapat dalam daun inggu meliputi flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan triterpenoid. Cara penggunaan untuk pengobatan analgesik dengan segenggam daun inggu di cuci bersih kemudian ditempelkan pada bagian yang nyeri (Noer & Pratiwi (2016). Pada penelitian ini akan dilakukan uji analgesik dari ekstrak etanol daun inggu terhadap tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Pengujian analgesik ini menggunakan dua metode yaitu metode *tail flick* dan *writhing test*, metode *tail flick* dengan menggunakan alat *analgesy-meter*, dan metode *writhing test* (rangsang kimia) dimana obat uji akan dinilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri dengan memberikan rangsangan nyeri pada hewan uji.

J. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan landasan teori, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini, yaitu:

Pertama, ekstrak etanol daun inggu mempunyai aktivitas analgesik terhadap tikus putih jantan galur wistar yang diuji dengan metode *tail flick* dan *writhing test*.

Kedua, pada dosis ekstrak etanol daun inggu yang setara dengan segenggam daun inggu merupakan dosis efektif yang mempunyai aktivitas analgesik terhadap tikus putih jantan galur wistar yang diuji dengan metode *tail flick* dan *writhing test*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun inggu segar, tidak busuk, berwarna hijau, bebas dari hama dapat diambil di daerah Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Oktober 2017.

B. Variabel penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun inggu dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

Variabel utama yang kedua adalah aktivitas analgesik dari ekstrak etanol daun inggu.

Variabel utama dari yang ketiga adalah metode *tail flick* dan *writhing test* pada hewan uji.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang sudah diidentifikasi dapat diklasifikasikan kembali dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel kendali, variabel tergantung.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun inggu yang diinduksi pada hewan uji.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas analgesik dari ekstrak daun inggu dengan metode *tail flick* dan *writhing test*.

2.3 Variabel kendali. Variabel kendali yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang secara cepat. Variabel kendali yang digunakan dalam penelitian ini adalah kondisi sampel, kondisi laboratorium, alat-alat yang digunakan, waktu pengamatan kondisi hewan uji, seperti jenis kelamin, usia, serta galur dan kondisi peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Daun inggu adalah daun yang dipetik dalam keadaan masih segar, berwarna hijau, tidak busuk, bebas dari hama diambil dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Oktober 2017.

Serbuk daun inggu adalah serbuk yang didapat dari daun inggu yang dicuci bersih, dan dikeringkan oven pada suhu 50°C kemudian diserbuk, diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ekstrak etanol daun inggu adalah ekstrak hasil maserasi serbuk daun inggu menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan dengan evaporator sampai kental.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar, usia 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram.

Aktivitas analgesik metode *tail flick* dinyatakan sebagai kemampuan dari ekstrak etanol daun inggu dalam menghambat nyeri dengan respon penarikan ekor pada tikus.

Aktivitas analgesik metode *writhing test* yang menunjukkan respon geliat yang ditunjukkan dengan lompatan, penarikan kedua kaki ke belakang, kontraksi perut serta abdomen menyentuh dasar pijakan yang dihasilkan setelah diinduksikan asam asetat.

C. Alat dan Bahan

1. Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah blender atau penggiling sampel, ayakan nomor 40, oven, beaker glass, gelas ukur, corong pisah, Erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, botol maserasi, *rotary*

evaporator, kertas saring, *moisture balance*, kain flanel, timbangan analitik, spuit injeksi, jarum sonde, sarung tangan, *stopwatch*, seperangkat alat *tail flick analgesy-meter*.

2. Bahan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan galur wistar dengan umur 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun inggu segar berwarna hijau, tidak berubah warna yang didapatkan dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah. Asam mefenamat sebagai kontrol positif di peroleh dari PT. Dexamedica Palembang, CMC Na, aquadestilata atau air suling, etanol 96%, dan asam asetat glasial 0,5%.

D. Jalannya penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi ini bertujuan untuk mengidentifikasi tanaman inggu dengan menetapkan kebenaran sampel daun inggu berdasarkan ciri-ciri morfologi tanaman.

2. Penyiapan dan pengumpulan bahan

Daun inggu yang diambil dari Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Oktober 2017. Daun inggu yang diambil adalah daun yang masih segar, berwarna hijau, dan tidak berubah warna (daunnya). Pengeringan daun inggu dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Daun inggu yang sudah kering dicuci bersih kemudian dihaluskan dengan penggilingan sampel. Serbuk yang dihasilkan kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 hingga didapatkan serbuk halus.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu

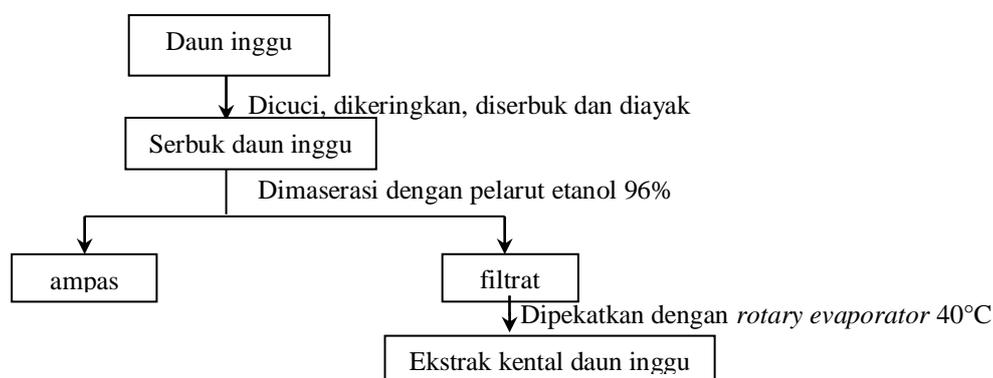
Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk dan ekstrak daun inggu ditimbang masing-masing sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* pada suhu 105°C dan ditunggu sampai muncul angka dalam (%), kemudian ditimbang, dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Angka yang tertera pada alat *moisture balance* adalah

hasil (%) susut pengeringan yang dihasilkan oleh serbuk ataupun ekstrak dari daun inggu, kadar lembab dalam serbuk simplisia tidak lebih dari 10 %.

4. Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun inggu

Ekstrak etanol daun inggu dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk daun inggu ditimbang sebanyak 150 gram, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 1125 ml. Botol maserasi disimpan dalam suhu ruangan, dihindari dari sinar matahari langsung dan digojog secara konstan setiap 3 kali sehari. Setelah 5 hari hasil rendemen di saring dengan menggunakan kain flanel dan kertas saring, kemudian ampas ditambah etanol 96% sebanyak 375 ml kemudian disaring dengan kain flanel dan kertas saring. Ekstrak cair dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak kental, kemudian dihitung (%) rendemen, dengan rumus berikut:

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



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol daun inggu

5. Uji bebas etanol

Ekstrak daun inggu bebas etanol dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Universitas Setia Budi. Ekstrak daun inggu diuji bebas etanol untuk mengetahui apakah ekstrak daun inggu benar-benar bebas dari etanol. Ekstrak daun inggu diuji bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH kemudian dipanaskan, hasil uji bebas etanol dalam ekstrak daun inggu ditandai dengan tidak ada bau ester yang khas dari etanol.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun inggu

6.1 Flavonoid. Ekstrak daun inggu ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol: HCL (1:1) dan pelarut amil alkohol, kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995).

6.2 Tanin. Sejumlah ekstrak ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1 %. Jika hasil positif maka akan terbentuk warna hijau kehitaman (Franswort 1996; Noer & Pratiwi 2016).

6.3 Saponin. Ekstrak dari daun inggu ditimbang sebanyak 5 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan air panas sebanyak 10 ml, didinginkan lalu dikocok kuat dan ditambahkan 2 tetes HCL, jika terdapat buih menunjukkan positif saponin (Maligan 2014)

6.4 Steroid. Sejumlah ekstrak ditambahkan 1 ml larutan asam asetat anhidrat dan 1 ml larutan H_2SO_4 pekat. Munculnya warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

7. Pembuatan larutan dan penetapan dosis

7.1 Larutan CMC-Na 1%. Menimbang 1 gram CMC-Na dimasukkan dalam cawan penguap kemudian ditambahkan air suling secukupnya dan dipanaskan sampai mengembang kemudian dipindahkan ke dalam mortir dan digerus sambil menambahkan air suling sedikit demi sedikit sampai 100 ml dan diaduk sampai homogen.

7.2 Pembuatan suspensi asam mefenamat 1%. Larutan asam mefenamat 1% dibuat dengan menimbang serbuk asam mefenamat sebanyak 1 g dan ditambahkan sedikit demi sedikit CMC-Na 1% sambil diaduk hingga volume 100 ml.

7.3 Pembuatan sediaan uji 2%. Ekstrak dari daun inggu ditimbang 2 gram, lalu digerus dalam mortir setelah itu ditambahkan mucilago CMC-Na sampai volume 100 ml dan diaduk sampai homogen.

7.4 Pembuatan induksi asam asetat glasial 0,5% (v/v). Asam asetat sebanyak 0,5 ml dilarutkan dalam labu takar hingga volume 100 ml dengan air suling.

7.5 Penetapan dosis asam mefenamat. Asam mefenamat digunakan sebagai kontrol positif sehingga harus memberikan pengurangan respon. Dosis yang diujikan adalah dosis pada manusia normal yaitu 500 mg/ Kg BB manusia yang kemudian dikonversikan pada tikus diperoleh dosis 9 mg/ 200 g BB. Hasil konversi digunakan sebagai kontrol positif.

7.6 Penetapan dosis ekstrak. Berdasarkan penggunaan empiris untuk penghilang rasa nyeri digunakan segenggam daun inggu yang setara dengan 3 gram (Hariana 2013). Penetapan dosis dalam penelitian ini merupakan hasil konversi dari daun inggu. Berat segenggam daun adalah 3 gram, sehingga didapatkan dosis 0,481 gram/70 Kg BB, kemudian dikoversikan ke tikus 0,018 maka, dosis untuk tikus = $0,481 \text{ gram} \times 0,018 = 0,0086 \text{ gram}$ (8,6 mg/ 200 gram BB). Dosis yang digunakan dalam penelitian yaitu $\frac{1}{2}$ x dosis empiris, 1 x dosis empiris dan 2 x dosis empiris yaitu 5 mg/ 200 g BB , 10 mg/ 200 g BB , 20 mg/ 200 g BB

8. Uji efek analgesik metode *tail flick*

Mencit yang telah diaklimatisasikan selama ± 18 jam dikelompokkan menjadi 5 kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok uji tersebut adalah sebagai berikut:

Kelompok 1 : Kontrol negatif yang diberikan per oral larutan CMC-Na 1%.

Kelompok 2 : Kontrol positif yang diberikan per oral larutan asam mefenamat 9 mg/200 g BB.

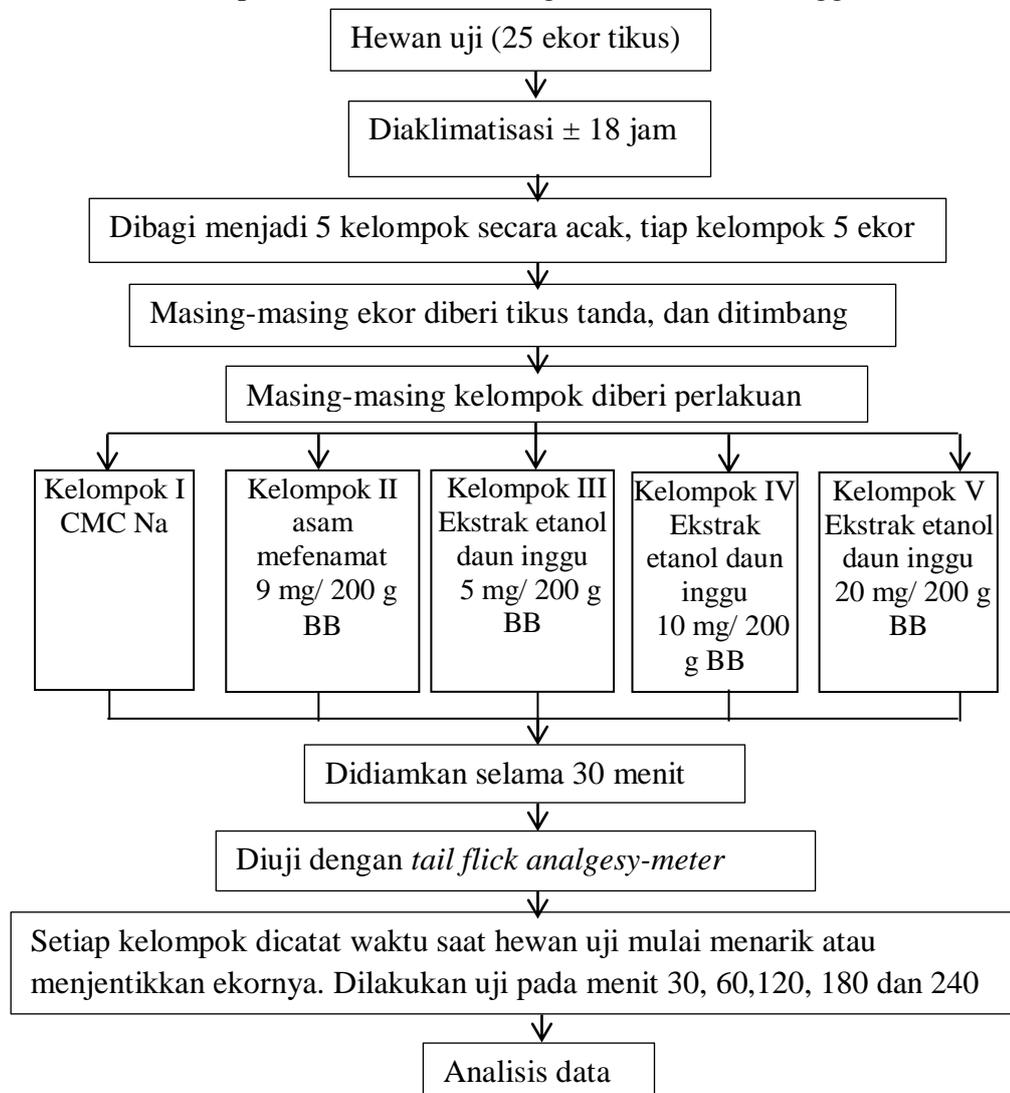
Kelompok 3 : Pemberian dosis mg 5 mg/200 g BB ekstrak daun inggu yang diberikan per oral pada tikus.

