

UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TAIL FLICK DAN METODE SIGMUND



Oleh:

**Hapsari Dyah Ayu Pramesti
19133957A**

Kepada
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

UJI AKTIVITAS ANALGETIKEKSTRAKETANOL DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.) PADA MENCITPUTIHJANTAN (*Musmusculus*) DENGAN METODE TAIL FLICK DAN METODE SIGMUND

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Oleh :

Hapsari Dyah Ayu Pramesti

19133957A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN SEMANGGI
(*Marsilea crenata* Presl) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*)
DENGAN METODE TAIL FLICK DAN METODE SIGMUND**

Oleh:

**Hapsari Dyah Ayu Pramesti
19133957A**

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama,

Resley Harjanti, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

Penguji:

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

1.

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

2.

3. Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm., Apt.

3.

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

4.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2017



Hapsari Dyah Ayu Pramesti

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Is there any reward for good other than good?”

(QS. Ar-Rahman: 60)

“Whoever takes a path to seek knowledge, Allah will ease the way to Jannah.”

(HR. Muslim)

“If I say I don’t have any ambition, then I’m lying. But if I become too ambitious about it, then everything will be ruined.”

(Lee Seongyeol)

Achieve your dream as high as possible, don’t be afraid to fall. It’s okay to fall, but don’t forget to stand up again and again. Believe that God will shows us the way. Because, everything happens for a reason.

Kupersembahkan karya ini untuk :

*Allah SWT atas karunia, rahmat dan serta kasih sayang-Nya
penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
Bapak dan Ibuku yang tercinta terima kasih atas doa dan
semangatnya
Kakakku yang kusayangi
Sahabat yang menyayangi dan selalu mendukungku*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat, karunia, rahmat, dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW beserta para pengikutnya. yang

Skripsi ini berjudul “**UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TAIL FLICK DAN METODE SIGMUND**” yang disusun demi memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Universitas Setia Budi, Surakarta. Saya harapkan skripsi ini dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan pada umumnya dan pengobatan herbal pada khususnya.

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

1. Allah SWT atas segala rahmat dan bantuan yang diberikan
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberi dukungan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberi bantuan, bimbingan, dan amsukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.

7. Kedua orang tuaku tercinta Bapak Sugeng dan Ibu Retno Saparindyah, serta kakakku tersayang Ardyanto Gunawan. Terima kasih atas doa, dukungan, semangat, dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Tim Analgetik, Ita Ariati, Erni Kusukmawati Kaderi, dan Yulinda Kussukmawaty dan teman-teman Sholehahku, Siti Nur Khoiriyatul Karimah, Sinta Aprilia, Nurrizky Safitri terima kasih atas doa, bantuan, dukungan dan semangatnya.
9. Sahabatku Sejawat farmasi : Afifah, Afra, Erni, Ita, Lilik, Linda, Meliana, Rizka, Yuni, Uni, Aprida, teman-teman Kos Dr. Sri Ami, Astrid, Yesika, Ririn, Sekar, Diyas dan Sri Ami squad lainnya. Teman-teman Teori 5 dan almameter Universitas Setia Budi angkatan 2013 yang telah memberikan doa, dukungan dan semangatnya.
10. Adik tingkatku Rine Larasati dan Khoirina Nur Annisa, serta temanku Arsita Wulan Ndaru yang dengan setia turut menemani selama penyusunan skripsi ini, terima kasih atas doa, dukungan dan semangatnya.
11. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan.

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

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Surakarta, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
 BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Semanggi	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Kegunaan tanaman	6
5. Kandungan kimia	7
5.1. Gula pereduksi.....	7
5.2. Steroid/Triterpenoid	7
5.3. Karbohidrat	7

5.4. Flavonoid	7
5.5. Saponin	7
5.6. Alkaloid	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
C. Metode Ekstraksi Simplisia	9
1. Ekstraksi	9
1.1. Maserasi	9
2. Pelarut	9
D. Hewan Percobaan	10
1. Sistematika mencit	10
2. Karakteristik mencit	10
3. Cara pemberian obat	10
E. Nyeri	11
1. Patofisiologi nyeri	11
2. Mekanisme terjadinya nyeri	11
3. Penanganan nyeri	11
F. Analgetik	12
1. Analgetik narkotik	12
2. Analgetik perifer	13
3. Asam mefenamat	13
4. Tramadol	14
5. Asam asetat	15
G. Metode Uji Analgetik	15
1. Rangsangan Panas	15
1.1. Metode Woolfe-Mac Donald	16
1.2. Metode Eddy-Leimbach	16
2. Metode Grotto-Sulman	16
3. Metode jentik ekor D' Amour dan Smith	16
4. Rangsangan Tekan (<i>Rendall dan Selitto</i>)	16
5. Rangsangan Listrik (<i>Nielsen</i>)	16
6. Rangsangan Zat Kimia (<i>Sigmund</i>)	17
H. Landasan Teori	17
I. Hipotesis.....	18
 BAB III. METODE PENELITIAN	19
A. Populasi dan Sampel	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi variabel utama	19
2. Klasifikasi variabel utama	19

2.1 Variabel bebas	19
2.2 Variabel tergantung	19
2.3 Variabel terkendali	19
3. Definisi operasional variabel utama	20
C. Alat dan Bahan	21
1. Alat	21
2. Bahan	21
2.1 Bahan sampel	21
2.2 Bahan kimia	21
2.3 Hewan uji	21
D. Jalannya Penelitian	21
1. Determinasi tanaman	21
2. Pegambilan bahan	22
3. Pembuatan serbuk daun semanggi	22
4. Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun semanggi	22
5. Penetapan kadar kelembapan serbuk daun semanggi	22
6. Penetapan kadar air daun semanggi	23
7. Uji bebas etanol	23
8. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun semanggi	23
8.1. Identifikasi gula pereduksi	23
8.2. Identifikasi steroid/triterpenoid	23
8.3. Identifikasi karbohidrat	24
8.4. Identifikasi flavonoid.....	24
8.5. Identifikasi saponin	24
8.6. Identifikasi alkaloid	24
9. Penetapan dosis dan pembuatan larutan.....	25
9.1. CMC-Na 1%	25
9.2. Asam mefenamat 1%	25
9.3. Tramadol	25
9.4. Asam asetat	25
9.5. Ekstrak etanol daun semanggi	25
10. Uji efek analgetik metode <i>tail flick</i>	26
11. Uji efek analgetik metode <i>Sigmund</i>	29
12. Perhitungan persen daya analgetik	31
11.1. <i>Tail flick</i>	31
11.2 <i>Sigmund</i>	31
E. Analisis data	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32

A. Hasil Penelitian.....	32
1. Hasil determinasi tanaman Semanggi.....	32
2. Hasil pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun semanggi	32
3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi.....	33
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun semanggi.....	34
5. Hasil kadar kelembapan serbuk daun semanggi.....	34
6. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak etanol daun semanggi	34
7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun semanggi	35
B. Hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi	35
1. Metode <i>tail flick</i>	35
2. Metode <i>Sigmund</i>	38
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	42
A. Kesimpulan	42
B. Saran	42
 DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman semanggi	5
2. Struktur asam mefenamat	13
3. Struktur tramadol	14
4. Struktur asam asetat	15
5. Pembuatan ekstrak daun semanggi	26
6. Pengujian aktivitas analgetik metode <i>tail flick</i>	28
7. Pengujian aktivitas analgetik metode <i>Sigmund</i>	30
8. Grafik waktu rata-rata (detik) hewan uji	36
9. Grafik rata-rata jumlah geliat (menit)	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil pengeringan daun semanggi	32
2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi	33
3. Rendemen ekstrak etanol daun semanggi.....	34
4. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun semanggi	34
5. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak daun semanggi	35
6. Data rata-rata waktu reaksi (detik)	36
7. Persentase Hambatan Nyeri (PHN)	37
8. Rata-rata kumulatif jumlah geliat dan SD	39
9. Persen proteksi analgetik	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman semanggi	47
2. Surat keterangan (resep) tramadol	48
3. Surat keterangan asam mefenamat	49
4. Surat keterangan hewan uji (mencit)	50
5. Foto tanaman semanggi	51
6. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian	51
7. Foto ekstrak daun semanggi	54
8. Foto uji bebas etanol	55
9. Foto identifikasi serbuk dan esktrak daun semanggi	58
10. Hewan uji dan perlakuan	59
11. Suspensi larutan stok	60
12. Perhitungan rendemen serbuk terhadap tanaman	61
13. Perhitungan rendemen ekstrak terhadap tanaman	62
14. Penetapan kadar air serbuk	63
15. Perhitungan pembuatan larutan stok	64
16. Perhitungan dosis dan volume pemberian untuk hewan uji	65
17. Perhitungan rata-rata waktu reaksi (detik)	71
18. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN) metode <i>tail-flick</i>	73
19. Perhitungan rata-rata jumlah geliat kumulatif	76
20. Perhitungan persen proteksi analgetik metode <i>Sigmund</i>	78
21. Hasil uji statistik SPSS 17	79

INTISARI

Pramesti, HDA., 2017, UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TAIL FLICK DAN METODE SIGMUND, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Rasa nyeri dalam kebanyakan hal merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan jaringan, seperti peradangan, infeksi jasad renik atau kejang otot. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas analgetik, dosis efektif, dan hasil dari ekstrak daun semanggi pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) menggunakan metode tail flick dan metode sigmund.

Daun semanggi diekstraksi dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji aktifitas analgetik dengan cara hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC), positif (Tramadol dan Asam mefenamat), dan dosis ekstrak daun semanggi 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 400 mg/Kg BB. Pada metode *tail flick* ekor mencit disinari hingga mencit menjentikkan ekornya kemudian dihitung waktu reaksinya. Pada metode *Sigmund* mencit diinduksi menggunakan asam asetat, parameter nyeri yang diamati adalah jumlah geliat. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Anova satu arah.

Hasil penelitian dosis daun semanggi dosis 400 mg/Kg BB yang memberikan aktivitas analgetik optimal pada metode tail flick. Sedangkan, dengan menggunakan metode *Sigmund* yang memberikan aktivitas analgetik optimal adalah ekstrak etanol daun semanggi dosis 200 mg/Kg BB.

Kata kunci: semanggi (*Marsilea crenata* Presl.), analgetik, *tail flick*, *Sigmund*.

ABSTRACT

Pramesti, HDA., 2017, ANALGETIC ACTIVITY TESTS OF ETHANOLIC EXTRACT OF CLOVER LEAVES (*Marsilea crenata Presl.*) ON WHITE MALE MICE (*Mus musculus*) WITH TAIL FLICK METHOD AND SIGMUND METHOD, UNDERGRADUATE THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Pain in most cases is a symptom that serves as a danger signal about tissue disruption, such as inflammation, microorganism infection or muscle spasms. This study aims to determine the activity of analgesic, effective dose, and the result of clover leaves extract in male white mouse (*Mus musculus*) using tail flick method and sigmund method.

Clover leaves extracted with remaseration method using ethanol 70% as the solvents. Analgetic activity test analyzed using white male mice were divided into 5 groups: groups of control are negative (CMC), positive (Tramadol and Mefenamic acid), and dose extract of clover leaves 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, and 400 mg/Kg BB. In the *tail flick* method the tail of the mice is irradiated until the mice snap its tail and then calculate the reaction time. In the *Sigmund* method the mice were induced using acetic acid, the observed pain parameter is the amount of writhing. The data obtained were analyzed statistically by One Way Anova test.

The results of the research showed that clover leaves dose 400 mg/Kg BB which provides optimal analgesic activity on the *tail flick* method. Meanwhile, by using *Sigmund* method which gives optimal analgetik activity is ethanol extract of clover leaf dose 200 mg/Kg BB.

Keywords: clover (*Marsilea crenata Presl.*), analgesic, *tail flick*, *Sigmund*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Nyeri adalah perasaan sensoris dan emosional yang tidak nyaman, berkaitan dengan (ancaman) kerusakan jaringan. Nyeri merupakan suatu perasaan subyektif pribadi dan ambang toleransi nyeri berbeda-beda bagi setiap orang. Rasa nyeri dalam kebanyakan hal merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan jaringan, seperti peradangan, infeksi jasad renik atau kejang otot. Nyeri yang disebabkan oleh rangsangan mekanisme, kimiawi atau fisis (kalor, listrik) dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan (Tjay & Rahardja 2007).