Kelompok 4 : Pemberian dosis mg 10 mg/200 g BB ekstrak daun inggu yang diberikan per oral pada tikus.

Kelompok 5 : Pemberian dosis 20 mg/200 g BB ekstrak daun inggu yang diberikan per oral pada tikus.

Sediaan hewan uji diberikan larutan uji, hewan uji dihitung terlebih dahulu t_0 nya, kemudian hewan uji diberikan larutan uji sesuai dengan kelompoknya, 30 menit kemudian diberi thermal berupa panas pada temperatur 70°C yang diperoleh dari aliran listrik pada hewan selanjutnya hewan tersebut diuji menggunakan *tail flick analgesy-meter*, kemudian di catat waktu hewan uji menarik atau menjentikkan ekornya. Pengujian dilakukan pada menit 30, 60, 120, 180 dan 240.

Skema penelitian aktivitas analgesik ekstrak daun inggu.



Gambar 4. Uji analgesik metode *tail flick*

9. Prosedur pengujian efek analgesik metode *writhing test*

Sebanyak dua puluh lima ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok secara acak pada tiap metode dan dipuaskan selama 10 jam dengan tetap diberi minum.

Kelompok I CMC Na (kontrol negatif)

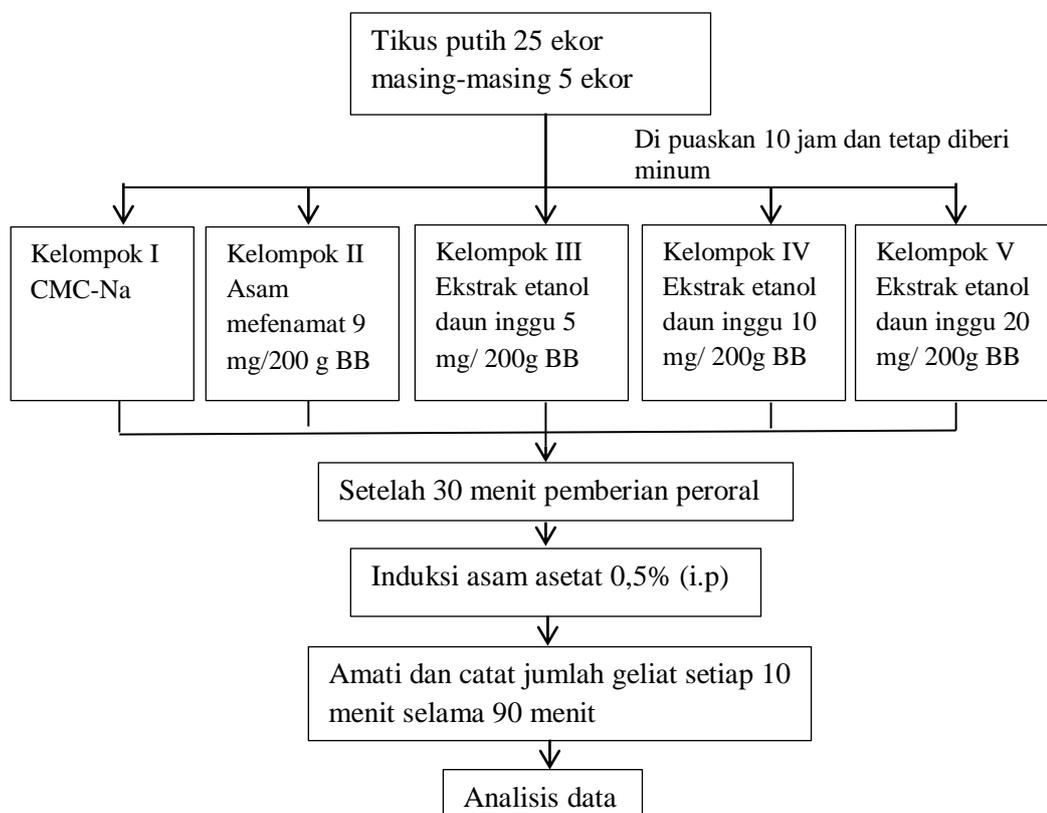
Kelompok II asam mefenamat (kontrol positif) dosis 9 mg/200 g BB

Kelompok III ekstrak etanol daun inggu dosis 5 mg/ 200 g BB

Kelompok IV ekstrak etanol daun inggu dosis 10 mg/ 200 g BB

Kelompok V ekstrak etanol daun inggu dosis 20 mg/ 200 g BB

Setelah diberi perlakuan dosis tunggal peroral, 30 menit kemudian tikus diberi perangsang nyeri berupa asam asetat glasial 0,5 % sebanyak 0,6 ml dengan cara penyuntikan intraperitoneal (i.p) dan diletakkan pada tempat pengamatan. Jumlah geliat dihitung pada masing-masing kelompok perlakuan. Satu geliat ditandai dengan kaki dan tangan tikus ditarik kedepan dan kebelakang dengan disertai abdomen yang menyentuh lantai. Kemudian diamati dan dicatat jumlah geliat yang ditunjukkan hewan uji setiap 10 menit selama 90 menit.



Gambar 5. Uji analgesik metode *writhing test*

10. Perhitungan persen daya analgesik

10.1 Metode *tail flick*. Menurut Budiati *et al.* (2010), Perhitungan persen daya analgesik metode *tail flick* dinyatakan dengan persen hambatan nyeri (PHN) yang dihitung dengan rumus:

$$\text{PHN} = (T_2.T_1)/T_1 \times 100\%$$

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

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

10.2 Metode *writhing test*. Pengaruh pemberian ekstrak terhadap efek analgesik, dilakukan dengan menghitung jumlah rata-rata respon geliat. Setelah didapat jumlah rata-rata respon geliat, kemudian dibuat kurva perbandingan rata-rata respon geliat versus waktu uji. Kemudian dihitung AUC (*Area under the curve*) yaitu luas daerah rata-rata di bawah kurva yang merupakan hubungan rata-rata respon geliat tiap satuan waktu. Dengan rumus :

$$\text{AUC}_{n-1}^n = \frac{Wt_{n-1} + Wt_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Keterangan :

Wt_{n-1} : respon rata-rata geliat pada t_{n-1}

Wt_n : respon rata-rata geliat pada t_n

Besarnya penghambat jumlah geliat dihitung dengan persamaan Handerson dan Forsaith, yaitu:

$$\% \text{ daya analgesik} = (100 - [(P/K) \times 100])\%$$

P = Jumlah rata-rata kumulatif geliat hewan uji kelompok perlakuan

K = Jumlah rata-rata kumulatif geliat hewan uji kontrol negatif.

E. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah waktu reaksi respon hewan uji (dalam detik). Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Harga rata-rata (*Mean*) dan Standar Deviasi (SD) setiap kelompok dicatat. Dianalisa dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data terdistribusi normal, dan uji *lavene* untuk mengetahui homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan Analisis Variasi Satu

Arah (*One Way Anova*) dan uji *Post Hoc*. Jika data tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Man-Whitney*, sehingga dapat diketahui perbedaan antara kelompok.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers)

1. Hasil determinasi tanaman inggu

Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan dalam suatu penelitian dengan menggunakan sampel berupa tanaman dan penggunaan pada beberapa bagian dari tanaman tersebut. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian berdasarkan ciri morfologi. Determinasi tanaman inggu dilakukan di Universitas Sebelas Maret dengan berpedoman buku *Flora of Java* (Backer C.A. & Brink R.C.B 1965). Berdasarkan determinasi No : 198/UN27.9.6.4/Lab/2017 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman inggu. Hasil determinasi tanaman inggu adalah sebagai berikut: 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a – 78b – 103c – 104b – 106b – 107a – 108b – 109b – 134a – 135b – 136b – 137a – 138c – 139b – 140a – 141b – 142b – 143b – 147b – 156b – 157a – 158b – 160a – 161a. Familia 133. Rutaceae 1b – 2b – 5b – 9a – 10b. 5 Ruta 1. *Ruta angustifolia* [L.] Pers. Hasil determinasi dapat dilihat dalam lampiran 1.

2. Pengumpulan tanaman dan pengeringan daun inggu

Tanaman inggu yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh secara acak dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Oktober 2017. Pengumpulan daun inggu dalam kondisi segar, berwarna hijau dan bebas dari hama, daun inggu yang akan digunakan dicuci bersih, ditiriskan agar bebas dari sisa kotoran, dikeringkan dalam oven pada suhu 50⁰C. Menurut Henderson dan Perry (1976) tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi aktivitas mikroba yang dapat merusak komponen kimia dalam daun agar dapat disimpan dalam waktu yang

cukup lama. Berdasarkan tabel 1, rendemen hasil pengeringan daun inggu diperoleh 30%. Perhitungan rendemen terdapat pada lampiran 8.

Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Berat daun basah (g)	Berat daun kering (g)	Rendemen (%) b/b
1.250	375	30%

3. Hasil pembuatan serbuk daun inggu

Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif dan ukuran partikel tidak boleh terlalu kecil sebab dikhawatirkan pada saat penyaringan kemungkinan partikel yang terlalu kecil akan lolos dari kertas saring. Berdasarkan tabel 2, rendemen serbuk simplisia yang diperoleh sebesar 70,93%. Perhitungan persen rendemen terdapat pada lampiran 8.

Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%) b/b
375	266	70,93%

B. Ekstraksi Daun Ingg

1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun inggu

Serbuk daun inggu yang diperoleh diekstraksi dengan pelarut 96% karena bersifat selektif, tidak beracun, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Metode yang digunakan adalah maserasi. Maserasi yang diperoleh dipekatkan dengan *ratori evaporator* pada suhu 40°C sampai didapatkan ekstrak yang pekat. Hasil ekstrak daun inggu diperoleh dari proses maserasi menggunakan etanol 96% memiliki rendemen sebesar 16,03% dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun inggu

Serbuk daun inggu (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
150	24,04	16,03%

2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu

Serbuk dan ekstrak daun inggu diukur susut pengeringannya dengan menggunakan alat *moisture balance* pada suhu pemanasan 105°C. Tujuan susut

pengeringan adalah untuk mengetahui besarnya kadar air hilang pada proses pengeringan (Setya *et.al* 2017)

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun inggu

Bahan	Replikasi	Susut pengeringan (%)	Rata-rata susut pengeringan (%) \pm SD
Serbuk daun inggu	1	3,5%	3,5% \pm 0,00
	2	3,5%	
	3	3,5%	
Ekstrak daun inggu	1	7,8%	7,8% \pm 0,00
	2	7,8%	
	3	7,8%	

Tabel 4 menunjukkan rata-rata hasil penetapan susut pengeringan untuk serbuk dan ekstrak daun inggu memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10% (Kemenkes 2013).

4. Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun inggu

Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak daun inggu dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam daun inggu. Berdasarkan dari hasil identifikasi ekstrak daun inggu didapatkan hasil bahwa ekstrak daun inggu mengandung senyawa Flavonoid, steroid, dan tanin (Tabel 5) dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil identifikasi senyawa penelitian ini sama seperti literatur yang telah diketahui yaitu Depkes RI (1995); Robinson (1995); Noer & Pratiwi (2016).

Tabel 5. Hasil uji fitokimia ekstrak daun ingu

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan ekstrak
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	Terbentuk Warna Jingga	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Air + HCL	Terbentuk busa	-
Steroid	Liebermann-Burchard	Terbentuk Warna Hijau	+

Keterangan

+ = mengandung senyawa

- = tidak mengandung senyawa

5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun inggu

Ekstrak daun inggu dilakukan uji esterifikasi etanol. Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak daun inggu dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun inggu

Hasil pustaka (Depkes RI 1979)	Hasil uji
Bila hasil positif tercium bau ester yang khas pada etanol	Tidak tercium bau etil asetat yang khas

Hasil tes bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun inggu telah bebas dari etanol 96% 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 yang akan diuji coba ke hewan percobaan.

C. Uji Efek Analgesik Ekstrak Daun Inggu

1. Pengujian aktivitas analgesik metode *tail flick*

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik dari ekstrak etanol daun inggu dengan mengukur kemampuan senyawa uji dalam mengatasi sensasi nyeri. Metode *tail flick* adalah metode yang menggunakan alat *analgesy-meter* dengan parameter yang digunakan adalah waktu reaksi yang menimbulkan respon nyeri pada ekor hewan uji, setelah ditempatkan dalam balok dengan lampu infrared panas agar ekor mendapatkan panas yang maksimal (Canon 2007). Pengujian aktivitas analgesik ekstrak daun inggu diuji pada tikus putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150–200 gram. Bahan uji yang digunakan adalah larutan CMC Na, larutan suspensi asam mefenamat dan larutan ekstrak etanol daun inggu. Penggunaan larutan dibuat suspensi karena tidak dapat larut sempurna dalam air, sehingga ditambah dengan CMC Na sebagai emulgator.

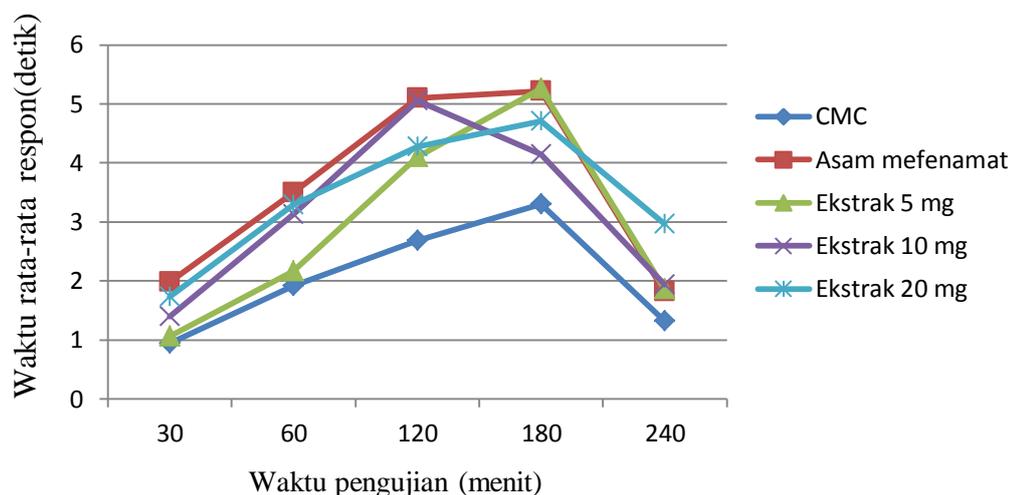
Asam mefenamat merupakan kontrol positif karena dapat digunakan sebagai analgesik, selain itu juga mempunyai efek samping yang ringan dibandingkan obat golongan NSAID lainnya (Tjay & Rahadja 2002). Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan. Pemilihan jenis kelamin jantan dikarenakan kondisi biologis lebih stabil, tidak mudah stres dan pengaruh hormonal (Harmita 2005). Alat yang digunakan dalam pengujian aktivitas analgesik adalah *tail flick analgesy-meter*, salah satu faktor yang mempengaruhi

penggunaan alat tersebut adalah kondisi hewan uji serta ketepatan dalam membaca waktu yang muncul setelah hewan uji menimbulkan efek nyeri.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok I sampai kelompok 5 diberikan perlakuan secara oral dengan berturut-turut, kemudian dilakukan pengujian efek analgesik menggunakan alat *tail flick analgesy-meter* sampai perlakuan mengibaskan ekornya. Pengujian aktivitas analgesik didapatkan data kuantitatif rata-rata waktu (detik) hewan uji dapat menahan rangsangan nyeri dan SD, hasil dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 6.

Tabel 7. Rata-rata waktu (detik) respon hambatan nyeri

Kelompok	Rata-rata±SD (detik) respon hambatan nyeri				
	Menit ke-30	Menit ke-60	Menit ke-120	Menit ke-180	Menit ke-240
CMC- Na	0,94±0,67	1,92±0,73	2,68±0,98	3,30±1,66	1,32±1,28
Asam mefenamat	1,98±1,67	3,50±1,17	5,10±1,60	5,22±2,19	1,82±1,26
Ekstrak dosis 5 mg/200 g BB	1,06±0,72	2,16±0,93	4,10±1,45	5,26±1,62	1,86±1,21
Ekstrak dosis 10 mg/200 g BB	1,40±0,76	3,13±1,54	5,05±2,72	4,15±1,32	1,94±1,27
Ekstrak dosis 20 mg/200 g BB	1,73±1,10	3,29±2,23	4,27±1,73	4,71±1,93	2,97±1,83



Gambar 6. Rata-rata waktu (detik) respon hambatan nyeri

Berdasarkan gambar 6 menunjukkan hasil secara keseluruhan pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan hambatan nyeri. Kelompok kontrol negatif menghasilkan rata-rata nilai respon hambatan nyeri yang paling rendah

dibandingkan dengan kelompok kontrol lain. Hal ini sejalan dengan penelitian Wagh *et al.* (2006) bahwa dalam penelitiannya menunjukkan CMC Na sebagai kelompok kontrol tidak memiliki kemampuan dalam meningkatkan hambatan nyeri dengan kelompok kontrol lainnya. Hal ini diakibatkan karena dalam CMC Na tidak terkandung zat aktif yang mampu menghambat rasa nyeri, sehingga tidak mampu menahan nyeri yang lebih lama.

Kelompok kontrol positif yang diberi asam mefenamat terlihat pada menit ke-30 mampu menghasilkan peningkatan hambatan nyeri yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, pada menit-30 kontrol positif (asam mefenamat) ekstrak etanol daun inggu dosis 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB, dan 20 mg/ 200 g BB memiliki rata-rata waktu reaksi yang tinggi dari kontrol negatif setelah pemberian obat secara oral. Hal ini menunjukkan bahwa asam mefenamat dan kelompok ekstrak daun inggu mempunyai efek analgesik pada waktu yang sama. Asam mefenamat pada menit ke 30 sampai menit ke 180 memberikan efek analgesik yang meningkat, hal ini karena asam mefenamat mencapai kadar puncak plasma dalam waktu 30-60 menit dan mempunyai waktu paruh yang pendek yaitu 1-3 jam (Tjay dan Kirana 2002; Katzung 2002). Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat sintesa prostaglandin dengan menghambat kerja enzim *cyclooxygenase* (COX-1 dan COX-2) sehingga mampu memberikan efek analgesik yang baik (Katzung 2002).

Kelompok kontrol perlakuan yang diberi sediaan uji ekstrak etanol daun inggu rata-rata peningkatan hambatan nyeri mulai terlihat pada menit ke-30, namun jika dibandingkan dengan kontrol negatif menurut hasil uji statistik LSD ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB belum mampu menghambat nyeri pada menit ke-30, tetapi pada ekstrak dosis 10 mg/ 200 g BB dan 20 mg/ 200 g BB mempunyai efek analgesik pada menit ke-30 yang berarti kedua dosis tersebut mampu menghambat nyeri pada menit tersebut. Ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB mempunyai efek analgesik pada menit ke-120 karena mengalami peningkatan ambang nyeri hingga mampu menahan nyeri yang lebih besar, hal ini disebabkan karena adanya hambatan rangsangan nyeri pada menit ke-120 dan selanjutnya penurunan ambang nyeri terjadi pada menit ke-180 hingga menit akhir ke-240. Berbeda

dengan ekstrak dosis 10 mg/ 200 g yang mempunyai waktu onset analgesik yang cepat dan terlihat efek analgesiknya pada menit ke-30, namun mempunyai durasi yang pendek terlihat dari penurunan ambang nyeri yang terjadi dari menit ke-60 sampai menit ke-180 dengan hasil rata-rata hambatan nyeri yang dihasilkan lebih kecil dari pada hasil rata-rata hambatan nyeri yang dihasilkan pada ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB dan 20 mg/ 200 g BB pada menit yang sama. Hal ini disebabkan oleh respon alami tubuh saat mengalami nyeri, karena dalam tubuh mempunyai analgesik alami yaitu endorphin, sehingga tubuh akan beradaptasi dengan stimulus nyeri yang akan menyebabkan peningkatan kekuatan nyeri dalam menahan rasa sakit (Goodman and Gilman 2006). Kelompok perlakuan pada ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB juga mengalami peningkatan hambatan nyeri dari menit ke-30 hingga menit ke-120, namun efek analgesik yang dimunculkan oleh ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB terlihat pada waktu yaitu menit ke-30 dan 120. Peningkatan hambatan nyeri yang terjadi dan efek analgesik yang dimunculkan berbeda pada masing-masing dosis ekstrak, ini menyatakan adanya pula daya efek analgesik yang berbeda.

Aktivitas analgesik dinyatakan dalam persen hambatan nyeri berdasarkan rumus menurut Budiati *et al.* (2010), untuk mendapatkan data waktu reaksi hambatan nyeri dengan hasil pada kelompok perlakuan. Hasil dapat dilihat pada tabel 8 dan perhitungan persentase hambatan nyeri pada lampiran 13.

Tabel 8. Persentase Hambatan Nyeri (PHN)

Kelompok uji	Persentase hambatan nyeri % (rata-rata±SD)
Kontrol negatif (CMC Na 1%)	-
Kontrol positif (Asam mefenamat)	74,910±12,87
Ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB	42,458±15,56*
Ekstrak dosis 10 mg/ 200 g BB	52,774±9,31*
Ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB	68,912±18,54

Keterangan :

* = Berbeda bermakna dengan kontrol positif dengan uji LSD

Persentase peningkatan hambatan nyeri adalah besarnya kemampuan senyawa uji dalam mengatasi rasa nyeri akibat reaksi yang diberikan semakin besar dosis maka semakin lama juga reaksi yang mampu ditahan oleh hewan uji selama disinari oleh alat *tail flick meter*. Menurut Sirait *et al.* (1993), daya

aktivitas analgesik pada sediaan uji ditunjukkan dengan persentase hambatan nyeri yang diberikan lebih besar atau sama dengan 50% dari kelompok kontrol negatif, maka dianggap efektif sebagai analgesik. Hasil uji statistik menunjukkan persentase hambatan nyeri terdistribusi normal dengan nilai signifikan 0,651(>0,05) dan homogen dengan nilai signifikan 0,152(>0,05). Hasil uji dari *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikan 0,000(<0,05) dilanjutkan dengan uji *LSD* hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun inggu dosis 10 mg dan 20 mg / 200 g BB berbeda bermakna dengan kontrol negatif CMC Na, sehingga membuktikan bahwa pada ekstrak daun inggu mempunyai efek sebagai analgesik. Kelompok ekstrak etanol daun inggu dosis 20 mg/ 200 g BB sebanding dengan kelompok kontrol positif asam mefenamat. Hal tersebut dapat diasumsikan bahwa pada dosis 20 mg/ 200 g BB tersebut memiliki lebih banyak kandungan senyawa yang aktif.

Menurut Permatasari (2013) salah satu kandungan daun inggu adalah kuersetin. Penelitian Shuib *et al.* (2015) menyatakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam daun inggu juga memiliki peran penting sebagai antiinflamasi dan kemungkinan besar juga memiliki efek sebagai analgesik. Di antara senyawa-senyawa tersebut, yaitu steroid, flavonoid, dan tanin mempunyai bermacam-macam efek yaitu antitumor, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antifungi, dan antidiare (Syukri 2008; Soeksmanto 2006; Hosseinzadeh *et al.* 2002). Steroid bekerja dengan cara menghambat fosfolipase dan mencegah pelepasan asam arakhidonat serta memblokir jalur siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga pembentukan prostaglandin maupun leukotrien terhambat (Katzung 2002; Tjay dan Rahardja 2007). Penelitian Deb *et al.* (2010) menyatakan bahwa flavonoid dan tanin bekerja dengan menghambat sintesa prostaglandin. Mekanisme kerja flavonoid sebagai analgesik adalah dengan cara menghambat kerja enzim siklooksigenase yang akan mengurangi produksi prostaglandin sehingga dapat mengurangi rasa nyeri (Gunawan dan Mulyani 2004). Mekanisme flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu penghambatan

aktivitas enzim COX dan lipooksigenase secara langsung juga menghambat biosintesis eikosanoid dan leukotrien yang merupakan produk akhir jalur COX dan lipooksigenase (Dewi 2013).