Analgetik atau obat penghilang nyeri adalah zat-zat yang mengurangi atau menghalau rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Atas dasar kerja farmakologisnya, analgetik dibagi dalam dua kelompok besar, yakni analgetika perifer dan analgetika narkotik (opioida). Yang termasuk analgetika perifer adalah parasetamol, salisilat (asetosal), penghambat prostaglandin (NSAIDs), derivatantranilat (mefenaminat), derivat-pirazolinon (metamizol), dan lainnya (benzidamin). Efek samping yang paling umum dari obat tersebut adalah gangguan lambung usus, kerusakan darah, kerusakan hati dan ginjal, dan juga reaksi alergi kulit. Sedangkan, yang termasuk dalam analgetika narkotik (opioida) adalah agonis opiat yang dibagi menjadi alkaloida candu (morphin) dan zat-zat sintetis (metadon dan derivatnya), antagonis opiat (naloksin), dan campuran (nalorfin). Morfin dan opioida lainnya menimbulkan sejumlah besar efek samping yang tidak diinginkan yaitu, supresi SSP, pernapasan menjadi lebih dangkal, hipotensi, sekresi pankreas, usus dan empedu berkurang, gatal-gatal, dan dapat menjadi kebiasaan (Tjay & Rahardja 2007).

Masyarakat mulai memahami bahwa penggunaan tumbuhan berkhasiat obat sebenarnya bisa sejajar dan saling mengisi dengan pengobatan modern. Tidak jarang, penggunaan tumbuhan berkhasiat obat dengan berbagai alasan herbal dijadikan sebagai pilihan utama untuk pengobatan. Pengobatan herbal

masih digunakan sebagai pengobatan utama di negara berkembang, yaitu sekitar 75-80% dari total jumlah penduduk, hal ini karena obat herbal lebih diterima dalam hal kebudayaan, lebih terjangkau, lebih sesuai didalam tubuh dan memiliki efek samping yang ringan. Beberapa tahun terakhir, pengobatan herbal di negara maju mulai meningkat (Musa *et al.* 2009). Dengan semakin meningkatnya kesadaran tersebut, riset-riset ilmiah pun kini semakin banyak diarahkan pada bahan-bahan alami untuk mengetahui keseluruhan efek khasiat yang terkandung dalam tanaman obat tersebut. Tidak dapat dipungkiri bahwa penggunaan obat kimia yang bersifat analgetik dalam jangka panjang serta dosis yang berlebihan dapat merusak *hepar* dan *ren*. Hal ini sangat mungkin terjadi apalagi jika penggunaannya tidak tepat, obat yang seharusnya menyembuhkan malah dapat menghancurkan tubuh (Utami 2013). Dengan demikian, dilakukan penelitian untuk mencari terapi alternatif yang memberikan efek analgesik dan mempunyai efek samping ringan, yaitu dengan menggunakan obat herbal.

Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) merupakan salah satu tanaman yang banyak terdapat di Indonesia. Tanaman ini dimanfaatkan sebagai bahan makanan di berbagai negara seperti Filipina, Thailand dan Indonesia. Di daerah Surabaya semanggi dikonsumsi bersama sayuran lain yang dikenal dengan nama pecel semanggi (Astuti 2013). Selain dimanfaatkan sebagai sayuran, *M. crenata* juga mempunyai manfaat lain, seperti peluruh air seni (Afriastini 2003). *M. crenata* Presl. digunakan sebagai ekspektoran dan analgesik di Thailand (Nantasomsaran *et al.* 2013). Di India, *M. crenata* dimanfaatkan untuk mengobati kusta, demam dan keracunan pada darah (Astuti 2013), sedangkan di Bangladesh digunakan pada penyakit hepar (Mollik *et al.* 2010).

Jacoeb *et al.* (2010) menyatakan bahwa pada daun dan batang tanaman semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid. Ekstrak n-heksana dan fraksi daun *M. crenata* mengandung beberapa senyawa diterpenoid seperti neophytadiene yang memiliki aktivitas sebagai antiipiretik, analgesik, antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Ma'arif *et al* 2016). Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim sikloksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga

mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Steroid merupakan salah satu senyawa kimia yang banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Steroid dapat dimanfaatkan sebagai anti bakteri, anti inflamasi, dan obat pereda sakit (Kumar *et al.* 2009).

Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun *Marsilea minuta* Linn yang merupakan satu suku dengan *Marsilea crenata* (Presl.) memiliki kandungan steroidal/triterpenoid, flavonoid dan komponen fenol, pada dosis 200 mg/kg dapat memberikan efek antipiretik dan dosis 400 mg/kg dapat memberikan efek analgesik terhadap rangsangan yang berbeda yang dimediasi melalui mekanisme penghambatan pusat (Madhu *et al.* 2015).

Penelitian ini akan dilakukan untuk menguji aktivitas analgetik dari ekstrak etanol daun semanggi *Marsilea crenata* (Presl.) pada mencit putih jantan (*mus musculus*) dengan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*. Metode *tail flick* adalah salah satu metode pengujian aktivitas analgetika untuk mengevaluasi kerja dari analgetika pusat (Tasleem *et al.* 2014). Respon hewan coba yang terjadi adalah penjentikan atau penarikan ekor hewan coba secara tiba-tiba (Yusuf 2001). Metode *Sigmund* digunakan untuk mendapatkan efek analgetik dari suatu sediaan untuk rangsangan perifer (Hastuti & Safitri 2015). Respon hewan coba yang terjadi adalah geliatnya hewan coba.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) mempunyai aktivitas analgetik terhadap mencit yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol daun semanggi yang dapat memberikan aktivitas analgetik yang optimal pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*?

Ketiga, bagaimanakah hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi pada mencit putih jantan dengan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui dan membuktikan aktivitas analgetik dari ekstrak etanol daun semanggi pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*.

Kedua, untuk mengetahui dosis dari ekstrak etanol daun semanggi yang dapat memberikan aktivitas analgetik optimal pada mencit putih jantan yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*.

Ketiga, untuk mengetahui hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi pada mencit putih jantan dengan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan untuk pemanfaatan daun semanggi sebagai obat analgetik. Khususnya di bidang obat-obatan tradisional dapat digunakan sebagai masukan dalam pengembangan obat-obat fitofarmaka. Bagi peneliti diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat dari ekstrak etanol daun semanggi sebagai analgetik (*Marsilea crenata* Presl.) terhadap mencit putih jantan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.)

1. Sistematika tanaman



Gambar 1. Tanaman Semanggi (LIPI 2010)

Tanaman semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan	:	Plantae
Divisi	:	Pteridophyta
Class	:	Polypodiopsida
Bangsa	:	Salviniales
Suku	:	Marcileaceae
Genus	:	Marcilea
Spesies	:	<i>Marsilea crenata</i> Presl. (LIPI 2010)

2. Nama daerah

Tanaman semanggi memiliki dua nama daerah yaitu paku semanggi (Jawa), dan jakut calincingan (Sunda) (LIPI 2010).

3. Morfologi tanaman

Paku semanggi adalah tumbuhan kecil dan menjalar, dengan daun tegak menyerupai 4 daun semanggi. Rimpang panjang dan menjalar bercabang tak beraturan, menghasilkan akar di area nodus (ruas). Rimpang ini memiliki diameter beberapa milimeter dan panjang beragam. Pada rimpang ini terdapat beberapa rambut cokelat pucat. Sekitar 2-3 cm bagian dari nodus tenggelam di dalam tanah. Ada lebih sedikit bagian yang tenggelam jika mereka hidup secara terestrial.

Daun dihasilkan dari nodus pada rimpang, umumnya soliter (tunggal) atau mengelompok. Petiole pada tumbuhan terestrial memiliki panjang 2-4 cm dan pada tumbuhan akuatik berukuran 6-30 cm. Petiol berwarna hijau dengan warna lebih gelap di bagian pangkal. Permukaan halus atau terdapat sisik yang menyebar. Lamina berbentuk quadrifoliate yang simetris dengan 4 anak daun yang obovate (lonjong dengan bagian pangkal meruncing), lunak, berukuran 3-25 mm x 2-23 mm. Pangkal meruncing, tepi bagian distal rata, semi rata atau bergelombang. Apiks bulat, tipis, tekstur berkulit, halus, atau bersisik. vena anastomous dengan areoles yang runcing dan tidak terdapat veinlet (anak urat daun). Sporokarp berbentuk persegi, panjangnya sekitar 3-4 mm, dan memiliki tangkai sepanjang 1-5 mm, melekat pada bagian pangkal petiol. Bagian apikal bulat dengan dua gigi kecil, tidak memiliki rusuk, dan diselimuti oleh rambut yang mudah rontok (LIPI 2010).

4. Kegunaan tanaman

Semanggi Air (*Marsilea crenata*) mengandung kalium yang dapat menghambat reaksi ikatan kalsium dengan asam oksalat dan mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antiinflamasi (Nurjannah & Abdullah 2012).

Di daerah Jawa daun semanggi muda banyak digunakan sebagai bahan pangan. Semanggi muda banyak digunakan sebagai campuran pecel di daerah Surabaya (Afriastini 2003). Pemanfaatan semanggi air tidak hanya sebagai bahan pangan saja, daun dan batang semanggi juga dapat digunakan sebagai peluruh air seni (Afriastini 2003).

5. Kandungan kimia

Kandungan kimia pada daun tanaman semanggi segar antara lain berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid. (Jacobe *et al.* 2010)

5. 1. Gula pereduksi. Gula pereduksi adalah sakarida dengan karbon anomerik yang belum membentuk ikatan glikosidik dan karena itu dapat bertindak sebagai zat pereduksi. Merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron, contohnya adalah glukosa dan fruktosa (Pratt & Cornely 2013).

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

5. 3. Karbohidrat. Karbohidrat adalah senyawa organik yang mengandung atom karbon, hidrogen dan oksigen, dan pada umumnya unsur hidrogen dan oksigen dalam komposisi menghasilkan H₂O. Pada tumbuh-tumbuhan, karbohidrat dibentuk dari hasil reaksi CO₂ dan H₂O melalui proses foto sintese didalam sel-sel tumbuh-tumbuhan yang mengandung hijau daun (klorofil) (Hutagalung 2004).

5. 4. Flavonoid. Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C₆-C₃ (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C₆ yang diturunkan dari jalur poliketida (Heinrich *et al.* 2010). Flavonoid mempengaruhi berbagai macam aktivitas biologi atau farmakologi, diantaranya antioksidan, antitumor, antiangiogenik, antiinflamasi, analgetik, antialergik dan antiviral (Kasolo *et al.* 2010). Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan menghambat media sikloksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013).

5.5 Saponin. Saponin adalah glikosida yaitu metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam, terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon

atau sapogenin. Larutan saponin yang sangat encer sangat beracun untuk ikan, tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun (Jaya 2010).

5.6 Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan dalam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny 2006).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses apapun kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simpilsia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia serta cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Metode Ekstraksi Simplisia

1. Pengertian ekstraksi

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

1.1 Maserasi. Maserasi berasal dari kata “*macerare*” artinya melunakkan. Maserata adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi, sedangkan maserasi adalah cara penarikan simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari pada suhu biasa ataupun memakai pemanasan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Syamsuni 2012).

2. Pelarut

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

Pemakaian etanol 70% sebagai pelarut karena etanol 70% dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik dalam yang berifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Disamping itu etanol 70% mempunyai titik didih yang rendah (78.4°C) sehingga mudah diuapkan, aman digunakan dan mudah mendapatkannya (Inayati 2010).

D. Hewan Percobaan

Hewan coba atau sering disebut dengan hewan laboratorium adalah hewan yang khusus diternakkan untuk keperluan penelitian farmakologi. Hewan laboratorium tersebut digunakan sebagai model untuk penelitian pengaruh bahan kimia atau obat pada manusia.

1. Sistematika mencit

Sistematika hewan uji menurut (Kusumawati 2004, diacu dalam Wea 2016) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Animalia
Phylum	:	Chordate
Class	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Family	:	Muridae
Genus	:	Mus
Species	:	<i>Mus musculus</i>

2. Karakteristik mencit

Mencit yang paling sering dipakai untuk penelitian biomedis adalah *Mus musculus*. Berbeda dengan hewan-hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 gram. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Hewan ini memiliki karakter lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencit yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati 2004, diacu dalam Wea 2016).

3. Cara pemberian obat

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

E. Nyeri

1. Patofisiologi nyeri

Nyeri adalah perasaan sensoris dan emosional yang tidak nyaman, berkaitan dengan (ancaman) kerusakan jaringan. Nyeri merupakan suatu perasaan subyektif pribadi dan ambang toleransi nyeri berbeda-beda bagi setiap orang. Rasa nyeri dalam kebanyakan hal merupakan suatu gejala yang berfungsi sebagai isyarat bahaya tentang adanya gangguan jaringan, seperti peradangan, infeksi jasad renik atau kejang otot. Nyeri yang disebabkan oleh rangsangan mekanisme, kimiawi atau fisis (kalor, listrik) dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan. Rangsangan tersebut memicu pelepasan zat-zat tertentu yang disebut mediator nyeri, antara lain histamin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Setiap orang memiliki ambang toleransi nyeri yang berbeda-beda karena nyeri merupakan suatu perasaan subjektif pribadi. Ambang nyeri didefinisikan sebagai tingkat dimana seseorang merasakan nyeri untuk pertama kalinya. Batas nyeri untuk suhu adalah konstan, yakni pada 44°-45°C (Tjay & Rahardja 2007).