2. Pengujian aktivitas analgesik metode *writhing test*

Pengujian ini dilakukan untuk mengukur efek analgesik dari ekstrak etanol daun inggu dengan tiga variasi dosis yang sama dengan metode sebelumnya. Metode *writhing test* yaitu suatu obat uji dinilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi secara kimia pada hewan percobaan. Rasa nyeri pada hewan percobaan diperlihatkan dalam bentuk respon gerakan menggeliat (kaki ditarik ke belakang hingga abdomen menyentuh lantai) (Koster *et al.* 1959, diacu dalam Fajriani 2017). Metode *writhing test* digunakan untuk pengujian analgesik non narkotik. Prinsip metode ini adalah mengamati penurunan jumlah geliat yang terjadi akibat pemberian zat uji pada tikus yang diberi larutan asam asetat 0,5% v/v. Asam asetat dipilih karena dapat memberikan rangsangan nyeri yang cukup baik terhadap hewan uji dengan cara memicu respon inflamasi lokal hasil pelepasan asam arakhidonat bebas dari jaringan fosfolipid melalui siklooksigenase (COX), dan biosintesis prostaglandin, peningkatan kadar prostaglandin dari induksi asam asetat meningkatkan nyeri inflamasi dengan meningkatkan permeabilitas kapiler dalam rongga peritoneum. Respon nyeri yang diberikan ditandai dengan geliat berupa penarikan kedua tangan dan kaki hewan uji ke depan dan belakang serta abdomen yang menyentuh lantai (Mohan *et.al* 2009). Efek analgesik dapat ditunjukkan dengan berkurangnya respon geliat yang ditimbulkan oleh tikus. Metode ini digunakan untuk mendapatkan efek analgesik dari suatu sediaan untuk rangsangan perifer (Vivancos *et al.* 2004; Hastuti dan Safitri 2015).

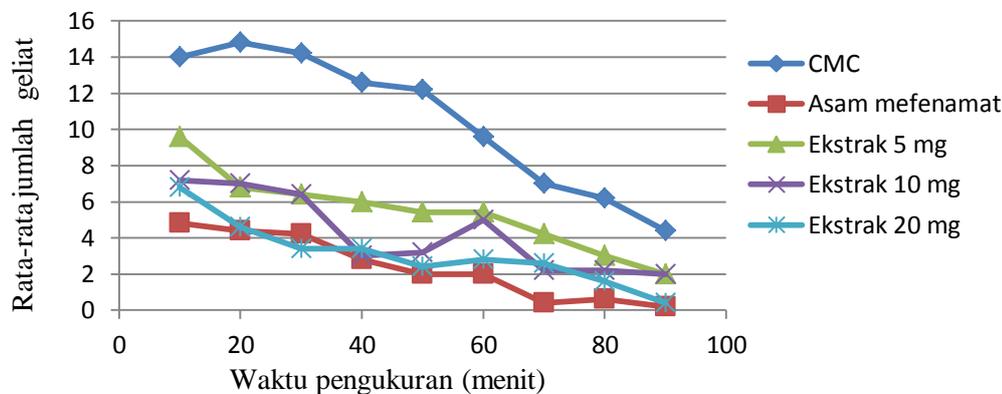
Pada pengujian ini diberikan sediaan uji ekstrak etanol daun inggu dengan tiga variasi dosis seperti yang dilakukan pada metode *tail flick* yaitu dengan dosis ekstrak 5 mg, 10 mg dan 20 mg/ 200 g BB. Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian ini adalah asam mefenamat dengan dosis 9 mg/ 200 g BB, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah CMC Na 1%. Pengamatan dilakukan selama 90 menit dengan interval tiap 10 menit. Kemudian dicatat jumlah geliat

yang ditimbulkan. Satu geliat ditandai dengan berupa penarikan kedua tangan dan kaki hewan uji ke depan dan ke belakang, serta abdomen menyentuh lantai. Hasil pengamatan memberikan data berupa jumlah geliat yang selanjutnya diolah untuk menentukan nilai persentase ambang nyeri.

Hasil rata-rata jumlah geliat pada kelompok perlakuan tiap waktu dapat dilihat pada tabel 9 dan gambar 7 serta lampiran 14.

Tabel 9. Data rata-rata jumlah geliat

Kelompok	Rata-rata jumlah geliat menit ke-								
	X±SD								
	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'
CMC Na 1%	15±5,10	15,6±3,05	14,4±4,10	13±4,53	12,6±5,59	10,4±5,32	7,2±2,59	6,6±6,31	4,6±3,91
Asam mefenamat 9 mg/ 200 g BB	4,8±1,30	4,4±2,30	4,2±0,84	2,8±1,92	2,0±2,00	2,0±1,58	0,4±0,89	0,6±1,34	0,2±0,45
Ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB	9,6±3,13	6,8±3,42	6,4±1,82	6,0±2,00	5,4±2,19	5,4±3,51	4,2±2,28	3,0±1,87	2,0±1,92
Ekstrak dosis 10 mg/ 200 g BB	7,2±2,39	7,0±2,00	6,4±2,70	3,0±2,45	3,2±2,17	5,0±0,71	2,2±1,79	2,2±1,64	2,0±1,58
Ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB	6,8±3,27	4,6±0,55	3,4±2,61	3,4±1,14	2,4±1,34	2,8±0,84	2,6±2,07	1,6±1,14	0,4±0,55



Gambar 7. Grafik data rata-rata jumlah geliat

Gambar 7 menunjukkan hasil penurunan jumlah geliat pada semua kelompok perlakuan dan pengukuran dimulai pada menit ke 10. Hal ini disebabkan karena asam asetat mempunyai onset yang sangat cepat yaitu sekitar 5 menit (Sujono *et al.* 2007). Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan CMC Na 1% tidak mempunyai kemampuan dalam menangani nyeri karena tidak mengandung zat aktif terbukti dari rata-rata jumlah geliat yang dihasilkan paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol

perlakuan. Menurut Syamsul *et al.* (2016) pada pengujian dengan menggunakan kelompok kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan ada tidaknya aktivitas analgesik terhadap kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol perlakuan serta memastikan bahwa penurunan jumlah geliat hanya disebabkan oleh pemberian sediaan uji.

Kelompok kontrol positif yang diberikan asam mefenamat menunjukkan terjadi penurunan respon rata-rata geliat hewan uji terhadap rangsangan nyeri. Efek analgesik pada kelompok kontrol positif mulai terlihat pada menit ke-10 karena terjadi penurunan respon rata-rata geliat sampai menit ke-20. Namun, respon rata-rata geliat meningkat kembali pada menit ke-30. Menurut Setiawan (2010) penurunan efek obat merupakan konsentrasi dari penyerapan yang jelek pada saluran cerna, pembuluh darah atau peningkatan pada sekresi melalui ginjal. Pada menit ke-40 efek analgesik meningkat kembali dan respon rata-rata geliat menurun hingga mencapai menit ke-90. Berdasarkan uji statistik LSD, dari uji penelitian ini diketahui terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif (asam mefenamat) dengan kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%) karena terlihat bahwa respon rata-rata geliat yang ditimbulkan oleh kelompok kontrol positif lebih sedikit yang berarti asam mefenamat mempunyai efek analgesik yang baik. Mekanisme kerja asam mefenamat adalah dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase (Goodman and Gilman 2007; Marlyne 2012).

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun inggu dengan tiga variasi dosis berbeda respon geliat ditimbulkan pada menit ke-10. Ketiga variasi dosis yang berbeda mengalami penurunan respon rata-rata geliat. Ekstrak etanol daun inggu pada dosis 5 mg/200 g BB mengalami penurunan respon rata-rata geliat sampai menit ke-50 dan meningkat pada menit ke-60 dan setelah efek analgesik terlihat lagi hingga menit akhir. Berbeda dengan ekstrak dosis 10 mg/200 g BB efek analgesik terlihat sampai menit ke-50 hingga mengalami kenaikan respon geliat pada menit ke-60. Kelompok kontrol perlakuan ekstrak etanol daun inggu dengan dosis 20 mg/200 g BB terjadi penurunan respon rata-rata geliat hingga menit ke-50 yang selanjutnya kenaikan respon rata-rata geliat terjadi pada menit ke-60 dan efek analgesik terlihat kembali dari menit ke-80 hingga menit ke-

90 karena terjadi penurunan respon rata-rata geliat. Penurunan respon geliat menunjukkan adanya hambatan rangsang nyeri.

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan metode *writhing test* terlihat bahwa semua pemberian dosis ekstrak menghasilkan rata-rata respon geliat sebanding dengan kontrol positif. Rata-rata daya respon geliat digunakan untuk menghitung AUC dan persentase inhibisi geliat sebagai daya analgesik yang dapat dilihat pada tabel 10 pada lampiran 15 dan 16.

Tabel 10. Persentase daya analgesik

Kelompok uji	Rata-rata AUC total	Persentase % daya analgesik (rata-rata±SD)
CMC Na 1%	896,00	-
Asam mefenamat 9 mg/200g BB	189,00	77,81±5,36 ^a
Ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB	427,00	48,40±8,32 ^{ab}
Ekstrak dosis 10 mg/ 200 g BB	336,00	58,92±8,63 ^{ab}
Ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB	245,00	70,34±6,02 ^a

Keterangan :

a = Berbeda bermakna dengan kontrol negatif dengan uji LSD

b = Berbeda bermakna dengan kontrol positif dengan uji LSD

Pada tabel 10 menunjukkan total AUC dari masing-masing perlakuan berkaitan dengan kadar obat dalam darah yang diberikan setelah perlakuan. AUC dipengaruhi oleh proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Proses absorpsi berkaitan dengan kelarutan suatu obat. Proses distribusi berkaitan dengan jumlah obat yang diberikan sehingga, akan mempengaruhi banyaknya suatu obat yang dibawa oleh aliran darah ke seluruh tubuh. Proses metabolisme berkaitan dengan intensitas aksi obat yang berkaitan dengan protein plasma. Proses ekskresi berkaitan dengan banyaknya suatu obat yang dikeluarkan melalui urine. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun inggu yang diberikan maka persen daya analgesiknya berkurang. Persentase daya analgesik merupakan koaktivitas peningkatan ambang nyeri dengan besarnya kemampuan senyawa uji dalam menghambat nyeri akibat induksi asam asetat, sehingga dengan dosis besar memberikan respon geliat yang kecil yang ditimbulkan oleh hewan uji.

Dari hasil uji statistik persentase peningkatan daya analgesik menunjukkan terdistribusi normal dengan nilai signifikansi 0,188(>0,05) dan homogen dengan nilai signifikan 0,060(>0,05). Hasil uji dari *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikan 0,000(<0,05) dilanjutkan dengan uji LSD hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun inggu dosis 10 mg dan 20 mg / 200 g BB berbeda bermakna dengan kontrol negatif CMC Na, sehingga membuktikan bahwa pada ekstrak daun inggu mempunyai efek sebagai analgesik. Kelompok ekstrak etanol daun inggu dosis 20 mg/ 200 g BB sebanding dengan kelompok kontrol positif asam mefenamat. Hal tersebut dapat diasumsikan bahwa pada dosis 20 mg/ 200 g BB tersebut memiliki lebih banyak kandungan senyawa yang aktif. Menurut Permatasari (2013) daun inggu mengandung flavonoid (quesertin).

Berdasarkan uji identifikasi senyawa untuk metode *tail flick* dan *writhing test* didapatkan hasil positif daun inggu mengandung senyawa steroid, flavonoid, dan tanin, hal ini sesuai dengan penelitian Noer & Pratiwi (2016). Menurut penelitian Shuib *et al.* (2015) menyatakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam daun inggu juga memiliki peran penting sebagai antiinflamasi dan kemungkinan besar juga memiliki efek sebagai analgesik. Di antara senyawa-senyawa tersebut, yaitu steroid, flavonoid, dan tanin mempunyai bermacam-macam efek yaitu antitumor, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antifungi, dan antidiare (Syukri 2008; Soeksmanto 2006; Hosseinzadeh *et al.* 2002). Steroid bekerja dengan cara menghambat fosfolipase dan mencegah pelepasan asam arakhidonat serta memblokir jalur siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga pembentukan prostaglandin maupun leukotrien terhambat (Katzung 2002; Tjay dan Rahardja 2007). Hasil ekstrak tanaman dengan metode *writhing test* menunjukkan bahwa pengurangan rasa sakit dengan respon geliat mungkin terjadi karena adanya sifat analgesik pada ekstrak melalui penghambatan sintesa prostaglandin (Ferdous *et al.* 2008). Menurut Deb *et al.* (2010) dalam penelitiannya menyatakan bahwa flavonoid dan tanin bekerja

dengan menghambat sintesa prostaglandin. Mekanisme kerja flavonoid sebagai analgesik adalah dengan cara menghambat kerja enzim siklooksigenase yang akan mengurangi produksi prostaglandin sehingga dapat mengurangi rasa nyeri (Gunawan dan Mulyani 2004). Mekanisme flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu penghambatan aktivitas enzim COX dan lipooksigenase secara langsung juga menghambat biosintesis eikosanoid dan leukotrien yang merupakan produk akhir jalur COX dan lipooksigenase (Dewi 2013). Menurut Mohan *et al.* (2009) flavonoid juga bekerja menghambat degranulasi neutrofil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas, serta enzim yang berperan dalam peradangan. Tanin memiliki aktivitas analgesik dengan menghambat *cyclooxygenase-1* (Pan *et al.* 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan hasil bahwa:

Pertama, ekstrak etanol daun inggu pada dosis 5 mg/ 200 g BB, 10 mg/ 200 g BB dan 20 mg/ 200 g BB mempunyai aktivitas analgesik dengan metode *tail flick* dan *writhing test*.