2. Mekanisme terjadinya nyeri

Rasa nyeri terjadi ketika rangsangan mekanik, kimiawi, atau fisik melampaui nilai ambang nyeri sehingga memicu pelepasan mediator-mediator nyeri, seperti histamin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Mediator nyeri ini nantinya akan merangsang reseptor nyeri pada ujung-ujung syaraf bebas di kulit, mukosa, serta jaringan lain dan menimbulkan kerusakan jaringan seperti reaksi peradangan, kejang-kejang, dan demam (Tjay & Rahardja 2007)

3. Penanganan nyeri

Penanganan rasa nyeri berdasarkan proses terjadinya, rasa nyeri dapat dilawan dengan beberapa cara, yakni dengan analgetika perifer, yang merintangi terbentuknya rangsangan pada reseptor nyeri perifer. Analgetika lokal, yang merintangi penyaluran rangsangan di saraf-saraf sensoris. Analgetika sentral (narkotika), yang memblokir pusat nyeri di SSP dengan anestesi umum. Antidepresiva trisiklis, yang digunakan pada nyeri kanker dan saraf, mekanisme kerjanya belum diketahui, misalnya amitriptilin. Antiepileptika, yang

meningkatkan jumlah neurotransmitter di ruang sinaps pada nyeri, misalnya pregabalin. Juga carbamazepin, okskarbazepin, fenitoin, valproate, dll (Tjay & Rahardja 2007).

F. Analgetik

Analgetik adalah senyawa yang pada dosis terapi mengurangi atau melenyapkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Analgesik menurunkan potensi kerjanya dapat dibagi dalam dua golongan besar yaitu analgesik narkotik dan analgesik perifer (Tjay & Raharja 2007).

1. Analgetik narkotik

Analgetik narkotik dapat mengurangi kesadaran (sifat meredakan dan menidurkan), mengakibatkan toleransi dan kebiasaan serta ketergantungan fisik dan psikis, misalnya golongan morfin dan turunannya: morfin, kodein, heroin, hidromorfin, hidrokodon, dan dionin. Mekanisme kerjanya adalah endorfin bekerja dengan jalan menduduki reseptor-reseptor nyeri di SSP, hingga perasaan nyeri dapat diblokir. Khasiat analgetik opioida berdasarkan kemampuannya adalah untuk menduduki sisa-sisa reseptor-reseptor nyeri yang belum ditempati endorfin. Tetapi, bila analgetika tersebut digunakan terus-menerus, pembentukan reseptor-reseptor baru distimulasi dan produksi endorfin di ujung syaraf otak dirintangi. Akibatnya terjadilah kebiasaan dan ketagihan (Tjay & Rahardja 2007).

Penggunaan analgetik narkotik dalam waktu lama akan menimbulkan kebiasaan dan ketergantungan bagi pemakai, dikarenakan berkurangnya resorpsi opioid atau perombakan eliminasinya dipercepat, atau bisa juga karena penurunan kepekaan jaringan. Obat menjadi kurang efektif sehingga diperlukan dosis yang lebih tinggi untuk mencapai efek semula. Peristiwa ini disebut toleransi yang menandakan bahwa dosis tinggi dapat lebih diterima tanpa menimbulkan efek intoksikasi, disamping terjadi ketergantungan fisik dapat pula terjadi ketergantungan psikis yaitu kebutuhan mentalakan efek psikotrop (euforia, rasa nyaman dan segar). Ketergantungan fisik pada lazimnya bisa lenyap dalam dua minggu setelah penggunaan obat dihentikan, sedangkan ketergantungan psikis seringkali sangat erat, sehingga pembebasan yang tuntas sulit dicapai (Tjay & Rahardja 2007).

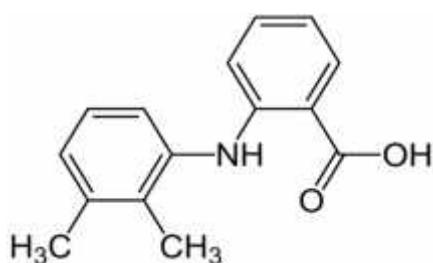
2. Analgetik perifer

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

Analgetik perifer dibagi menjadi beberapa golongan yaitu sebagai berikut: pertama golongan salisilat: asetosal, natirum salisilat, salisilamida, dan benerilat. Kedua derivat asetanilida: fenasetin dan paracetamol. Ketiga derivat pirazolom: antipirin, aminofenazon, dipiron, fenilbutazon, dan turunan-turunannya. Keempat derivat antranilat: glafenin, asam mefenamat, dan asam nifluminat (Tjay & Rahardja 2007). Mekanisme kerja analgetik ini adalah mempengaruhi proses sintesa prostaglandin dengan jalan menghambat enzim siklookksigenase yang menyebabkan asam arakidonat dan asam C₂₀ tak jenuh tidak dapat membentuk endoperokside yang merupakan prazat dari prostaglandin (Tjay & Rahardja 2007).

3. Asam mefenamat

Asam mefenamat merupakan turunan senyawa fenamat yang mempunyai sifat anti radang, antipiretik, dan analgetik.



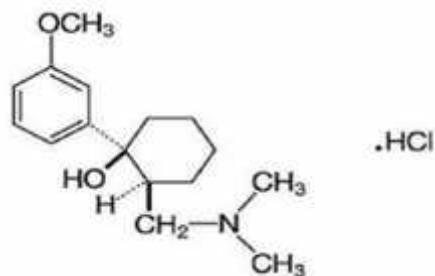
Gambar 2. Struktur kimia asam mefenamat (Rochma 2016)

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

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

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

4. Tramadol



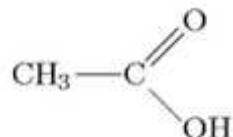
Gambar 3. Struktur kimia tramadol (Ajartha 2007)

Tramadol adalah analgesik opioid sintetik yang bekerja di sentral untuk mengatasi nyeri sedang hingga berat. Efek analgesik tramadol dihasilkan melalui jalur opioid dengan cara berikatan dengan reseptor μ dan jalur non-opioid (efek monoaminergik) dengan cara menghambat pengambilan norepinefrin dan serotonin. Afinitas tramadol terhadap reseptor μ relatif rendah sehingga aktivitas

opioid tramadol tergolong lemah dibandingkan dengan opioid lain seperti morfin dan kodein.

Tramadol dimetabolisme di hati dan diekskresi di urine. Efek analgesik tercapai dalam 1 jam dan mencapai puncaknya dalam 2 hingga 3 jam. Efek ini dapat bertahan hingga 6 jam. Dosis maksimal tramadol dalam sehari adalah 400 mg. Tramadol aman digunakan dalam jangka pendek dengan efek samping utama pusing, mual, sedasi, xerostomia, dan berkeringat. Secara klinis, tramadol terbukti mempunyai efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan opioid lainnya dalam hal depresi pernafasan, *konstipasi*, dan bahaya *adiksi* (Naharuddin 2013).

5. Asam asetat



Gambar 4. Struktur kimia asam asetat (Pratiwi 2011)

Asam asetat, asam etanoat, atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka memiliki rumus empiris $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$. Rumus ini seringkali ditulis dalam bentuk $\text{CH}_3\text{-COOH}$, CH_3COOH , atau $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$. Asam asetat murni (disebut asam asetat glasial) adalah cairan hidroskopis tak berwarna dan memiliki titik beku $16,7^\circ\text{C}$ (Sari 2010).

G. Metode Uji Analgetik

1. Rangsangan Panas

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

1.2 Metode Eddy-Leimbach. Metode ini menggunakan lempeng panas, lempeng panas diletakkan diatas campuran etilformiat dan aseton mendidih yang dapat mempertahankan lempeng tersebut pada suhu 55-55,5 °C.

2 Metode Grotto-Sulman

Metode ini menggunakan kotak plastik. Ekor hewan dibenamkan dalma penangas air pada suhu 50°C. Respons nyeri didasarkan atas pergerakan ekor tersebut.

3 Metode jentik ekor D' Amour dan Smith

Metode ini berdasarkan atas reaksi hewan terhadap rangsangan radiasi lampu osram 6460 bellaphot. Rangsangan terebut dikenakan pada bagian tengah ekor hewan tersebut. Alat analgesimeter terdiri dari silinder yang terdiri dari suatu alat pengatur cahaya, lensa dan lampu osram 6460 bellaphot. Hewan yang akan digunakan diletakkan didalam kandang kecil sedemikian rupa sehingga ekornya terletak diluar dan diletakkan diatas celah yang sempit. Bila hewan tenang maka diberi rangsangan nyeri, reaksi jentik ekor terhadap rangsangan nyeri yang langsung dapat dibaca pad alaat pencatat digital (Syamsudin 2011). Metode ini lebih efektif dibandingkan dengan metode Woolfe-Mac Donald karena waktu reaksi dapat dicatat langsung oleh komputer (Yusuf 2001)

4. Rangsangan Tekan (*Rendall dan Selitto*)

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

5. Rangsangan Listrik (*Nielsen*)

Metode ini menggunakan rangsangan listrik yg dikenakan pada ekor melalui elektroda yang dibalut emas. Elektroda dikaitkan dengan penjepit berpegas dan penjepit lain yang berkait pada wadah berisi hewan. Elektroda dapat masuk kedalam ekor hewan sampai 25 mm dari pangkal ekor. Kejutan diberikan setiap detik sampai didapat respons hewan mencicit.

6. Rangsangan Zat Kimia (*Sigmund*)

Metode ini menggunakan senyawa kimia yang dapat menimbulkan rasa nyeri seperti: asam asetat, HCl 2%, 5-hidroksi triptamin, fenilbenzokuinon, bradikinin dan lain-lain. Senyawa tersebut diberikan secara intraperitoneal 30 menit sebelum diberikan obat. Reaksi nyeri diperlihatkan oleh hewan antara lain: menggeliat, menggeser-gesarkan perut pada alas kandang. Jumlah geliat langsung diamati selama 30 menit dengan selang waktu 5 menit (Syamsudin 2011). Metode ini sederhana, reproducible (dapat diulang-ulang hasilnya), dan cukup peka untuk menguji senyawa analgetik dengan daya analgetik lemah, namun mempunyai kekurangan yaitu masalah kespesifikannya (Hidayat 2010).

H. Landasan Teori

Semanggi air (*Marsilea crenata*) merupakan salah satu jenis tumbuhan air yang termasuk ke dalam paku-pakuan dan banyak ditemukan pada pematang sawah, kolam, danau, rawa, dan sungai. Semanggi muda banyak digunakan sebagai campuran pecel di daerah Surabaya (Afriastini 2003). Pemanfaatan semanggi air tidak hanya sebagai bahan pangan saja, daun dan batang semanggi juga dapat digunakan sebagai peluruh air seni (Afriastini 2003). (Jacoeb *et al* 2010) menyatakan bahwa pada daun dan batang tanaman semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid. Ekstrak n-heksana dan fraksi daun *M. crenata* mengandung beberapa senyawa diterpenoid seperti neophytadiene yang memiliki aktivitas sebagai antipiretik, analgesik, antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Ma’arif *et al* 2016). Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun *Marsilea minuta* Linn yang merupakan satu suku dengan *Marsilea crenata* (Presl.) memiliki sifat antipiretik dan analgesik kuat terhadap rangsangan yang berbeda yang dimediasi melalui mekanisme penghambatan pusat (Madhu *et al.* 2015).

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Etanol 70% digunakan karena dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik dalam yang

bersifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhinya karpang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Disamping itu etanol 70% mempunyai titik didih yang rendah (78.4°C) sehingga mudah diuapkan, aman digunakan dan mudah mendapatkannya (Inayati 2010).

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

I. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu pertama, ekstrak etanol daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dapat memberikan efek analgetik pada hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*) yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *sigmund*. Kedua, dosis ekstrak etanol daun semanggi yang dapat memberikan aktivitas analgetik yang optimal adalah dosis ekstrak daun semanggi yang setara dengan daun *Marsilea minuta* Linn.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang diambil dari Kota Batu, Jawa Timur.

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dengan ciri-ciri berwarna hijau, tidak busuk, dan belum berubah warna.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol daun semanggi dan efek analgetik yang ditujukan sebagai respon nyeri yaitu penarikan atau penjentikan ekor mencit dan geliat mencit.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan perubahan. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun semanggi.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah suatu variabel yang variasinya dipengaruhi oleh variasi beberapa variabel lain. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya analgetik ekstrak etanol daun semanggi.

2.3 Variabel terkendali. Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah

jenis kelamin, galur hewan coba, kondisi fisik maupun lingkungan, kondisi laboratorium dan kondisi peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) segar, tidak busuk, berwarna hijau, yang diambil di Kota Batu, Jawa Timur.

Kedua, daun semanggi yang segar tidak busuk, berwarna hijau, yang diambil di Kota Batu, Jawa Timur dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Selanjutnya diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun semanggi adalah ekstrak hasil remaserasi serbuk daun semanggi menggunakan pelarut etanol 70% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai kental.