Kedua, ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB mempunyai aktivitas analgesik yang optimal dan setara dengan kontrol positif.

B. Saran

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

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas analgesik daun inggu dengan menggunakan metode lain dengan cairan penyari lain, namun dengan dosis yang sama.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan senyawa apa saja yang berperan dalam aktivitas analgesik pada daun inggu.

Ketiga, perlu dilakukan pengujian toksisitas untuk menunjang keamanan penggunaan daun inggu dan batasan dosis yang digunakan.

Keempat, perlu dilakukan pengujian metode *tail flick* dengan kontrol positif golongan obat opioid (analgesik kuat).

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1986. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Edisi 3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakofe Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Farmakofe Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I Suplemen 3. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Al-Tahan FJ. (2012). Exploration of Antinociceptive, Antipyretic, Antiinflammatory Activities of Curcumin in Male Rat. *Iraqi Journal of Science*, 53(4), 786-793.
- Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*; Jakarta: Salemba Medika
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Ed 1-7. Jakarta: hlm 4-5.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi IV. Farida Ibrahim, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. hlm : 605-619.
- Anseloni VC, Ennis M, Lidow MS. 2003. *Optimization of the Mechanical Nociceptive Threshold Testing with the Randall-Selitto Assay*. *J. Neurosci Methods*. 131: 93-97.
- Aznam N, Sulistiowati E. (2001). *Kimia farmasi*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Budiati T, Suzana, Surdijati S. 2010. Sintesis uji aktivitas analgesik dan antiinflamasi senyawa benzoiltiouriea tersubsitusi. *Majalah Farmasi Indonesia* 21 (1): 68-97.
- Bule DE. 2014. *Uji Aktifitas Antiinflamasi Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Buah Takokak (Solanum torvum Swariz) pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi [Skripsi]*. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Canon JG. 2007. *Pharmacology for Chemists*. Second Edition. Oxford University Press.

- Deb D, Dev S, Das AK, Khanam H, Banu M, Shahriar M. 2010. Antinociceptive, Anti-inflammatory and Anti-diarrheal Activity of Erude Root Extract of *Lasia spinosa* Linn. (Araceae). *Latin Am J Pharm*; 29: 1269-1276.
- Dewi ET. 2013. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) secara Kolom Kromatografi. Surabaya: Universitas Katholik Widya Mandala.
- Fajriani NZ. 2017. Uji aktivitas analgesik dan skrining fitokimia ekstrak etanol 70% batang mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Fardhani LH. 2014. pengaruh metode secara infundusai dan maserasi daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) terhadap kadar flavonoid total.[Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Ferdous M, Rouf R, Shilpi JA, Uddin SJ. 2008 Antinociceptive activity of the Ethanolic Extract of *Ficus racemosa* Linn. (Moraceae). *Oriental Pharm Exp Med* 8: 93-96
- Goodman A, Gilman H. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. edisi 10. Siswah C. Elviana E. Syarief WR. Hanif A. Menurung J. penerjemah. Penerbit: Buku kedokteran EGC. Jakarta. Hlm 687. Terjemahan dari: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutic. 10th Ed.*
- Gunawan SG, Setiabudy Riyanto, Nafrialdi, Elysabeth. 2008. *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Departemen Farmakologi dan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi jilid ke-1*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9 & 106.
- Gupta S, Khadivar PV, Mathur KC. 2003. Topological Modelling of Analgesia. Dalam: Janda, KD, Bioorganic & Medical Chemistry, Oxford: Elsevier 11 (8).
- Guyton AC & Hall JE. 2012. *Sensasi Somatik: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Kesebelas. Jakarta : EGC pp. 625-37.
- Hardoyo, Agus ET, Dyah P, Hartono, Musa. 2007. Kondisi optimum fermentasi asam asetat menggunakan *Acetobacter aceti* B166. Universitas Lampung: Lampung. Jurnal Sains MIPA. Vol 13 No.1
- Hariana A. 2013. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harmita, Radji Maksum, Blumed M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 2*, Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

- Hastuti, S dan Safitri, I.A. 2015. Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Sligi (*Phyllanthus buxifolius* muell. Arg) Terhadap Mencit Galur Balb/C. *Indonesia Journal On Medical Science-volume 2 No. 1*.
- Hartwig MS, Wilsom LM. (2006). *Nyeri. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Vol. 2. Jakarta: EGC, 1063-1064, 1073 & 1075
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: EGC
- Henderson MS, dan Perry. (1976). *Agricultural Procces Engineering*, Third Editions. The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Hewitt PG. 2003. *Conseptual integrated science chemistry*. San francisco: Pearson Education, Inc.
- Hite GJ. 1981. *Principles of Medical chemistry*, diterjemahkan oleh Rasyid T, Firman K, Haryanto, Suwarno T, dan Mursadad A. edisi II, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Hosseinzadeh H, Younesi HM. 2002. Antinociceptive and anti- inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol*; 7-16 : 2.
- Ikawati Z. 2011. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Saraf Pusat*. Bursa Ilmu, Yogyakarta.
- Jahwa JY. (2016). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthoriza roxb*) Pada Mencit Jantan Galur Swiss yang diinduksikan Nyeri Asam Asetat Dengan Metode Geliat (*Writhing test*). Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Buku 2. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari *Basic & Clinical Pharmacology*. 8th ed. Hlm 449-462.
- Luhurningtyas PF, Munawaroh R, Haryoto. 2013. aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* L.) terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* & *Anopheles maculantus* dengan profil kromatografi [skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Maligan JM. 2014. *Kimia pangan analisis karbohidrat*. Malang: Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.
- Mantiri NC, Awaloei H, Posangi J. (2013). Perbandingan efek analgesik perasan rimpang jahe merah (*Zingi officinale* var. *Rubrum* Thelaide) dengan aspirin dosis terapi pada mencit. *Jurnal e- Biomedik*, 1 (1), 518-532.

- Marlyne R. 2012. Uji Analgesik Ekstrak Etanol 70% Bunga Mawar (*Rosa chinesis* jacq.) Pada Mencit yang Diinduksikan Asam Asetat [skrpsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Depok.
- Molole MB, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Tinggi Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor: IPB.
- Mohan N, Gulecha VS, Aurangbadkar VM, Balaraman R, Austin A. & Thirugananasampathan S. 2009. Analgesic and Anti-inflammatory Activity of a Polyherbal Formulation (PHF-AROGH). *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 9 (3), 232-237
- Mursiti S. 2004. identifikasi senyawa alkaloid dalam biji mahoni bebas minyak (*Swietenia macrophylla* King) dan efek biji mahoni Terhadap Kadar 52 Glukosa Darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*). [Tesis]. Yogyakarta: UGM.
- Mutschler E. 1991. *Dinamika Obat*, 177-182; 193; 194, penerbit ITB, Bandung.
- Mutschler. 1986. *Dinamika Obat*, diterjemahkan oleh Widiyanto MB, Ranti ES. edisi V, Penerbit ITB, Bandung, hal 177- 178,178-179,181
- Myers P, Armitage D. 2004. *Rattus norvegicus*. Shefferly N, editor, Ann Arbor: Museum of zoology, University of Michigan. <http://animaldiversity.umich.edu/account/Rattus/>. (Desember 2015).
- Noer S, Pratiwi RD. 2016. Uji kualitatif fitokimia daun *Ruta angustifolia*. Jurnal Biologi Fakultas Teknik, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indraprasta PGRI 9(3): 200-206
- Pan MH, Lai CS and Ho CT. 2010. *Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids*. Food Funct. 1: 5-31
- Parmar NS, Prakash S. 2006. *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: Apha Science International. Hlm 47, 225,& 226.
- Permatasari IM. 2013. uji aktivitas antibakteri secara in vivo fraksi semipolar ekstrak etanol batang inggu (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) terhadap mencit yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Priyambodo S. 2003. *Pengendali Hama Tikus Terpadu*. edisi 3. Jakarta: Penebar Swadaya

- Robinson. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K. *Penerjemah*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hlm 157 dan 191. Terjemahan dari: *The organic Constituens*.
- Rochma EN. 2016. uji efek analgesik ekstrak etanol daun sere (*Andropogon citratus* DC) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*). [Skripsi] Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Safitri. 2013. Uji efek analgesik 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.
- Setiawan, R. 2010. Pengaruh Pemberian Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Setya ER, Elmitra, Diana GY. 2017. Efek ekstrak etanol daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl) sebagai obat alterlatif antirematik terhadap rasa sakit paa mencit. *J ilmiah manuntung*, 3 (2), 133-138.
- Shuib NA, Iqbal A, Sulaiman FA, Razak I, Susanti D. 2015. *Antioxsidant and Antibacterial Activities of Ruta angustifolia Extract*. 77: 25 (2015) 101-105
- Sirait MD, Hargono J R, Watimena M, Husin R.S 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmakan Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica*.
- Soeksmanto A. 2006. Pengaruh Ekstrak Butanol Buah Tua Mahkota Dewa halaman 278-279 (7). Available from : <http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D070317.pdf> (17 mei 2016)
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmasi*. Edisi IV. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Taksonomi Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sujono, T.A., Respati, H., Purwatiningsih. 2007. Efek analgetik ekstrak etanol daun mindi (*Melia Azedarach* L.) pada mencit putih jantan galur swiss. *Pharmacon*: vol. 8
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana, I Ketut, Setiadi AP, Kusnandar. 2009. ISO FARMAKOTERAPI. Jakarta: PT. ISF1517 penerbitan.
- Sutedjo AY. (2008). *Mengenal Obat Secara Mudah dan Aplikasinya dalam Perawatan*. Yogyakarta: Amara Books.

- Syamsul, E.S., Fitiya, A., Yulistia, B.S. 2016. Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanolik Daun Karehau (*Callicarpa longifolia Lamk.*) Pada Mencit Putih. Trad. Med. J. vol, 21 (2). Hlm 99-103.
- Syukri Y, Saepudin. 2008. Aktivitas Penghambatan Kejadian Kanker Ekstrak Etanol Buah Mahkota dewa Vol 5. Halaman 9-11 (1). Available from : <http://data.dppm.uii.ac.id/uploads/10501025%20Yandi%saepudin.pdf> (18 mei 2016).
- Tjay, Tan dan Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed. 5 Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tjay , Tan dan Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed. VI cetak ke-1. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tjay, Tan dan Rahardja K. 2008. *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed. VI cetak ke-2. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Ton DS. Wuisan J. Mambo C. 2013. *Uji efek analgesik ekstrak daun mahkota dewa (Phaleria macrocarpa) pada mencit (Mus musculus)*. *Jurnal e-Biomedik (eMB)* 1:873-878.
- Vivancos GG, WA, Verri Jr, TM, Cunha IRS, Schivo CA, Parada FQ, Cunha SH, Ferreira. 2004. An Electronic Pressure-meter Nociceptive Paw Test for Rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*: 37. Hlm 391-399.
- Voigt. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* 564-567, diterjemahkan oleh Dr. rer Nat, Soendani N S Apt. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voigt. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Nat, Soendani N, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada Universitas Press. Hlm 564-567.
- Wagh N.K., Hemantkumar S., Deokar., Badal S., Rathi., Subhash L., Bodhankar, Vithal M.K. 2006. Anti-inflammatory and Analgesic Activity of 4'-Methylbiphenyl-2- (Substituted Phenyl) Carboxamide Analog in Animal Models of Inflammation. *Pharmacologyonline*. Vol: 2. Hlm 1-13.
- Wilmana PF, Gunawan SG. 2007. *Analgesik-Antipiretik, Analgesik-Anti-inflamasi Non Steroid dan Obat gangguan sendi lainnya: Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi Fakultas dan Terapetik FK UI pp. Hlm 230-237.
- Wulandari R. 2010. isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun inggu (*Ruta graveolensi* Linn). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.

- Yusuf H. 2001. efek analgesik ekstrak daun klausena (*Clausena anisa* Hook.f.) pada tikus putih dengan metode *tail analgesy test* [Tesis]. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Zakiyah A. 2015. Nyeri: *Konsep dan Penatalaksanaan dalam Praktik Keperawatan Berbasis Bukti*. Jakarta: Salemba medika.
- Zeng QY, Chen R, Darmawan J, *et al.* 2008. Rheumaic Diseases in China. *Arthritis Research & Therapy* volume 10.
- Yusuf H. 2001. Efek analgesik ekstrak daun klausena (*Clausena anisa* Hook. F.) pada tikus putih dengan metode *rat tail anlgesy test* [Tesis]. Medan: Universitas Sumatra Utara.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman inggu



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 198/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Mia Ariasti
NIM : 20144211A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Ruta angustifolia* (L.) Pers.
Familia : Rutaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1965):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107a-108b-109b-134a-135b-136b-137a-138c-139b-140a-141b-142b-143b-147b-156b-157a-158b-160a-161a **133. Rutaceae**
1b-2b-5b-9a-10b **5. Ruta**

1 *Ruta angustifolia* (L.) Pers.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tampak berbintik transparan, berbau khas terutama ketika diremas, tinggi 1-1.5 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : lunak, bentuk bulat, bercabang banyak, warna abu-abu kusam, permukaan halus dan gundul. Daun : majemuk menyirip basal, 2-4 sirip, tersusun spiral, bulat telur terbalik atau bulat telur memanjang, panjang 4-15 cm, lebar 2-9 cm, anak daun tidak bertangkai; helaian anak daun memanjang atau bulat telur terbalik sempit, panjang 8-20 mm, lebar 2.5-6 mm, pangkal runcing hingga tumpul, tepi beringgit, ujung tumpul, pertulangan menyirip, permukaan gundul, permukaan atas daun hijau tua berbintik keputihan, permukaan bawah hijau muda, tekstur daun berdaging. Bunga : bunga majemuk tipe malai, di ujung batang atau ujung cabang atau ketiak daun; tangkai bunga tebal, panjang 3-15 mm; daun pelindung bunga bagian bawah berbentuk bulat telur hingga jantung melebar, ujungnya lebih runcing, lebih besar, daun pelindung di bagian atas berangsur-angsur lebih kecil; bagian-bagian bunga umumnya 4, di bagian bawah bunga banci (biseksual), di bagian atasnya bunga jantan; kelopak bunga terbagi menjadi segmen-segmen, bentuk segmen bulat telur, tepi beringgit; mahkota bunga berwarna kuning cerah, panjang 7-10 mm, terdiri atas daun mahkota dengan tepi bertoreh, bentuk toreh serupa jari; jumlah benang sari dua kali lipat jumlah daun mahkota, tangkai sari seperti benang; tangkai putik pada bunga banci seperti benang sedangkan pada bunga jantan tidak ditemukan, bakal buah setengah bulat, permukaan keriput. Buah : bentuk ellipsoid atau bulat, bercuping 5, permukaan keriput, pecah atau tidak pecah di bagian ujungnya, warna hijau tua hingga hijau kekuningan. Biji : bersegi, kecil, jumlahnya banyak.

Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Pipitama Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Surat keterangan bahan baku asam mefenamat



PT. DEXA MEDICA
Jl. Jendral Bambang Utoyo 138 Palembang
Tel.62-711-711390 Fax.62-711-713242

TANDA TERIMA

No : 093/TT/PG/AM/III/2017
Palembang, 29 Agustus 2017

Yth.
Universitas Setia Budi
Fakultas Farmasi
Jl. Let. Jend. Sutoyo – Solo 57127
Attn. Sdri. Mega Ayu Kusniawati (NIM : 20144048A)
Sdri. Nurma Mulya Pratiwi (NIM : 20144049A),
Sdri. Mia Ariasti (NIM : 20144211A), &
Sdri. Iyem Shahira (NIM : 20144337A)

Mohon dapat diterima :

- 10 Gram Diclofenac Sodium
- 20 Gram Mefenamic Acid

Keterangan : Sumbangan untuk penelitian tugas akhir 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,

Muslim Kurniadi
GA Officer

Yang menerima,

(Mega Ayu Kusniawati.....)

Nota : Mohon difax kembali ke 0711-713242 / Muslim Kurniadi
atau email ke nini.apaa@dexa-medica.com

Lampiran 4. Foto daun dan serbuk daun inggu



Daun inggu



Daun inggu basah



Serbuk daun inggu

Lampiran 5. Peralatan dan perlengkapan penelitian



Alat evaporator



Alat *moisture balance*



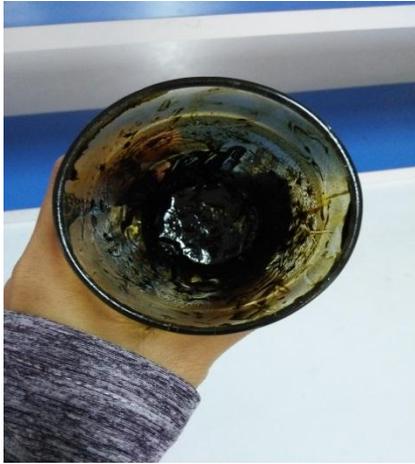
Timbangan tikus



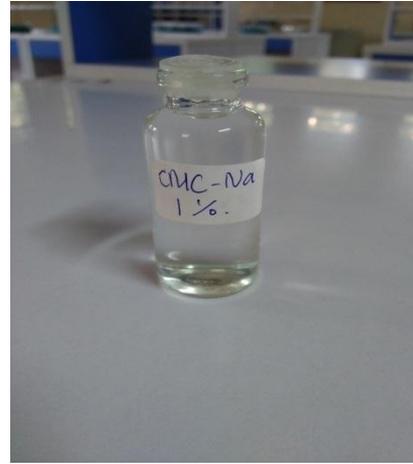
Botol maserasi



Alat *analgesy-meter*

Lampiran 6. Hasil ekstrak etanol daun inggu dan larutan uji

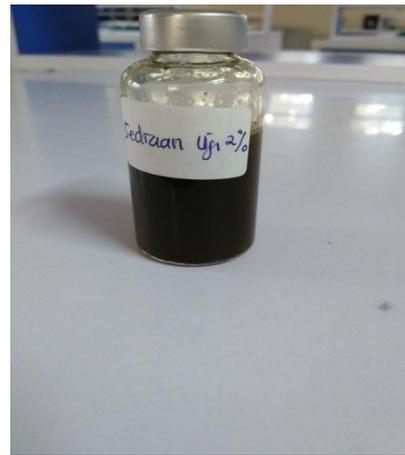
Ekstrak etanol daun inggu



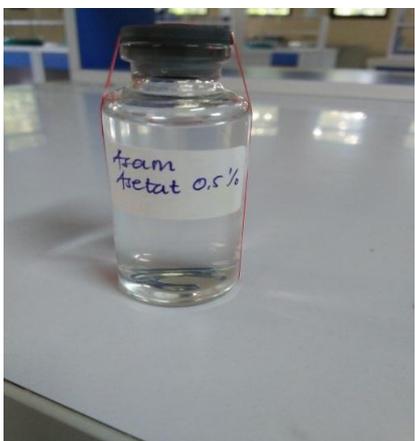
Larutan stok CMC 1%



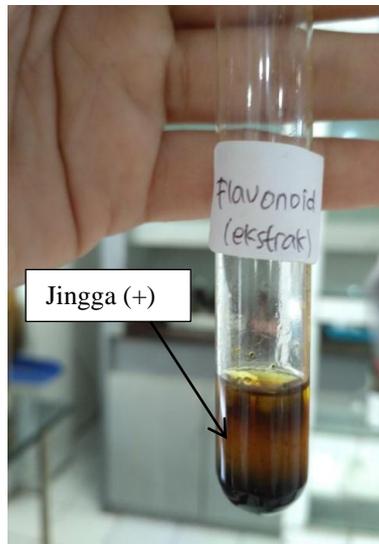
Larutan stok asam mefenamat 1%



Larutan stok ekstrak 2%



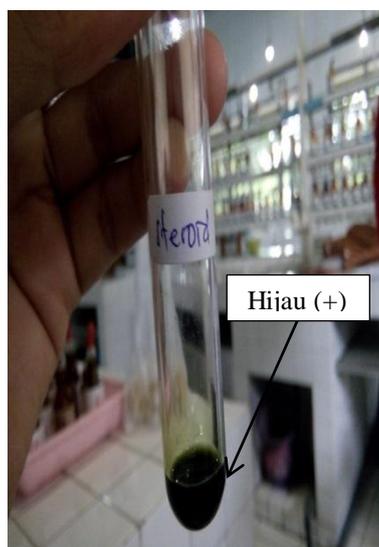
Larutan stok asam asetat 0,5%

Lampiran 7. Hasil identifikasi senyawa dari ekstrak daun inggu

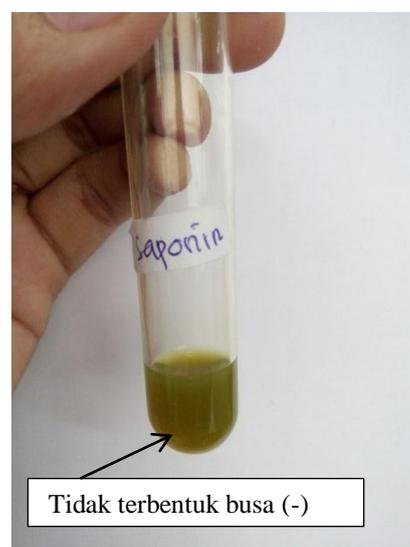
Ekstrak daun inggu (Flavonoid)



Ekstrak daun inggu (Tanin)



Ekstrak daun inggu (Steroid)



Ekstrak daun inggu (Saponin)

Lampiran 8. Perhitungan rendemen daun inggu

Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Berat daun basah (g)	Berat daun kering (g)	Rendemen (%) b/b
1.250	375	30%

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{375}{1.250} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 30 \%$$

Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%) b/b
375	266	70,93%

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{266}{375} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 70,93 \%$$

Rendemen ekstrak etanol daun inggu

Serbuk daun inggu (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
150	24,04	16,03%

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{24,04}{150} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 16,03\%$$

Lampiran 9. Perhitungan dosis

1. Kontrol negatif (CMC Na 1%)

Larutan CMC Na 1% dibuat dengan cara ditimbang 1 gram serbuk CMC Na disuspensikan ke dalam air suling ad 100 ml. Volume pemberian CMC Na 1% pada tikus sebanyak 1 ml.

2. Kontrol positif (Asam Mefenamat)

Dosis asam mefenamat = 500 mg (dosis pada manusia 70 kg)

Faktor konversi manusia ke berat tikus 200 gram = 0,018

Dosis untuk tikus = 500 mg x 0,018
= 9 mg/ 200 g BB tikus

Larutan stok dibuat 1% = 1000 mg/ 100 ml
= 200 mg/ 20 ml

Menimbang 200 mg asam mefenamat diencerkan dan ditambah dengan suspensi CMC Na ad 20 ml.

- Volume pemberian asam mefenamat untuk masing-masing tikus pada metode *tail flick* :

- Tikus 1

Tikus dengan BB 160 gram = $\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 7,2 \text{ mg}$

Volume oral = $\frac{7,2 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$

- Tikus 2

Tikus dengan BB 160 gram = $\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 7,2 \text{ mg}$

Volume oral = $\frac{7,2 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$

- Tikus 3

Tikus dengan BB 170 gram = $\frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 7,65 \text{ mg}$

Volume oral = $\frac{7,65 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,765 \text{ ml}$

- Tikus 4

Tikus dengan BB 160 gram = $\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 7,2 \text{ mg}$

- Volume oral $= \frac{7,2\text{mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$
- Tikus 5

Tikus dengan BB 150 gram $= \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 6,75 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{6,75 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,675\text{ml}$
 - Volume pemberian asam mefenamat untuk masing-masing tikus pada metode *writhing test* :
 - Tikus 1

Tikus dengan BB 180 gram $= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 8,1 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{8,1 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml}$
 - Tikus 2

Tikus dengan BB 180 gram $= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 8,1 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{8,1 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml}$
 - Tikus 3

Tikus dengan BB 180 gram $= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 8,1 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{8,1 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml}$
 - Tikus 4

Tikus dengan BB 180 gram $= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 8,1 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{8,1 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml}$
 - Tikus 5

Tikus dengan BB 190 gram $= \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9 \text{ mg} = 8,55 \text{ mg}$

Volume oral $= \frac{8,55\text{mg}}{200 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$

3. Ekstrak etanol daun inggu

Dosis ekstrak etanol daun inggu dihitung dari dosis empiris yaitu segenggam daun inggu kering.

Dosis empiris = 3 gram

Berat serbuk =150 gram

Berat ekstrak = 24,04 gram

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak daun inggu} &= \frac{\text{Berat segenggam daun inggu}}{\text{Berat serbuk}} \times \text{berat ekstrak} \\ &= \frac{3 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 24,04 \text{ gram} \\ &= 0,4808 \text{ gram/ 70 kgBB manusia} \end{aligned}$$

Faktor konversi manusia ke tikus 200 gram = 0,018

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak daun inggu 200 g BB tikus} &= 480,8 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 8,6544 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \end{aligned}$$

Variasi dosis yang digunakan :

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \times \text{DE} &= 4,3272 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \sim 5 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \\ 1 \times \text{DE} &= 8,6544 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \sim 10 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \\ 2 \times \text{DE} &= 17,3088 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \sim 20 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok dibuat 2\%} &= 2000 \text{ mg/ 100 ml} \\ &= 400 \text{ mg/ 20 ml} \end{aligned}$$

Menimbang 400 mg ekstrak diencerkan dan ditambah dengan suspensi CMC Na ad 20 ml.