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

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

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

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

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

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

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

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak yaitu blender, oven, neraca analitik, dan ayakan nomor 40. Alat untuk pembuatan ekstrak etanol 70% yaitu bejana maserasi, batang pengaduk, *rotary evaporator*, gelas ukur, *moisture balance*, *Sterling-Bidwell*, beaker glass, dan kain flanel. Alat untuk pengujian efek analgetik yaitu timbangan mencit, neraca analitik, sputin injeksi, jarum sonde, beaker glass, sarung tangan, *stopwatch*, seperangkat alat *tail flick analgesy-meter*. Alat untuk pengujian kualitatif yaitu tabung reaksi, pipet tetes, dan lampu spiritus.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang segar, diambil dari daerah Kota Batu, Jawa Timur.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70% sebagai cairan penyari, asam mefenamat dan tramadol sebagai kontrol positif, CMC-Na, aqua destilata sebagai kontrol negative, Mg, alcohol, asam klorida, dan FeCl₃.

2.3 Hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan dengan berat badan antara 20-30 gram dan berumur 2-3 bulan (Depkes 2000). Hewan uji tersebut diperoleh dari Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman adalah dilakukan adalah untuk menetapkan kebenaran sampel daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dengan mencocokkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis daun semanggi dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang segar, tidak busuk, berwarna hijau, yang diambil dari daerah Kota Batu, Jawa Timur.

3. Pembuatan serbuk daun semanggi

Tanaman daun semanggi yang sudah dipanen ± 5 kg dibersihkan dari cemaran atau kotoran dengan air mengalir, dirajang, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai menjadi kering. Pembuatan serbuk adalah dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang diinginkan.

4. Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun semanggi

Serbuk kering daun semanggi diekstraksi dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 bagian. Masukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai dihasilkan ekstrak etanol 70% daun semanggi kental. Rendemen yang dihitung adalah persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Kemenkes 2013).

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

5. Penetapan kadar kelembapan serbuk daun semanggi

Penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak daun semanggi dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dengan menggunakan *moisture balance*. Serbuk daun semanggi ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *mositure balance* pada suhu 105°C dan ditunggu sampai memberikan tanda atau bunyi. Angka yang tertera pada alat *mositure balance* adalah persen kadar lembab yang dihasilkan oleh serbuk daun semanggi

selama proses pemanasan, kadar lembab dalam serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

6. Penetapan kadar air daun semanggi

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

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

7. Uji bebas etanol

Ekstrak daun semanggi bebas etanol dilakukan dan dibuktikan di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Ekstrak diuji etanolnya untuk mengetahui apakah ekstrak daun semanggi diuji etanolnya dengan melakukan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH kemudian dipanaskan, hasil uji bebas etanol dalam ekstrak daun semanggi ditandai dengan tidak adanya bau eter yang khas dari etanol.

8. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun semanggi

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun semanggi. Identifikasi senyawa adalah gula pereduksi, steroid/terpenoid, karbohidrat, dan flavonoid, dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

8.1. Identifikasi gula pereduksi. Identifikasi gula pereduksi dapat dilakukan dengan cara sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan 5 ml larutan benedict lalu diaduk. Kemudian panaskan dalam penangas air. Terbentuknya endapan berwarna merah bata menunjukkan positif gula pereduksi (Maligan 2014).

8.2. Identifikasi steroid/triterpenoid. Sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan dengan satu tetes Liebermann Bourchard yang terdiri dari 1 ml asam

asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu, dan terakhir biru, menunjukkan positif steroid dan triterpenoid (Sarker 2006).

8.3. Identifikasi karbohidrat. Identifikasi karbohidrat dapat dilakukan dengan cara sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan 2 tetes reagen Molisch dan dikocok. Kemudian ditambahkan 1 ml H_2SO_4 pekat perlahan-lahan dituangkan melalui dinding tabung reaksi agar tidak sampai bercampur dengan larutan atau hanya membentuk lapisan. Terbentuknya cincin berwarna ungu menunjukkan positif karbohidrat (Maligan 2014).

8.4. Identifikasi flavonoid. Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan cara sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan 100 ml air panas kemudian didihkan selama 5 menit, disaring dan ambil filtratnya 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker 2006).

8.5. Identifikasi saponin. Simplicia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan aquades 10 ml, dikocok dan ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N. Tabung reaksi tersebut didiamkan dan diperhatikan ada atau tidak adanya busa stabil. Sampel mengandung saponin jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik (Jaya 2010).

8.6. Identifikasi alkaloid. Ekstrak daun semanggi ditimbang masing-masing 2 mg dilarutkan dalam 10 ml air panas lalu dipanaskan 15 menit, dinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukkan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 1,5 ml asam klorida 2%, larutan dibagi ke dalam 3 tabung dan masing-masing sama banyak. Tabung reaksi yang pertama, untuk pembanding. Tabung reaksi kedua ditambah 2 tetes reagent Dragendorf, reaksi positif ditunjukkan adanya keruhan atau endapan coklat. Tabung reaksi ketiga ditambah 2-4 tetes reagen Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya endapan putih kekuningan (Depkes 1978).

9. Penetapan dosis dan pembuatan larutan

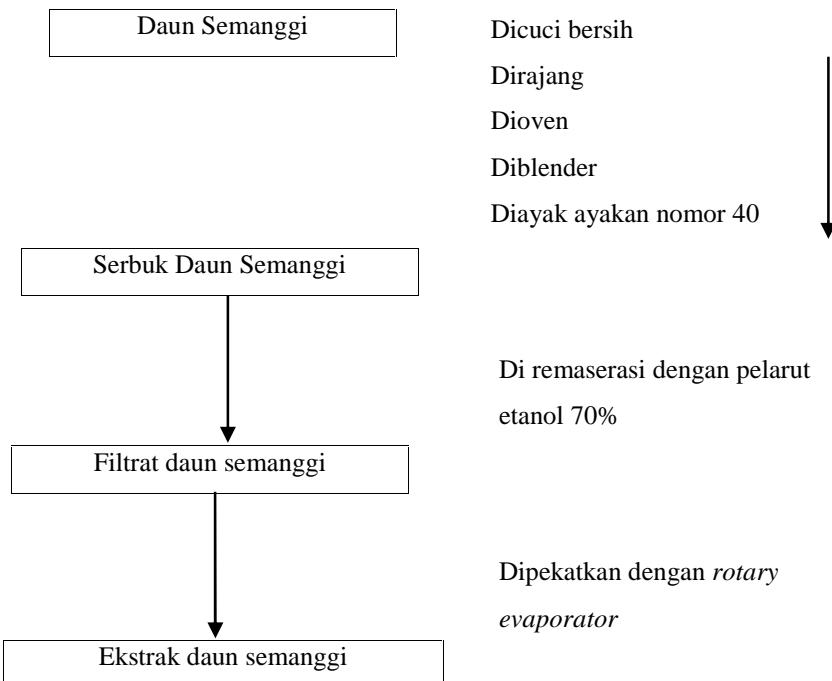
9.1. CMC-Na 1%. Serbuk CMC-Na ditimbang 1 gram dan dimasukkan ke dalam cawan penguap, kemudian ditambah dengan sedikit aquadest dan dipanaskan hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

9.2. Asam mefenamat 1%. Dosis asam mefenamat ditentukan berdasarkan faktor konversi dosis manusia. Dosis lazim asam mefenamat adalah 500 mg sekali pakai. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70mg/kg ke mencit adalah 0,0026. Jadi dosis asam mefenamat yang akan diberikan pada mencit adalah $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg}/20 \text{ gram BB}$. Asam mefenamat ditimbang 0,25 gram dan ditambahkan CMC-Na sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga 25 ml sampai terbentuk larutan suspensi.

9.3. Tramadol 0,5%. Dosis tramadol ditentukan berdasarkan faktor konversi dosis manusia. Dosis lazim tramadol adalah 50 mg sekali pakai. Konversi dosis manusia dengan berat badan 70mg/kg ke mencit adalah 0,0026. Jadi dosis tramadol yang akan diberikan pada mencit adalah $50 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,13 \text{ mg}/20 \text{ gram BB}$. Tramadol 100 ml ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga 20 ml sampai terbentuk larutan.

9.4. Asam asetat 1%. Larutan uji asam asetat 1% dibuat dengan mengencerkan asam asetat 1 ml dalam 100 ml aquadest dalam labu takar. BJ asam asetat 1050 mg/ml (Nugrahaini 2015)

9.5. Ekstrak etanol daun semanggi. Berdasarkan hasil dari orientasi didapatkan ekstrak daun semanggi dalam tiga peringkat variasi konsentrasi dosis yang berbeda, yaitu 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 400 mg/Kg BB ekstrak etanol daun semanggi ditimbang 0,75 gram kemudian dilarutkan dengan CMC 25 ml yang telah dibuat sebelumnya dan diaduk sampai homogen, sediaan uji dibuat berdasarkan, volume ideal yang boleh dimasukkan ke dalam tubuh hewan percobaan secara oral.



Gambar 5. Pembuatan ekstrak daun semanggi

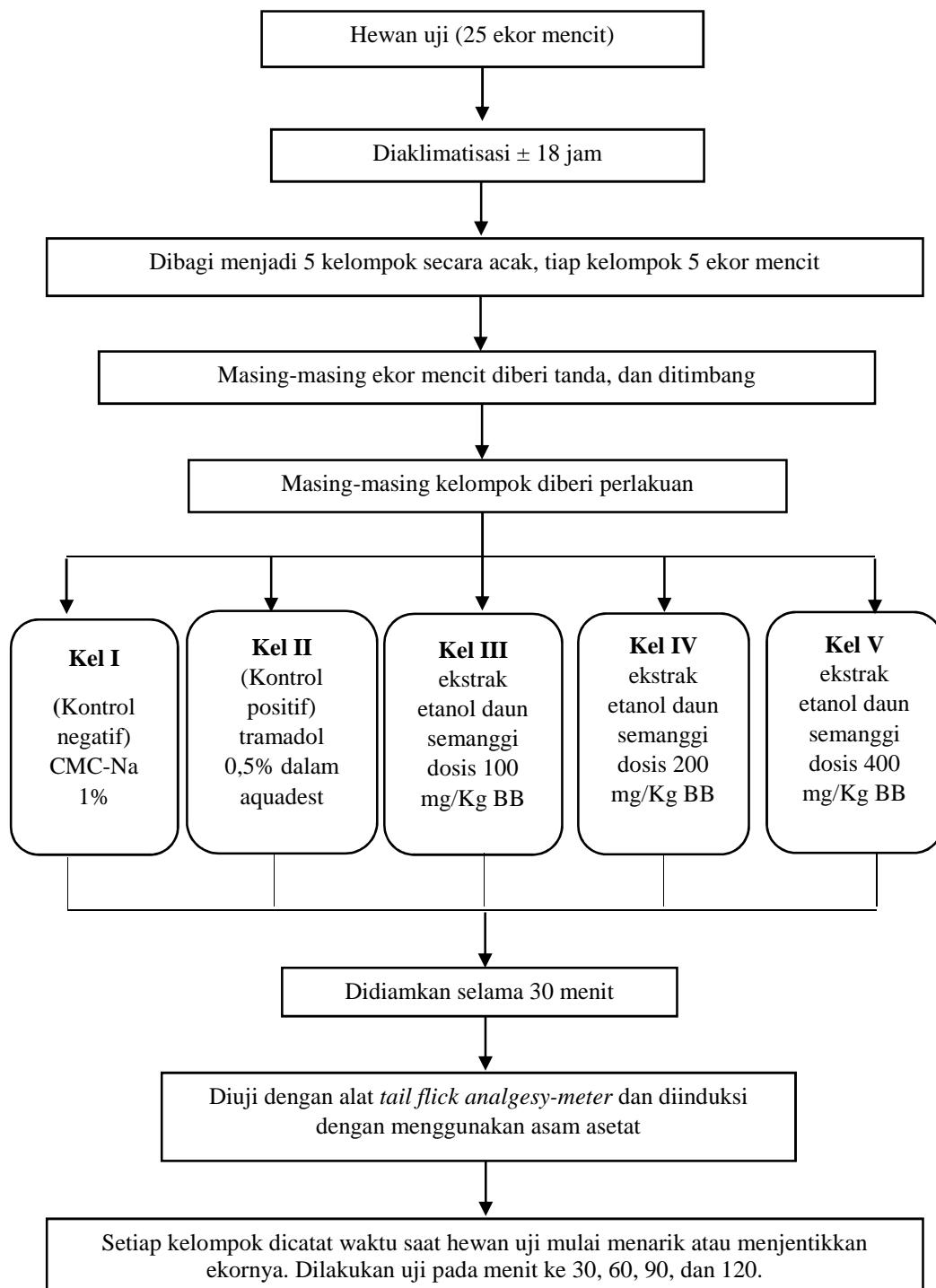
10. Uji efek analgetik metode *tail flick*

Mencit yang telah diaklimatisasi selama \pm 18 jam dikeompokkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok uji tersebut adalah sebagai berikut :

1. Kelompok I, yaitu dengan kontrol negatif yang diberikan per oral larutan CMC-Na 1%.
2. Kelompok II, yaitu dengan kontrol positif yang diberikan peroral larutan asam mefenamat 1%.
3. Kelompok III, yaitu pemberian dosis 100 mg/Kg BB ekstak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.
4. Kelompok IV, yaitu pemberian dosis 200 mg/Kg BB ekstak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.
5. Kelompok V, yaitu pemberian dosis 400 mg/Kg BB ekstak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.