Dosis ekstrak 5 mg/ 200 g BB tikus

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *tail flick* :

- Tikus 1

$$\text{Tikus dengan BB 150 gram} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 3,75 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{3,75 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,18 \text{ ml}$$

- Tikus 2

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{4 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

- Tikus 3

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{4 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

- Tikus 4

$$\text{Tikus dengan BB 170 gram} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 4,25 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{4,25 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,21 \text{ ml}$$

- Tikus 5

$$\text{Tikus dengan BB 150 gram} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 3,75 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{3,75 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,18 \text{ ml}$$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *writhing test* :

- Tikus 1

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

- Tikus 2

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

- Tikus 3

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

- Tikus 4

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

- Tikus 5

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

Dosis ekstrak daun inggu 10 mg/ 200 g BB tikus

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *tail flick* :

- Tikus 1

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 8 \text{ mg}$$

Volume oral	$= \frac{8 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
- Tikus 2	
Tikus dengan BB 150 gram	$= \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 7,5 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{7,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,37 \text{ ml}$
- Tikus 3	
Tikus dengan BB 170 gram	$= \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 8,5 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{8,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,42 \text{ ml}$
- Tikus 4	
Tikus dengan BB 170 gram	$= \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 8,5 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{8,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,42 \text{ ml}$
- Tikus 5	
Tikus dengan BB 150 gram	$= \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 7,5 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{7,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,37 \text{ ml}$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *writhing test* :

- Tikus 1	
Tikus dengan BB 200 gram	$= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 10 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{10 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
- Tikus 2	
Tikus dengan BB 200 gram	$= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 10 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{10 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
- Tikus 3	
Tikus dengan BB 190 gram	$= \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 9,5 \text{ mg}$
Volume oral	$= \frac{9,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,47 \text{ ml}$

- Tikus 4

$$\text{Tikus dengan BB 190 gram} = \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 9,5 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{9,5 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,47 \text{ ml}$$

- Tikus 5

$$\text{Tikus dengan BB 200 gram} = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{10 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

Dosis ekstrak etanol daun inggu 20 mg/ 200 g BB tikus

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *tail flick* :

- Tikus 1

$$\text{Tikus dengan BB 150 gram} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 15 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{15 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml}$$

- Tikus 2

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 16 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{16 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

- Tikus 3

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{170 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 17 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{17 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$$

- Tikus 4

$$\text{Tikus dengan BB 160 gram} = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 16 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{16 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$$

- Tikus 5

$$\text{Tikus dengan BB 150 gram} = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 15 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{15 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml}$$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus pada metode *writhing test* :

- Tikus 1

$$\text{Tikus dengan BB 180 gram} = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 18 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{18 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$$

- Tikus 2

$$\text{Tikus dengan BB 190 gram} = \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 19 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{19 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$$

- Tikus 3

$$\text{Tikus dengan BB 190 gram} = \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 19 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{19 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$$

- Tikus 4

$$\text{Tikus dengan BB 190 gram} = \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 19 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{19 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$$

- Tikus 5

$$\text{Tikus dengan BB 190 gram} = \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 19 \text{ mg}$$

$$\text{Volume oral} = \frac{19 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 20 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$$

Lampiran 10. Perlakuan pada hewan uji



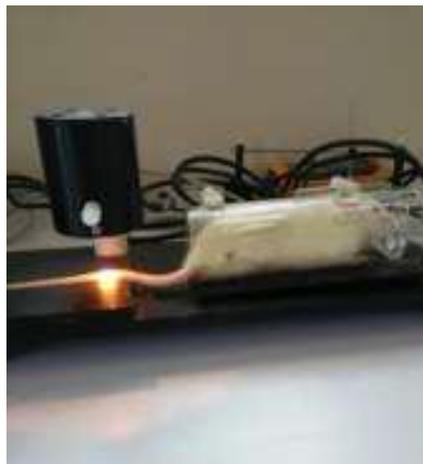
Hewan uji tikus putih jantan galur wistar



Pemberian larutan uji secara oral



Induksi asam asetat secara i.p



Pengujian tail flick



Gambar geliat pada tikus setelah diinduksi asam asetat glasial 0,5%

Lampiran 11. Hasil uji analgesik ekstrak etanol daun inggu metode *tail flick* sebelum dikurangi T₀

Kelompok perlakuan	Tikus	Reaksi nyeri menit ke- (detik)					
		0	30	60	120	180	240
CMC Na 1%	1	5,65	7,15	8,25	9,25	8,44	5,81
	2	3,11	3,14	4,27	5,09	5,04	5,74
	3	2,66	3,16	5,13	6	8,84	5,45
	4	4,84	6,43	7,09	8	7,86	5,35
	5	2,14	3,2	3,24	3,45	4,7	2,66
Asam mefenamat dosis 9 mg/200 g BB	1	2,05	3,03	5,24	7,99	6,58	5,78
	2	3,37	5,03	7,74	6,45	8,13	4,77
	3	3,55	7,96	8,56	10,85	11,44	4,85
	4	4,14	6,9	6,87	9,01	10,84	4,54
	5	3,25	3,34	5,44	7,56	5,45	5,54
Ekstrak dosis 5 mg/ 200 g BB	1	4,06	5,01	5,56	6,86	11,01	6,86
	2	6,6	7,5	8,89	10,42	11	8
	3	2,51	4,77	6,05	9,03	9,42	4,33
	4	6,26	7,11	8,63	10,43	11,02	9,42
	5	4,71	5,03	5,83	7,91	8	4,81
Ekstrak dosis 10 mg/ 200 g BB	1	3,2	4,05	6,22	8,77	7,76	4,47
	2	3,58	4,77	5,27	6,68	6,46	5,86
	3	2,19	3,45	7,54	11,68	7,87	5,41
	4	3,15	4,11	7,01	7,49	8,09	5,99
	5	4,4	7,13	6,12	7,14	7,07	4,49
Ekstrak dosis 20 mg/200 g BB	1	5,51	6,15	7,16	10,05	10,11	9,76
	2	4,49	6,27	7,89	8,57	9,02	6,44
	3	5,11	7,88	12,07	12,14	11,57	7,82
	4	6,45	7,04	7,87	9,55	12,73	11,72
	5	5,45	8,31	8,99	8,04	7,11	6,11

Lampiran 12. Hasil uji analgesik ekstrak etanol daun inggu metode *tail flick* setelah dikurangi T₀

Kelompok perlakuan	Tikus	Menit ke- (detik)					
		30	60	120	180	240	X ±SD
CMC Na 1%	1	1,5	2,6	3,6	2,79	0,16	2,130±1,332
	2	0,03	1,16	1,98	1,93	2,63	1,546±0,995
	3	0,5	2,47	3,34	6,18	2,79	3,056±2,049
	4	1,59	2,25	3,16	3,02	0,51	2,106±1,093
	5	1,06	1,1	1,31	2,56	0,52	1,310±0,757
Rata-rata± SD		0,94± 0,67	1,92± 0,73	2,68± 0,98	3,30± 1,66	1,32± 1,28	
Asam mefenamat dosis 9 mg/ 200 g BB	1	0,98	3,19	5,94	4,53	3,73	3,674±1,828
	2	1,66	4,37	3,08	4,76	1,4	3,054±1,527
	3	4,41	5,01	7,3	7,89	1,3	5,182±2,623
	4	2,76	2,73	4,87	6,7	0,4	3,492±2,391
	5	0,09	2,19	4,31	2,2	2,29	2,216±1,493
Rata-rata± SD		1,98± 1,67	3,50± 1,17	5,10± 1,60	5,22± 2,19	1,82± 1,26	
Ekstrak I dosis 5 mg/200 g BB	1	0,95	1,5	2,8	6,95	2,8	3,000±2,352
	2	0,9	2,29	3,82	4,4	1,4	2,562±1,512
	3	2,26	3,54	6,52	6,91	1,82	4,210±2,376
	4	0,85	2,37	4,17	4,76	3,16	3,062±1,540
	5	0,32	1,12	3,2	3,29	0,1	1,606±1,544
Rata-rata± SD		1,06± 0,72	2,16± 0,93	4,10± 1,45	5,26± 1,62	1,86± 1,21	
Ekstrak II dosis 10 mg/ 200 g BB	1	0,85	3,02	5,57	4,56	1,27	3,054±2,040
	2	1,19	1,69	3,1	2,88	2,28	2,228±0,799
	3	1,26	5,35	9,49	5,68	3,22	5,000±3,078
	4	0,96	3,86	4,34	4,94	2,84	3,388±1,560
	5	2,73	1,72	2,74	2,67	0,09	1,990±1,146
Rata-rata± SD		1,40± 0,76	3,13± 1,54	5,05± 2,72	4,15± 1,32	1,94± 1,27	
Ekstrak III dosis 20 mg/ 200 g BB	1	0,64	1,65	4,54	4,6	4,25	3,136±1,857
	2	1,78	2,87	4,08	4,53	1,95	3,042±1,236
	3	2,77	6,96	7,03	6,46	2,71	5,186±2,244
	4	0,59	1,42	3,1	6,28	5,27	3,332±2,433
	5	2,86	3,54	2,59	1,66	0,66	2,262±1,121
Rata-rata± SD		1,73± 1,10	3,29± 2,23	4,27± 1,73	4,71± 1,93	2,97± 1,83	

Lampiran 13. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN)

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

Asam mefenamat

$$\text{Tikus I} = \frac{3,674 - 2,130}{2,130} \times 100\% = 72,48\%$$

$$\text{Tikus II} = \frac{3,054 - 1,546}{1,546} \times 100\% = 97,54\%$$

$$\text{Tikus III} = \frac{5,182 - 3,056}{3,056} \times 100\% = 69,56\%$$

$$\text{Tikus IV} = \frac{3,492 - 2,106}{2,106} \times 100\% = 65,81\%$$

$$\text{Tikus V} = \frac{2,216 - 1,310}{1,310} \times 100\% = 69,16\%$$

$$\text{Rata-rata} \pm \text{SD} = 74,91\% \pm 12,87$$

Dosis 5 mg/ 200 g BB

$$\text{Tikus I} = \frac{3,000 - 2,130}{2,130} \times 100\% = 40,84\%$$

$$\text{Tikus II} = \frac{2,562 - 1,546}{1,546} \times 100\% = 65,71\%$$

$$\text{Tikus III} = \frac{4,210 - 3,056}{3,056} \times 100\% = 37,76\%$$

$$\text{Tikus IV} = \frac{3,062 - 2,106}{2,106} \times 100\% = 45,39\%$$

$$\text{Tikus V} = \frac{1,606 - 1,310}{1,310} \times 100\% = 22,59\%$$

$$\text{Rata-rata} \pm \text{SD} = 42,46\% \pm 15,56$$

Dosis 10 mg/ 200 g BB

$$\text{Tikus I} = \frac{3,054 - 2,130}{2,130} \times 100\% = 43,38\%$$

$$\text{Tikus II} = \frac{2,228-1,546}{1,546} \times 100\% = 44,11\%$$

$$\text{Tikus III} = \frac{5,000-3,056}{3,056} \times 100\% = 63,61\%$$

$$\text{Tikus IV} = \frac{3,388-2,106}{2,106} \times 100\% = 60,87\%$$

$$\text{Tikus V} = \frac{1,990-1,310}{1,310} \times 100\% = 51,90\%$$

$$\text{Rata-rata} \pm \text{SD} = 52,77\% \pm 9,31$$

Dosis 20 mg/ 200 g BB

$$\text{Tikus I} = \frac{3,136-2,130}{2,130} \times 100\% = 47,23\%$$

$$\text{Tikus II} = \frac{3,042-1,546}{1,546} \times 100\% = 96,76\%$$

$$\text{Tikus III} = \frac{5,186-3,056}{3,056} \times 100\% = 69,69\%$$

$$\text{Tikus IV} = \frac{3,332-2,106}{2,106} \times 100\% = 58,21\%$$

$$\text{Tikus V} = \frac{2,262-1,310}{1,310} \times 100\% = 72,67\%$$

$$\text{Rata-rata} \pm \text{SD} = 68,91\% \pm 18,54$$

Lampiran 14. Hasil rata-rata jumlah geliat metode *writhing test*

Kelompok perlakuan	Tikus	Jumlah geliat menit ke-									X ±SD	Total AUC
		(selama 90 menit)										
		10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'		
CMC Na 1%	1	21	12	11	10	19	6	4	2	7	10,22±6,44	780,00
	2	16	20	21	20	18	19	11	16	1	15,78±6,32	1335,00
	3	18	14	11	9	11	8	6	0	9	9,56±5,03	725,00
	4	12	17	15	15	8	12	8	9	6	11,33±3,81	930,00
	5	8	15	14	11	7	7	7	6	0	8,33±4,53	710,00
Rata-rata		15	15,6	14,4	13	12,6	10,4	7,2	6,6	4,6		896,00
Asam mefenamat dosis 9 mg/ 200 g BB	1	4	4	4	1	5	2	0	0	0	2,22±2,05	180,00
	2	7	8	5	2	0	3	0	0	0	2,78±3,19	215,00
	3	4	3	4	6	3	1	2	3	1	3,00±1,58	245,00
	4	5	2	5	3	1	4	0	0	0	2,22±2,11	175,00
	5	4	5	3	2	1	0	0	0	0	1,67±1,94	130,00
Rata-rata		4,8	4,4	4,2	2,8	2	2	0,4	0,6	0,2		189,00
Ekstrak I dosis 5 mg/200 g BB	1	11	7	7	4	8	6	6	4	4	6,33±2,29	475,00
	2	13	10	8	8	6	11	7	5	5	8,11±2,76	635,00
	3	8	5	4	4	2	5	4	3	3	4,22±1,72	325,00
	4	11	10	8	6	6	3	2	3	0	5,44±3,75	425,00
	5	5	2	5	8	5	2	2	0	2	3,44±2,46	275,00
Rata-rata		9,6	6,8	6,4	6	5,4	5,4	4,2	3	2		427,00
Ekstrak II dosis 10 mg/ 200 g BB	1	11	6	11	2	1	6	2	1	3	4,78±3,99	360,00
	2	6	8	6	5	6	5	1	4	0	4,56±2,55	380,00
	3	8	6	4	2	2	4	0	3	1	3,33±2,50	255,00
	4	5	10	6	6	5	5	4	3	4	5,33±2,00	435,00
	5	6	5	5	0	2	5	4	0	2	3,22±2,28	250,00
Rata-rata		7,2	7	6,4	3	3,2	5	2,2	2,2	2		336,00
Ekstrak III dosis 20 mg/ 200 g BB	1	6	4	0	2	4	4	6	1	0	3,00±2,36	245,00
	2	11	5	7	3	3	3	1	2	0	3,89±3,37	295,00
	3	7	4	4	4	3	3	3	2	1	3,44±1,67	270,00
	4	8	5	4	5	1	2	2	3	1	3,44±2,30	265,00
	5	2	5	2	3	1	2	1	0	0	1,78±1,56	150,00
Rata-rata		6,8	4,6	3,4	3,4	2,4	2,8	2,6	1,6	0,4		245,00

Lampiran 15. Perhitungan AUC metode *Writhing test*

$$AUC_{n-1}^n = \frac{Wt_{n-1} + Wt_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Replikasi 1

$$AUC_{10}^{20} = \frac{12 + 21}{2} (20 - 10)$$

$$= 165$$

Replikasi 1 AUC total = 780,00

$$AUC_{20}^{30} = \frac{11 + 12}{2} (30 - 20)$$

$$= 115$$

Replikasi 2 AUC total = 1335,00

$$AUC_{30}^{40} = \frac{10 + 11}{2} (40 - 30)$$

$$= 105$$

Replikasi 3 AUC total = 725,00

Replikasi 4 AUC total = 930,00

Replikasi 5 AUC total = 710,00

Rata-rata AUC total = 896,00

$$AUC_{40}^{50} = \frac{19 + 10}{2} (50 - 40)$$

$$= 145$$

$$AUC_{50}^{60} = \frac{6 + 19}{2} (60 - 50)$$

$$= 125$$

$$AUC_{60}^{70} = \frac{4 + 6}{2} (70 - 60)$$

$$= 50$$

$$AUC_{70}^{80} = \frac{2 + 4}{2} (80 - 70)$$

$$= 30$$

$$AUC_{80}^{90} = \frac{7 + 2}{2} (90 - 80)$$

$$= 45$$

Total = 165+115+105+145+125+50+30+45 = 780,00

Lampiran 16. Perhitungan % Daya analgesik

$$\% \text{ Daya analgesik} = (100 - [P/K] \times 100) \%$$

Kelompok asam mefenamat

Tikus I	= (100 - [(2,22/10,22) x 100]) %	= 78,27%
Tikus II	= (100 - [(2,78/ 15,78) x 100]) %	= 82,38%
Tikus III	= (100 - [(3,00/ 9,56) x 100]) %	= 68,61%
Tikus IV	= (100 - [(2,22/ 11,33) x 100]) %	= 80,40%
Tikus V	= (100 - [(1,67/ 8,33) x 100]) %	= 79,95%
Rata-rata±SD	= 77,81%±5,36	

Kelompok dosis 5 mg/200 g BB

Tikus I	= (100 - [(6,33/10,22) x 100]) %	= 38,06%
Tikus II	= (100 - [(8,11/ 15,78) x 100]) %	= 48,60%
Tikus III	= (100 - [(4,22/ 9,56) x 100]) %	= 55,85%
Tikus IV	= (100 - [(5,44/ 11,33) x 100]) %	= 51,98%
Tikus V	= (100 - [(3,44/ 8,33) x 100]) %	= 58,70%
Rata-rata±SD	= 48,40%±8,32	

Kelompok dosis 10 mg/200 g BB

Tikus I	= (100 - [(4,78/10,22) x 100]) %	= 53,22%
Tikus II	= (100 - [(4,56/ 15,78) x 100]) %	= 71,10%
Tikus III	= (100 - [(3,33/ 9,56) x 100]) %	= 65,16%
Tikus IV	= (100 - [(5,33/ 11,33) x 100]) %	= 52,95%
Tikus V	= (100 - [(3,22/ 8,33) x 100]) %	= 61,34%
Rata-rata±SD	= 58,92%±8,63	

Kelompok dosis 20 mg/200 g BB

Tikus I	= (100 - [(3,00/10,22) x 100]) %	= 70,64%
Tikus II	= (100 - [(3,89/ 15,78) x 100]) %	= 75,34%
Tikus III	= (100 - [(3,44/ 9,56) x 100]) %	= 64,01%
Tikus IV	= (100 - [(3,44/ 11,33) x 100]) %	= 69,63%
Tikus V	= (100 - [(1,78/ 8,33) x 100]) %	= 78,63%
Rata-rata±SD	= 70,35%±6,02	

Lampiran 17. Uji statistik % peningkatan ambang nyeri (daya analgesik) seluruh kelompok uji metode *tail flick*

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan ata sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Dayaanalgesik	25	47.8108	29.54308	.00	97.54

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayaanalgesik
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	47.8108
	Std. Deviation	29.54308
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.736
Asymp. Sig. (2-tailed)		.651

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Sig >0,05 maka data persen daya analgesik terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

Dayaanalgesik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.890	4	20	.152

Kesimpulan : Sig > 0,05 (H0 diterima) maka data persen daya analgesik homogen

Uji *One Way* ANOVA

Tujuan : Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen daya analgesik dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H0 ditolak

Sig. > 0.05 H0 diterima

Hasil:

ANOVA

Dayaanalgesik

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17593.929	4	4398.482	26.235	.000
Within Groups	3353.116	20	167.656		
Total	20947.045	24			

Kesimpulan : Sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen daya analgesik antar kelompok perlakuan.

Uji *Post Hoc* (LSD)

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen daya analgesik yang bermakna

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H0 ditolak

Sig. > 0.05 H0 diterima

Hasil :

Multiple Comparisons

Dayaanalgisik

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	ASMEF	-74.91000*	8.18916	.000	-91.9923	-57.8277
	ekstrak 5 mg	-42.45800*	8.18916	.000	-59.5403	-25.3757
	ekstrak 10 mg	-52.77400*	8.18916	.000	-69.8563	-35.6917
	ekstrak 20 mg	-68.91200*	8.18916	.000	-85.9943	-51.8297
ASMEF	CMC	74.91000*	8.18916	.000	57.8277	91.9923
	ekstrak 5 mg	32.45200*	8.18916	.001	15.3697	49.5343
	ekstrak 10 mg	22.13600*	8.18916	.014	5.0537	39.2183
	ekstrak 20 mg	5.99800	8.18916	.472	-11.0843	23.0803
ekstrak 5 mg	CMC	42.45800*	8.18916	.000	25.3757	59.5403
	ASMEF	-32.45200*	8.18916	.001	-49.5343	-15.3697
	ekstrak 10 mg	-10.31600	8.18916	.222	-27.3983	6.7663
	ekstrak 20 mg	-26.45400*	8.18916	.004	-43.5363	-9.3717
ekstrak 10 mg	CMC	52.77400*	8.18916	.000	35.6917	69.8563
	ASMEF	-22.13600*	8.18916	.014	-39.2183	-5.0537
	ekstrak 5 mg	10.31600	8.18916	.222	-6.7663	27.3983
	ekstrak 20 mg	-16.13800	8.18916	.063	-33.2203	.9443
ekstrak 20 mg	CMC	68.91200*	8.18916	.000	51.8297	85.9943
	ASMEF	-5.99800	8.18916	.472	-23.0803	11.0843
	ekstrak 5 mg	26.45400*	8.18916	.004	9.3717	43.5363
	ekstrak 10 mg	16.13800	8.18916	.063	-.9443	33.2203

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

Kesimpulan : Dari hasil diatas menunjukkan bahwa kontrol negatif berbeda bermakna dengan kontrol positif, ekstrak dosis 5 mg, 10 mg dan 20 mg/ 200 g BB. Kelompok kontrol positif berbeda bermakna dengan kontrol negatif, ekstrak dosis 5 mg dan 10 mg/ 200 g BB. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB memiliki daya analgesik sebanding dengan kontrol positif.

Lampiran 18. Uji statistik % inhibisi geliat (daya analgesik) seluruh kelompok uji selama 90 menit metode *writhing test*

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : Mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Persendayaanalgessik	25	52.1928	28.82810	.00	82.38

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		persendayaanalgessik
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	52.1928
	Std. Deviation	28.82810
Most Extreme Differences	Absolute	.217
	Positive	.165
	Negative	-.217
Kolmogorov-Smirnov Z		1.085
Asymp. Sig. (2-tailed)		.190

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Sig >0,05 maka data persen daya analgesik terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

Persendayaanalgesik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.692	4	20	.061

Kesimpulan : Sig > 0,05 (H0 diterima) maka data persen daya analgesik homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen daya analgesik dari setiap kelompok perlakuan

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil:

ANOVA

Persendayaanalgesik

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19201.871	4	4800.468	129.123	.000
Within Groups	743.549	20	37.177		
Total	19945.420	24			

Kesimpulan : Sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen daya analgesik antar kelompok perlakuan.

Uji Post Hoc (LSD)

Tujuan : Untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen daya analgesik yang bermakna

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Multiple Comparisons

Persendayaanalgelik

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC	ASMEF	-77.92200 [*]	3.85629	.000	-85.9661	-69.8779
	ekstrak 5 mg	-50.63800 [*]	3.85629	.000	-58.6821	-42.5939
	ekstra 10 mg	-60.75400 [*]	3.85629	.000	-68.7981	-52.7099
	ekstrak 20 mg	-71.65000 [*]	3.85629	.000	-79.6941	-63.6059
ASMEF	CMC	77.92200 [*]	3.85629	.000	69.8779	85.9661
	ekstrak 5 mg	27.28400 [*]	3.85629	.000	19.2399	35.3281
	ekstra 10 mg	17.16800 [*]	3.85629	.000	9.1239	25.2121
	ekstrak 20 mg	6.27200	3.85629	.120	-1.7721	14.3161
ekstrak 5 mg	CMC	50.63800 [*]	3.85629	.000	42.5939	58.6821
	ASMEF	-27.28400 [*]	3.85629	.000	-35.3281	-19.2399
	ekstra 10 mg	-10.11600 [*]	3.85629	.016	-18.1601	-2.0719
	ekstrak 20 mg	-21.01200 [*]	3.85629	.000	-29.0561	-12.9679
ekstra 10 mg	CMC	60.75400 [*]	3.85629	.000	52.7099	68.7981
	ASMEF	-17.16800 [*]	3.85629	.000	-25.2121	-9.1239
	ekstrak 5 mg	10.11600 [*]	3.85629	.016	2.0719	18.1601
	ekstrak 20 mg	-10.89600 [*]	3.85629	.010	-18.9401	-2.8519
ekstrak 20 mg	CMC	71.65000 [*]	3.85629	.000	63.6059	79.6941
	ASMEF	-6.27200	3.85629	.120	-14.3161	1.7721
	ekstrak 5 mg	21.01200 [*]	3.85629	.000	12.9679	29.0561
	ekstra 10 mg	10.89600 [*]	3.85629	.010	2.8519	18.9401

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

Kesimpulan : Dari hasil diatas menunjukkan bahwa kontrol negatif berbeda bermakna dengan kontrol positif, ekstrak dosis 5 mg, 10 mg dan 20 mg/ 200 g BB. Kelompok kontrol positif berbeda bermakna dengan kontrol negatif, ekstrak dosis 5 mg dan 10 mg/ 200 g BB. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dosis 20 mg/ 200 g BB memiliki daya analgesik sebanding dengan kontrol positif.

Lampiran 19. Uji statistik data AUC geliat (daya analgesik) seluruh kelompok uji selama 90 menit metode *writhing test*

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : Mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
AUCtotal	25	418.6000	287.58520	130.00	1335.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		AUCtotal
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	418.6000
	Std. Deviation	287.58520
Most Extreme Differences	Absolute	.197
	Positive	.197
	Negative	-.158
Kolmogorov-Smirnov Z		.986
Asymp. Sig. (2-tailed)		.285

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig >0,05 maka data AUC total analgesik terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

AUCtotal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.150	4	20	.037

Kesimpulan : Sig > 0,05 (H0 ditolak) maka data AUC total analgesik tidak homogen

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

	AUCtotal
Chi-Square	12.500
Df	2
Asymp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Kesimpulan : Sig > 0,05 (H0 ditolak) maka data AUC total analgesik tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan kontrol negatif.