Sebelum hewan uji diberikan larutan uji, hewan uji dihitung terlebih dahulu t_0 nya, selanjutnya hewan uji diberi larutan uji sesuai kelompoknya, 30

menit selanjutnya hewan uji diuji menggunakan *tail flick analgesy-meter*. Kemudian dicatat waktu hewan uji mulai menarik atau menjentikkan ekornya, pengujian dilakukan pada menit ke 30, 60, 90, dan 120. Skema penelitian aktivitas analgesik ekstrak daun semanggi (Gambar 6).



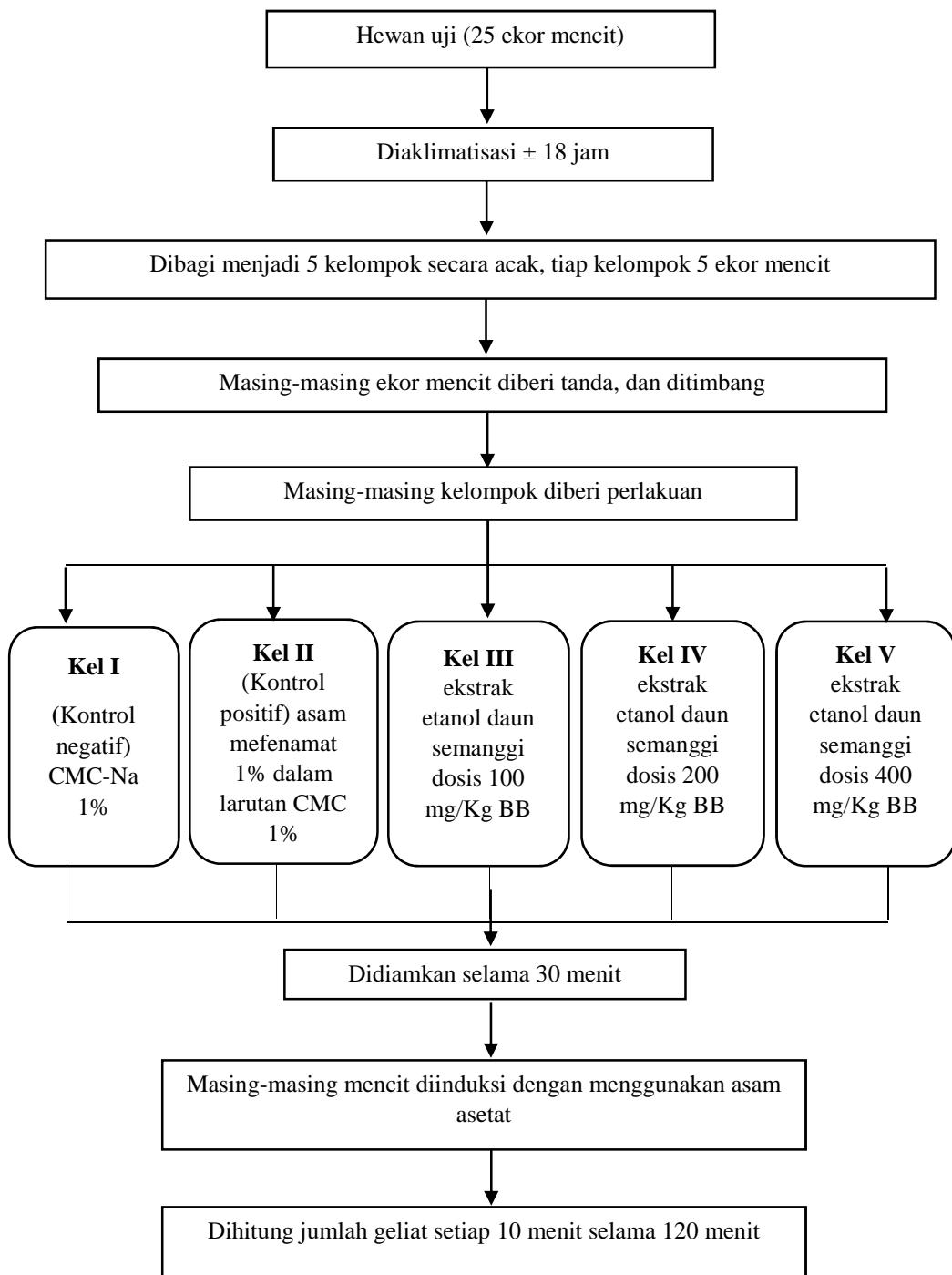
Gambar 6. Skema uji analgetik ekstrak etanol daun semanggi dengan metode *tail-flick*

11. Uji efek analgetik metode *Sigmund*

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

1. Kelompok I, yaitu dengan kontrol negatif yang diberikan per oral larutan Na CMC 1%.
2. Kelompok II, yaitu dengan kontrol positif yang diberikan per oral larutan asam mefenamat 1%.
3. Kelompok III, yaitu dengan pemberian dosis 100 mg/Kg BB ekstrak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.
4. Kelompok IV, yaitu dengan pemberian dosis 200 mg/Kg BB ekstrak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.
5. Kelompok V, yaitu dengan pemberian dosis 400 mg/Kg BB ekstrak daun semanggi yang diberikan per oral pada mencit.

Setelah diberi perlakuan dosis tunggal peroral, 30 menit kemudian hewan uji diberi perangsang nyeri berupa asam asetat dengan cara intraperitoneal (ip). Kemudian diamati dan dicatat jumlah geliat yang ditunjukkan hewan uji setiap 10 menit selama 120 menit. Skema penelitian dapat dilihat pada (Gambar 7).



Gambar 7. Skema uji analgetik ekstrak etanol daun semanggi dengan metode *Sigmund*

12. Perhitungan persen daya analgetik

11.1 Tail flick. Berdasarkan Burhanuddin (2016), perhitungan persen daya analgetik metode *tail flick analgesy-meter* dinyatakan dengan persen hambatan nyeri (PHN) yang dihitung menggunakan rumus:

$$PHN = \frac{T2 - T1}{T1} \times 100\%$$

Dimana, T_1 = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian CMC-Na (kelompok kontrol negatif).

T_2 = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian tramadol dan larutan ekstrak.

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

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

Keterangan :

P = R jumlah geliat kumulatif kelompok percobaan rata-rata tiap individu

K = Jumlah geliat kumulatif kelompok kontrol rata-rata

E. Analisis data

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

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil determinasi tanaman Semanggi

Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan pada suatu penelitian ini adalah yang menggunakan sampel berupa tanaman dan penggunaannya pada beberapa bagian dari tanaman tersebut. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan ciri morfologi tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Determinasi tanaman dari daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dilakukan di bagian Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun semanggi

Tanaman semanggi yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Kota Batu, Jawa Timur. Daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang diambil memiliki ciri-ciri berwarna hijau, tidak busuk, dan belum berubah warna. Daun semanggi yang telah diperoleh dicuci dengan air bersih agar bebas dari kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 . Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Muller et al, 2006).

Daun semanggi yang telah dikeringkan kemudian digiling sampai halus dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Hasil pengeringan daun semanggi dapat dilihat di tabel 1 dan perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat pada lampiran 12.

Tabel 1. Hasil pengeringan daun semanggi

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
3000	850	28

3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi

Serbuk daun semanggi sebanyak 20 g, diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang tentang besarnya kandungan air. Nilai maksimal yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi (Direktur Jenderal POM 2000). Hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi

No	Berat serbuk (g)	Kadar air (%)
1	20	5
2	20	5,5
3	20	5
Rata-rata ± SD		5,2 ± 0,289

Tabel 2 menunjukkan hasil penetapan kadar air serbuk daun semanggi dengan persentase rata-rata kandungan kadar air adalah 5,2%; hal ini sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan yaitu < 10% (Zainab 2016). Perhitungan kadar air dapat dilihat di lampiran 14.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun semanggi

Ekstrak etanol daun semanggi diperoleh dengan menggunakan metode remaserasi karena metode remaserasi memiliki nilai rendemen ekstrak yang tinggi. Hal ini dikarenakan pada saat remaserasi terdapat penggantian pelarut. Dengan penggantian pelarut ini ada beberapa hal yang terjadi, antara lain jumlah pelarut yang digunakan lebih banyak sehingga senyawa yang tertarik pun lebih banyak. Adanya pengocokan juga sangat membantu mempermudah pelarut dalam melarutkan senyawa-senyawa tersebut (Pratiwi 2010). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik dalam yang berifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhinya kapang dan kuman (Inayati 2010). Wadah remaserasi yang digunakan botol berbahan kaca gelap untuk menghindari dari sinar matahari secara langsung.

Proses remaserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak mrnguap pada suhu kamar dan sesekali dilakukan penggojukan supaya partikel serbuk dapat bersentuhan langsung dengan pelarut sehingga proses penarikan zat aktif dapat berlangsung maksimal. Proses remaserasi dilakukan selama 2 kali 24

jam. Setelah hari ke 2 maserat disaring dan dilakukan proses penguapan dengan *vacum rotary evaporator*, kemudian diuapkan lagi menggunakan oven hingga diperoleh ekstrak kental. Data rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3 dan lampiran 13.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun semanggi

Serbuk daun semanggi (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
300	31,89	10,6

5. Hasil kadar kelembapan serbuk daun semanggi

Kadar kelembapan serbuk daun semanggi diukur dengan alat *moisture balance*. Kadar kelembapan yang tinggi pada serbuk dapat memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun semanggi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun semanggi

No	Serbuk (g)	Kadar kelembapan (%)
1	2	5
2	2	5
3	2	4
Rata-rata ± SD		4,7 ± 0,577

Hasil rata-rata kadar kelembapan serbuk daun semanggi adalah $4,7 \pm 0,577$; hal ini sesuai dengan kadar kelembapan yang dipersyaratkan yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes 1978).

6. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak etanol daun semanggi

Pemeriksaan kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun semanggi dilakukan menggunakan uji tabung untuk mengetahui kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam daun semanggi. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Universitas Setia Budi.

Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak daun semanggi menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia berupa gula pereduksi, steroid, karbohidrat, flavonoid, dan saponin. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak daun semanggi dapat dilihat pada Tabel 5 dan lampiran 9.

Tabel 5. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak daun semanggi

No	Kandungan kimia	Metode /reagen uji	Hasil	
			Serbuk	Ekstrak
1	Gula pereduksi	Larutan Benedict	+	+
2	Steroid	Liebermann Bourchard	+	+
3	Karbohidrat	Molisch dan H ₂ SO ₄	+	+
4	Flavonoid	Amil alkohol	+	+
5	Saponin	Uji buih	+	+
6	Alkaloid	Dragendorf dan Mayer	+	+

Keterangan :

+ : mengandung senyawa kimia

7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun semanggi

Ekstrak daun semanggi dilakukan uji bebas alkohol dengan uji esterifikasi alkohol. Hasil uji bebas alkohol menunjukkan bahwa ekstrak daun semanggi telah bebas dari alkohol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester khas dari etanol. Uji bebas alkohol 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.

B. Hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi

1. Metode Tail-flick

Uji analgetik dengan metode tail-flick digunakan untuk mengukur nyeri nosiseptif spinal berdasarkan sensitifitas hewan pada kenaikan temperatur.

Pengujian aktivitas analgetik ekstrak daun semanggi diujikan pada mencit putih jantan dengan berat badan 20-30 gram. Bahan uji yang digunakan adalah larutan CMC, larutan tramadol, dan larutan ekstrak etanol daun semanggi.

Kontrol positif yang digunakan adalah tramadol. Pemilihan tramadol dikarenakan tramadol adalah analgesik opioid sintetik yang bekerja di sentral untuk mengatasi nyeri sedang hingga berat. Secara klinis, tramadol terbukti

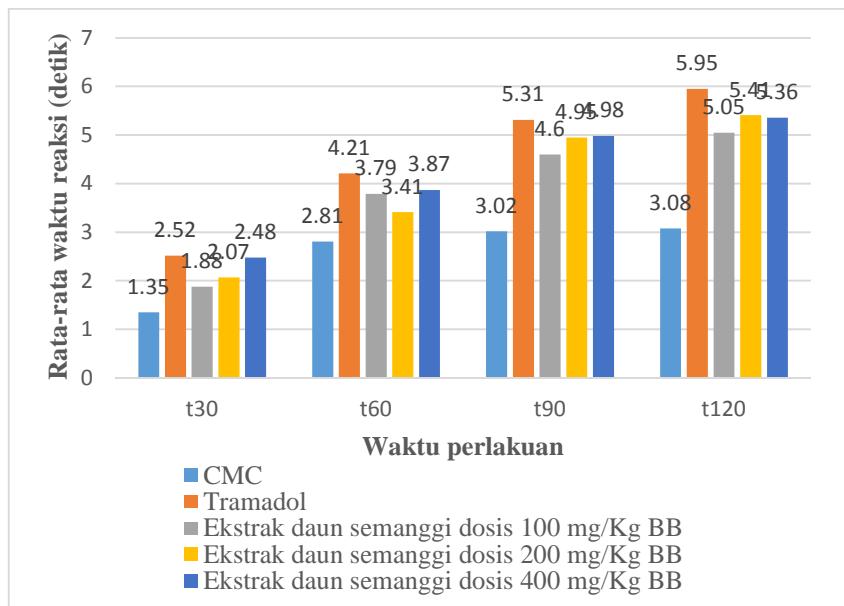
mempunyai efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan opioid lainnya dalam hal depresi pernafasan, *konstipasi*, dan bahaya *adiksi* (Naharuddin 2013).

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan. Pemilihan jenis kelamin jantan karena kondisi biologisnya lebih stabil, tidak mudah stress dan pengaruh hormonal. Alat yang digunakan dalam pengujian aktivitas analgetik adalah *tail flick analgesy-meter*.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok I (kontrol negatif), diberikan larutan CMC 1% per oral. Kelompok II diberikan larutan per oral tramadol 0,5%. Kelompok III diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 100 mg/Kg BB. Kelompok IV diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 200 mg/Kg BB. Kelompok V diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 400 mg/Kg BB. Selanjutnya, dilakukan pengujian efek analgetik menggunakan *tail flick analgesy-meter*. Mencit yang dirangsang dengan alat *tail flick analgesy-meter* sebagai stimulus nyeri memberikan respon rasa nyeri dengan bentuk reaksi menarik ekornya.

Tabel 6. Data rata-rata waktu reaksi (detik)

waktu perlakuan	CMC	Tramadol	Dosis 100 mg/Kg BB	Dosis 200 mg/Kg BB	Dosis 400 mg/Kg BB
t30	1,35	2,78	1,52	2,48	2,48
t60	2,81	4,47	3,21	3,35	3,67
t90	3,02	5,17	4,2	4,82	4,94
t120	3,08	5,81	5,09	5,37	5,56



Gambar 8. Grafik waktu rata-rata (detik) hewan uji

Gambar 8 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif CMC memberikan data waktu yang sangat berbeda dibandingkan kontrol uji yang lain. Hal ini dikarenakan CMC tidak mempunyai aktivitas analgetik. Kelompok kontrol positif (tramadol) memberikan data waktu yang terus meningkat pada setiap waktu perlakuan, hal ini dikarenakan mula kerja tramadol yang sangat cepat, hanya sekitar 20 menit dan *peak serum* level dicapai 2 jam (Ajartha 2007).

Dari grafik hubungan antara kelompok dosis dengan waktu reaksi terlihat bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun semanggi hewan uji dapat memberikan waktu reaksi yang lebih lama. Hal ini membuktikan aktivitas analgetik yang diberikan ekstrak etanol daun semanggi semakin besar, sehingga dapat diduga adanya hubungan antara dosis dengan efek analgetik. Data persen hambatan nyeri (PHN) pada kelompok kontrol positif dan kelompok dosis ekstrak etanol daun semanggi dapat dilihat pada Tabel 7 lampiran 18.

Tabel 7. Persentase Hambatan Nyeri (PHN)

Kelompok Mencit	Persen Hambatan Nyeri (PHN)			
	Tramadol 6,5 mg/Kg BB	Dosis 100 mg/Kg BB	Dosis 200 mg/Kg BB	Dosis 400 mg/Kg BB
1	66,47%	27,96%*	51,81%*	57,77%
2	69,57%	36,29%*	53,10%*	60,34%
3	79,25%	37,98%*	55,10%*	62,13%
4	86,18%	39,76%*	58,93%*	65,89%
5	88,58%	42,23%*	62,09%*	66,12%

Rata-rata+SD	78±9,802	36,84±5,432	56,21±4,250	62,45±3,598
--------------	----------	-------------	-------------	-------------

Ket :

* = menunjukkan ada perbedaan signifikansi pada uji Dunnett T3 dengan nilai signifikan = 0,05 terhadap kontrol positif (tramadol)

Data persen hambatan nyeri dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas analgetik antar kelompok perlakuan. Hasil pada tabel dapat diketahui bahwa semua kelompok dosis memberikan data persen hambatan nyeri lebih kecil dari kontrol positif (tramadol). Kelompok dosis 100 mg/Kg BB dan dosis 200 mg/Kg BB menunjukkan ada perbedaan signifikan dengan kontrol positif (tramadol), sedangkan pada dosis 400 mg/Kg BB menunjukkan tidak terdapat perbedaan dengan kontrol positif (tramadol). Dapat dilihat pula bahwa tiga kelompok dosis yang memiliki data persen hambatan nyeri terbesar adalah kelompok dosis 400 mg/Kg BB.

Hasil pengujian data menggunakan statistik *One Way Anova* dengan metode *Tukey* diperoleh bahwa kelompok kontrol positif (tramadol) dan kelompok dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 400 mg/Kg BB menunjukkan efek analgesik yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok tersebut memiliki efek analgesik. Kelompok dosis 100 mg/Kg BB dan dosis 200 mg/Kg BB berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif (tramadol), dapat disimpulkan bahwa kelompok tersebut tidak memiliki efek analgesik. Sedangkan, pada dosis 400 mg/Kg BB menunjukkan tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan dosis 400 mg/Kg BB memiliki efek analgesik yang hampir setara dengan dosis tramadol sekali pemberian. Tabel uji statistika dapat dilihat pada lampiran 21.

2. Metode *Sigmund*

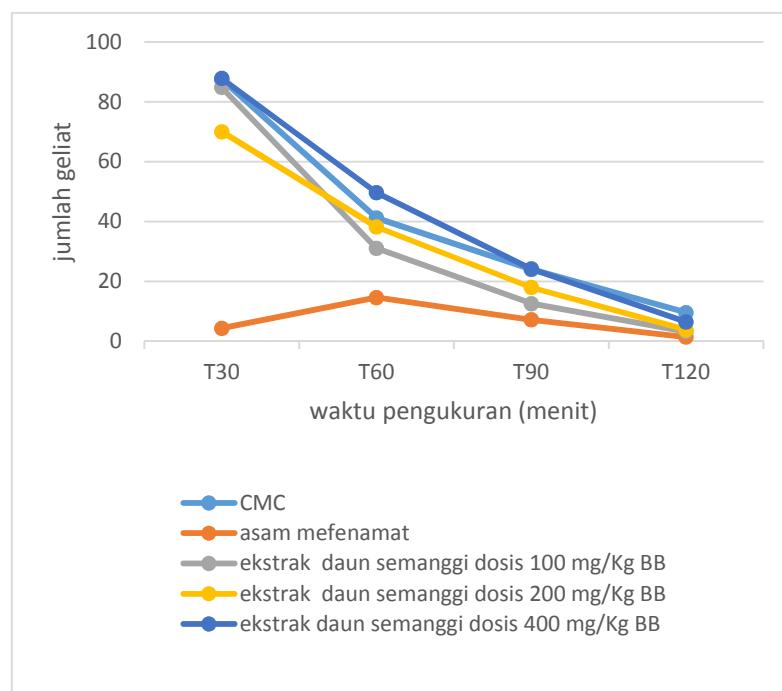
Metode ini cocok untuk mengevaluasi analgetika non narkotik. Manifestasi nyeri akibat pemberian perangsang nyeri asam asetat intraperitoneal akan menimbulkan refleks respon geliat (writhing) yang berupa tarikan kaki ke belakang. Pada metode ini bahan uji yang digunakan adalah larutan CMC, larutan suspensi asam mefenamat, larutan ekstrak etanol daun semanggi dan larutan asam asetat.

Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok I (kontrol negatif), diberikan larutan CMC 1% per oral. Kelompok II diberikan larutan per oral asam mefenamat 1%. Kelompok III diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 100 mg/Kg BB. Kelompok IV diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 200 mg/Kg BB. Kelompok V diberikan larutan per oral ekstrak etanol daun semanggi dengan dosis 400 mg/Kg BB. Selanjutnya, mencit diberi rangsangan nyeri dengan asam asetat 1 %. Nyeri ditandai dengan geliat, yaitu abdomen menyentuh dasar tempat berpijak dan kedua pasang kaki ditarik ke belakang.

Pengujian aktivitas analgetik didapatkan data kumulatif rata-rata jumlah geliat hewan uji dapat menahan rangsangan nyeri dan SD. Hasil dapat dilihat pada Tabel 8 dan grafik pada Gambar 9.

Tabel 8. Rata-rata kumulatif jumlah geliat dan SD

Kelompok	CMC	Asam mefenamat	Dosis 100 mg/Kg BB	Dosis 200 mg/Kg BB	Dosis 400 mg/Kg BB
Rata-rata±SD	162,2±11,234	68,4±9,317	131,6±9,939	122±10,223	140,4±7,701



Gambar 9. Grafik rata-rata kumulatif jumlah geliat (menit)

Pada grafik hubungan antara kelompok dosis dengan jumlah geliat terlihat bahwa dosis ekstrak etanol daun semanggi dapat menurunkan jumlah geliat pada hewan uji. Dapat dilihat juga pada rata-rata kumulatif jumlah geliat bahwa pemberian ekstrak dan kontrol positif (asam mefenamat) dapat mengurangi geliat pada mencit yang merupakan respon nyeri yang diakibatkan dari pemberian asam asetat secara intraperitoneal. Pada kelompok dosis ekstrak terlihat bahwa dosis 200 mg/Kg BB memiliki hasil rata-rata kumulatif lebih kecil dibandingkan dengan dosis 100 mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB.

Dari hasil pengujian data menggunakan statistik *One Way Anova* dengan metode *Tukey* diperoleh bahwa kelompok kontrol positif (asam mefenamat) dan kelompok dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 400 mg/Kg BB menunjukkan efek analgesik yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok tersebut memiliki efek analgesik. Kelompok dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 400 mg/Kg BB menunjukkan efek analgesik yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif (asam mefenamat), dapat disimpulkan bahwa kelompok tersebut memiliki efek analgesik namun masih lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (asam mefenamat). Tabel uji statistika dapat dilihat pada lampiran 21.

Persen proteksi analgetik dihitung untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas analgetik antar kelompok perlakuan untuk mengurangi respon geliat mencit yang diinduksi dengan asam asetat. Data persen proteksi analgetik pada kelompok kontrol positif dan kelompok dosis ekstrak etanol daun semanggi dapat dilihat pada Tabel 9 lampiran 20.

Tabel 9. Persen proteksi analgetik

Kelompok	Asam mefenamat 65 mg/Kg BB	Dosis 100 mg/Kg BB	Dosis 200 mg/Kg BB	Dosis 400 mg/Kg BB
% proteksi analgetik	57,83%	18,87%	24,78%	13,44%

Berdasarkan hasil pada Tabel 8 dapat diketahui bahwa semua kelompok dosis memberikan data persen proteksi analgetik lebih kecil dari kontrol positif

(asam mefenamat). Sedangkan, pada tiga kelompok dosis yang menunjukkan data persen proteksi analgetik terbesar adalah kelompok dosis 200 mg/Kg BB.

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa metode *tail flick* memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode *Sigmund*. Sehingga, dapat dinyatakan bahwa daun semanggi dapat digunakan sebagai analgetik pada tingkat sedang hingga kuat. Hal ini dapat disebabkan dari kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun semanggi.

Daun semanggi mengandung senyawa kimia antara lain, gula pereduksi, steroid, karbohidrat, flavonoid, saponin dan alkaloid. Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan menghambat media siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun (Pandey *et al.* 2013). Steroid juga dapat bermanfaat sebagai analgetik. Dengan menurunkan produksi berbagai mediator inflamasi yang memperkuat pemeliharaan persepsi nyeri. Alkaloid memberikan sifat analgetik dengan cara bekerja terhadap reseptor opioid khas di SSP, hingga persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah (dikurangi) (Syarif, dkk. 2009). Ekstrak daun semanggi dosis 400 mg/Kg BB pada metode *tail flick* memberikan efek yang optimal dibandingkan dengan metode *Sigmund*, hal ini dapat diduga karena kandungan alkaloid pada ekstrak daun semanggi lebih tinggi dibandingkan flavonoid.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak etanol daun semanggi mempunyai aktivitas analgetik terhadap mencit yang diuji menggunakan metode *tail flick* dan metode *Sigmund*.

Kedua,. ekstrak etanol daun semanggi dosis 400 mg/Kg BB yang memberikan aktivitas analgetik optimal pada metode *tail flick*. Sedangkan, dengan menggunakan metode *Sigmund* yang memberikan aktivitas analgetik optimal adalah ekstrak etanol daun semanggi dosis 200 mg/Kg BB.

Ketiga, hasil uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi menunjukkan metode *tail flick* memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode *Sigmund*. Sehingga, dapat dinyatakan bahwa daun semanggi dapat digunakan sebagai analgetik pada tingkat sedang hingga kuat.

B. Saran

Saran pada para peneliti selanjutnya adalah :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas analgesik ekstrak etanol daun semanggi dengan menggunakan metode ekstraksi, jenis pelarut, dan variasi dosis yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Kedua, perlu dilakukan pengujian senyawa kimia yang spesifik pada daun semanggi yang dapat digunakan sebagai analgetik.

Ketiga, perlu dilakukan pengujian toksisitas dari daun semanggi untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaannya sebagai sediaan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I Suplemen 3. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Afriastini JJ. 2003. *Marsilea crenata C.Presl*. Di dalam: de Winter WP, Amoroso VB, editor. *Cryptograms: Ferns and fern allies*. Bogor : LIPI.
- Agrensa R. S. 2013. Efek analgesik ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Ajartha R. 2007. Efek pemberian tramadol intramuskular terhadap nyeri persalinan pada primigravida [Tesis]. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Ansel HC. 2011. Pengantar Bnetuk Sediaan Farmasi. Ibrahim F. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hal 7-13.
- Astuti F. 2013. Analisis fitokimia dan aktivitas antibakteri semanggi air *Marsilea crenata* Presl [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Burhanuddin N.W. 2016. Uji efek analgetik ekstra etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan tail flick analgesy meter [Skripsi]. Surakarta: Univeristas Setiabudi.
- Goodman. Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi 10. Sisyah C. Elviana E. Syarief WR. Hanif A. Manurung J. Penerjemah. Penerbit: Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm 687. Terjemah dari: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutic. 10th Ed.*
- Grover V.K. Ramesh Babu. S. P. S. Bedi. 2007. Steroid therapy – current indications in practice. Indian Journal of Anaesthesia 51 (5):391.
- Gunawan D. dan Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam. Jilid I. Jakarta: penerbit Penebar Swadaya.
- Harborne, J.B. 2006. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung : Penerbit ITB.
- Harmita, Radji M. 2004. *Analisis Hayati*. Jakarta: FMIPA Universitas Indonesia.
- Hastuti S., Safitri IA. 2015. Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Sligi (*Phyllanthus Buxifolius Muell .Arg*) terhadap Mencit Galur Balb/C (Analgesic Activity Of Ethanol Extract Seligi Leaves (*Phyllanthus Buxifolius Muell .Arg*) to Mice Balb/C)

- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E., M. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta.
- Hidayat R. 2010. Efek Analgesik Dan Antiinflamasi Jus Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Pada Mencit Betina Galur Swiss [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Hutagalung H. 2004. Karbohidrat. Sumatera Utara: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Inayati. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle*. Linn) secara in vivo [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Jacoeb AM., Nurjanah, Arifin M, Sulistiono W, Kristiono SS. 2010. Deskripsi histologis dan perubahan komposisi kimia daun dan tangkai semanggi (*Marsilea crenata* Presl., Marsilaceae) akibat perebusan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* XIII:81-95.
- Jaya, Ara Miko. 2010. Isolasi dan uji efektivitas antibakteri senyawa saponin dari akar putri malu (*Mimosa pudica*) [skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Kasolo JN. Bimeya GS. Ojok L. Ochieng J. Ogwal-okeng JW. 2010. Phytochemicals and Uses of *Moringa oleifera* Leaves in Ugandal rural Communities. *Journal of Medical Plant Research* 4 (9):753-757.
- Kumar A, Ilavarasan R, Jayachandran T, Decaraman M, Arivindhan p, padmanabhan N, Krishman MRV. 2} }g.Phytochemical investigation on a tropical plant, Syzgitm cumini from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. *Journal of Nutrition Pakis tan* 8(1): 83-85.
- Kusumawati. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Lenny S. 2006. Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida [Karya ilmiah]. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Ma'arif B., Agil M., Laswati H. 2016. Analisis fitokimia ekstrak n-heksan dan fraksi daun *Marsilea crenata* Presl. Dengan GC-MS. *Traditional Medicine Journal* 21:77-85.
- Madhu S. et al. 2015. Evaluation of anti-pyretic and analgesic activity of (*Marsilea Minuta* Linn.). *International Research Journal Of Pharmacy* 6:34-37.
- Maligan JM. 2014. Kimia pangan analisis karbohidrat. Malang: Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.

- Mollik AH *et al.* 2010. A comparative analysis of medicinal plants used by folk medicinal healers in three districts of bangladesh and inquiry as to mode of selection of medicinal plants. *Ethnobotany Research & Applications* Vol. 8, p. 195-218
- Musa, A.M., Aliyu, A.B., Yaro, A.H., Magaji, M.G., Hassan, H.S & Abdullahi, M.I. 2009. Preliminary Phytochemical, Analgesic and Anti-Inflammatory Studies of the Methanol Extract of Anisopus mannit (N.E.Br) (Asclepiadaceae) in Rodents. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3:374-378.
- Nugrahaini, W.F.B. 2015. Uji efektifitas analgetik ekstrak etanol 70% kulit buah naga daging merah (*hylocereus polyrhizus cortex*) dengan metode geliat pada mencit jantan galur swiss webster [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nurjanah, Aulia Azka, Asadatun Abdullah. 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan* 1:151-158.
- Pandey PV. Bodhi W. Yudistira A. 2013. Uji efek analgetik rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Universitas Sam Ratulangi* 2 (02): 2303-2493.
- Pratiwi DN. 2011. Optimalisasi reaksi esterifikasi asam asetat dengan 1-heksena, sebagai salah satu tahapan pada proses pembuatan etanol. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pratt, Charlotte W.; Cornely, Kathleen (2013). Essential Biochemistry (Third ed.). Wiley. p. 626.
- Puspitasari H, Listyawati S, Widiyati T. 2003. Aktivitas analgetik ekstrak umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan. *Biofarmasi* 1 (2):50-57.
- Riza SA. 2013. Efek analgesik ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Rochma E. N. 2016. Uji efek analgetik ekstra etanol daun sere (*Andropogon citratus DC.*) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) [Skripsi]. Surakarta: Univeristas Setiabudi.
- Samsumaharto RA, Sari YENI. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 70 % daun rosella (*hibiscus sabdariffa l.*) terhadap *staphylococcus aureus* atcc 25923. *Jurnal Biomedika*.
- Sari GP. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak kering air gambir secara *in vivo* [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Hlm 15.

- Sarker SD, Latif Z, Gray Al. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Suhono B, Wulan Y. editor. 2010. *Ensiklopedia Biologi Dunia Tumbuhan: Ensiklopedia Paku*. Jakarta: PT. Lentera Abadi.
- Syamsudin, Darmono. 2011. *Farmakologi Eksperimental*. Jakarta: Penerbit Univeristas Indonesia (UI-Press). Hlm 65-67.
- Syarif, A., Ascorbat, P., Setiabudi, R., Setiawi, A., Muchtar, A., Wardhini, S., Arif, A., Suherman, SK., Bahry, B., Gunawan, G., Suyatna, FD., Ganiswa, S., Dewoto, HR., Arozal, W., Farmakologi dan Terapi (Edisi ke 5), FKUI, Jakarta, 2009.
- Tan HT dan Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek sampingnya*. Edisi VI. Cetakan Ketiga. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo. Hlm 312-350.
- Tasleem, F., I. Azhar, A. Nawazish Ali, S. Perveen and Z. Alam Mahmood. (2014). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, Vol 7 (1): S461-S468.
- Utami P., Puspaningtyas D.E. 2013. *The Miracle of Herbs*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Wea MFO. 2016. Uji aktivitas antidiabetes fraksi-fraksi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lmk.) terhadap mencit jantan yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Wilson, Gisvold, Block J. H, Beale J. M. Jr. editor. 2012. *Buku Ajar Kimia Medisinal Organik dan Kimia Farmasi*. Edisi 11. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Yusuf H. 2001. Efek analgesia ekstrak daun kalusena (*Clausena anisa* Hook.f.) pada tikus putih dengan metode *rat tail analgesy test* [Tesis]. Medan: Univeristas Sumatera Utara.

**Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tumbuhan semanggi
(*Marsilea crenata* Presl.)**



No : 115/DET/UPT-LAB/11/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Hapsari Dyah A.P
NIM : 19133957 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis. FLORA
Jn - 17b - 18a. Familia 2. Marsileaceae. 1. *Marsilea crenata* Presl.

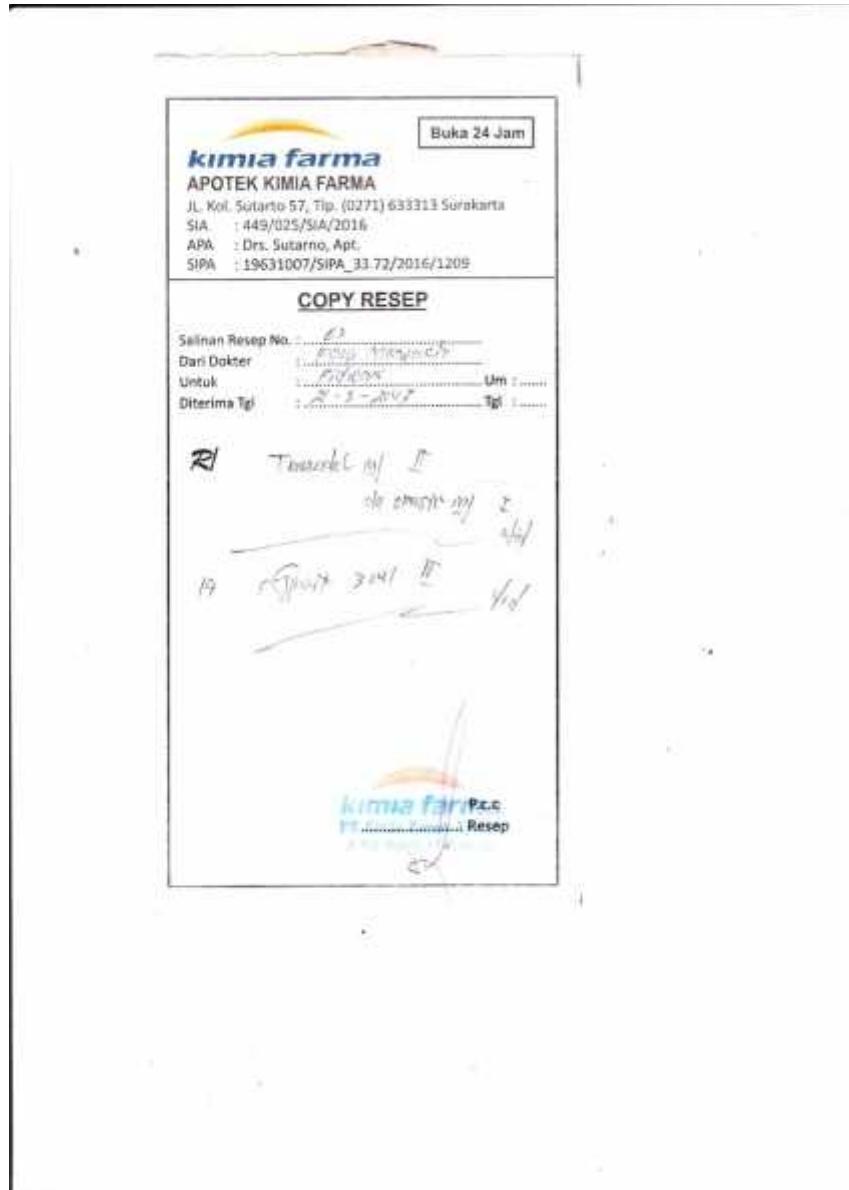
Deskripsi :

Habitus : Pakuun air atau rawa.
Batang : Berupa stolon.
Daun : Daun berdiri sendiri atau dalam berkas, menjari berbilangan 4; tangkai panjang dan tegak, panjang 5,5 – 10,5 cm; anak daun menyilang berhadapan, berbentuk buji bulat telur, gundul atau hampir gundul, 1,1 – 1,5 kali 0,7 – 1 cm, urat daun rapat berbentuk kipas, pada air yang tidak dalam muncul di atas air, pada air dalam mengapung.
Sporocarpia : Sporocarpia dekat pangkal tangkai dasar, kadang-kadang berdiri sendiri, kerupkali 2 – 6 terkumpul, di atas tangkai yang bebas yang panjangnya 3 – 5 mm, berbentuk serupa hiji buncis, panjang 4 – 5 mm, yang muda berambut, akhirnya membuka dengan 2 klep, hanya diketemukan pada tanaman di tempat yang sedang mengering, yang tadinya tergenang air.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S., Eyma P.J. (1978); FLORA, PT Pradnya Paramita Jl. Kebon Sirih 46, Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 11 November 2016

Surat determinasi

Drs Kartina Wirjoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat keterangan (resep) tramadol

Lampiran 3. Surat keterangan asam mefenamat



TANDA TERIMA

No: 029/TT/PGA/III/2017
Palembang, 2 Maret 2017

Yth.
Universitas Setia Budi
Fakultas Farmasi
Jl. Let. Jend. Sudirman - Solo 57127
Attn. Sdr. Ita Ariati (NIM : 19133969A),
Sdr. Erni Sukmawati Kadiri (NIM : 19133967A),
Sdr. Hapeari Dyah Ayu P. (NIM : 19133957A), &
Sdr. Yulinda Kusumawardhani (NIM : 19133972A)

Mohon dapat diterima :

- 20 Gram Paracetamol / Acetaminophen
- 40 Gram Meloxicamic Acid

Keterangan : Sumbangan untuk penelitian skripsi mahasiswa Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Demikianlah, surat ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.
Terima kasih atas perhatian dan kerjasamanya.

Yang menyerahkan,

Muslim Kurniadi
GA Officer

Yang menerima,

Erni Sukmawati Kadiri

Note : Mohon dituju ke nomor telepon 0711-713242 / Muslim Kurniadi
atau email ke rnu.apna@dexa-medica.com

Lampiran 4. Surat keterangan hewan uji (mencit)

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

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Hapsari Dyah Ayu Pramesti
Nim : 19133957 A
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Swiss
Umur : 2-3 bulan
Jenis kelamin : Jantan
Jumlah : 35 ekor
Keterangan : Sehat
Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

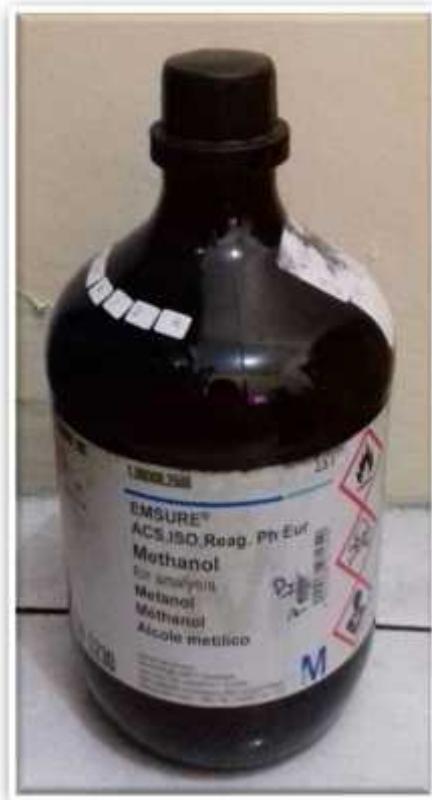
Yang pengembangannya dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 18 Mei 2017
Hormat kami



Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 5. Foto tumbuhan semanggi**Daun semanggi segar****Daun semanggi kering****Serbuk daun semanggi**

Lampiran 6. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian*Rotary evaporator***Oven***Sterling bidwell***Botol remaserasi**



Ayakan no 40



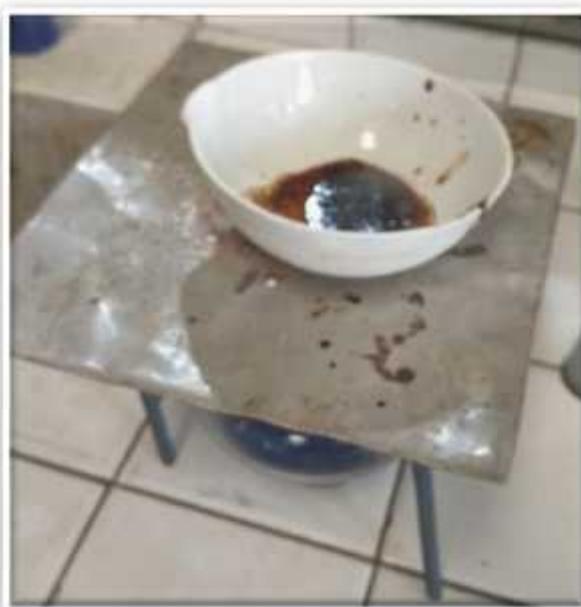
Mesin penggiling

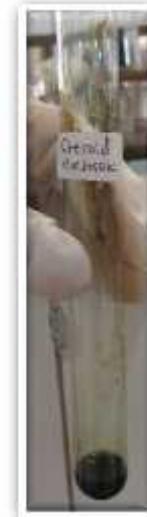


Moisture balance

Lampiran 7. Foto ekstrak daun semanggi



Lampiran 8. Uji bebas etanol

Lampiran 9. Foto identifikasi serbuk dan esktrak daun semanggi**Gula pereduksi ekstrak dan serbuk****Steroid ekstrak dan serbuk****Karbohidrat ekstrak dan serbuk****Flavonoid ekstrak dan serbuk**



Saponin ekstrak dan serbuk

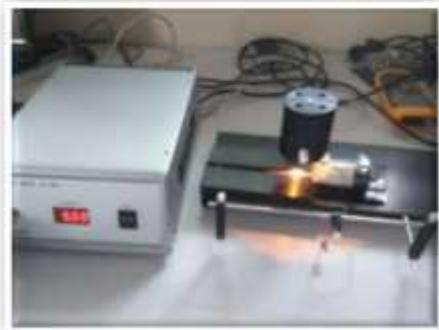


Alkaloid ekstrak



Alkaloid serbuk

Lampiran 10. Hewan uji dan perlakuan**Hewan uji****permberian per oral pada hewan uji****Induksi asam asetat**



Pengujian analgetik dengan
tail flick analgesy meter



Pengujian analgetik dengan
metode *Sigmund*

Lampiran 11. Suspensi larutan stok

Larutan stok CMC 1%, asam asetat 1%, tramadol 0,5%, ekstrak daun semanggi 3%



Larutan asam mefenamat 1%

Lampiran 12. Perhitungan rendemen serbuk terhadap tanaman

Rendemen serbuk terhadap tanaman

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
3000	850	28

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Berat kering } g}{\text{Berat basah } g} \times 100\% \\
 &= \frac{850 \cancel{g}}{300 \cancel{g}} \times 100\% \\
 &= 28,33\% \approx 28\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak terhadap tanaman

Serbuk daun semanggi (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
300	31,89	10,6

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Berat ekstrak } g}{\text{Bobot serbuk } g} \times 100\% \\
 &= \frac{31,89 \cancel{g}}{300 \cancel{g}} \times 100\% \\
 &= 10,63\% \approx 10,63\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 14. Penetapan kadar air serbuk

No	Berat serbuk (g)	Kadar air (%)
1	20	5
2	20	5,5
3	20	5
	Rata-rata ± SD	5,2 ± 0,289

Perhitungan kadar air :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{volume terukur ml}}{\text{Bobot serbuk g}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1,1 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5\% \end{aligned}$$

Perhitungan rata-rata kadar air :

$$\text{Rata - rata \% kadar} = \frac{\text{total kadar air}}{3}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar} &= \frac{(5+5,5+5)}{3} \\ &= 5,17\% \approx 5,2\% \end{aligned}$$

Lampiran 15. Perhitungan pembuatan larutan stok

1. CMC 1%

$$\text{CMC } 1\% = 1 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$$

1 gram serbuk CMC dilarutkan dengan *aquadest* ad 100 ml

2. Tramadol 0,5%

$$\begin{aligned}\text{Tramadol } 0,5\% &= 500 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 100 \text{ mg} / 20 \text{ ml}\end{aligned}$$

50 mg tramadol dilarutkan dengan *aquadest* ad 10 ml

3. Asam mefenamat 1%

$$\begin{aligned}\text{Asam mefenamat } 1\% &= 1 \text{ gram} / 100 \text{ ml} \\ &= 0,25 \text{ gram} / 25 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg} / \text{ml}\end{aligned}$$

0,25 gram serbuk asam mefenamat dilarutkan dengan CMC 1% ad 25 ml

4. Ekstrak daun semanggi 3%

$$\begin{aligned}&= 3 \text{ gram} / 100 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ mg} / 25 \text{ ml} \\ &= 30 \text{ mg} / \text{ml}\end{aligned}$$

0,75 gram ekstrak kental dilarutkan dengan CMC 1% ad 25 ml

Lampiran 16. Perhitungan dosis dan volume pemberian untuk hewan uji

Perhitungan dosis dan volume pemberian berdasarkan berat badan :

- Asam Mefenamat 1,3 mg / 20 gBB (65 mg/Kg BB) (Stok 1%)

1) Berat mencit : 21,76

$$\text{- Dosis} = \frac{21,77 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,41 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{1,41 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,14 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 21,49

$$\text{- Dosis} = \frac{21,49 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,40 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{1,40 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,14 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 22,81

$$\text{- Dosis} = \frac{22,81 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,48 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{1,41 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,15 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 21,58

$$\text{- Dosis} = \frac{21,58 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,40 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{1,40 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,14 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 20,79

$$\text{- Dosis} = \frac{20,79 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 1,3 \text{ mg} = 1,35 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{1,35 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,14 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi 2 mg / 20 gBB (100 mg/Kg BB) (Metode Sigmund)

1) Berat mencit : 25,66

$$\text{- Dosis} = \frac{25,66 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,57 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,57 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,08 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 27,64

$$\text{- Dosis} = \frac{27,64 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,76 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,76 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 27,41

$$\text{- Dosis} = \frac{27,41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,74 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,74 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 27,18

$$\text{- Dosis} = \frac{27,18 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,72 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,72 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 26,59

$$\text{- Dosis} = \frac{26,59 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,66 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,66 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi dosis 4 mg / 20 gBB (200 mg/Kg BB) (Metode Sigmund)

1) Berat mencit : 23,46

$$\text{- Dosis} = \frac{23,46 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 4,69 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{4,69 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,16 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 24,19

$$\text{- Dosis} = \frac{24,19 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 4,84 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{4,84 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,16 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 25,81

$$\text{- Dosis} = \frac{25,81 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,16 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,16 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 26,58

$$\text{- Dosis} = \frac{26,58 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,31 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,31 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 25,19

$$\text{- Dosis} = \frac{20,79 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,04 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,04 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi dosis 8 mg / 20 Gbb (400 mg/Kg BB) (Metode *Sigmund*)

1) Berat mencit : 25,63

$$\text{- Dosis} = \frac{25,63 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,25 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,25 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 26,59

$$\text{- Dosis} = \frac{26,59 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,64 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,64 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 26,11

$$\text{- Dosis} = \frac{26,11 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,44 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,4 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 25,21

$$\text{- Dosis} = \frac{25,21 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,08 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,08 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 25,95

$$\text{- Dosis} = \frac{25,95 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,38 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,38 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

- Tramadol 0,13 mg / 20 Gbb (6,5 mg/Kg BB) (Stok 0,5%)

1) Berat mencit : 26,68

$$\text{- Dosis} = \frac{26,68 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,17 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{0,17 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,03 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 27,29

$$\text{- Dosis} = \frac{27,29 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,18 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{0,18 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,04 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 28,31

$$\text{- Dosis} = \frac{28,31 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,18 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{0,18 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,04 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 28,55

$$\text{- Dosis} = \frac{28,55 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,19 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{0,19 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,04 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 28,49

$$\text{- Dosis} = \frac{28,49 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 0,19 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{0,19 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,04 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi dosis 2 mg / 20 gBB (100 mg/Kg BB) (Metode tail flick)

1) Berat mencit : 25,19

$$\text{- Dosis} = \frac{25,19 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,52 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,52 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,08 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 26,45

$$\text{- Dosis} = \frac{26,45 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,65 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,65 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 24,92

$$\text{- Dosis} = \frac{25,81 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,49 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,49 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,08 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 23,88

$$\text{- Dosis} = \frac{26,58 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,39 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,39 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,08 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 25,79

$$\text{- Dosis} = \frac{25,79 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 2 \text{ mg} = 2,58 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{2,58 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi dosis 4 mg/ 20 gBB 200 mg/Kg BB (Metode tail flick)

1) Berat mencit : 25,73

$$\text{- Dosis} = \frac{25,73 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,15 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,15 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 26,15

$$\text{- Dosis} = \frac{26,15 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,03 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,03 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 24,77

$$\text{- Dosis} = \frac{24,77 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 4,95 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{4,95 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 25,48

$$\text{- Dosis} = \frac{25,48 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,10 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,10 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 26,17

$$\text{- Dosis} = \frac{26,17 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4 \text{ mg} = 5,23 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{5,23 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

- Ekstrak daun semanggi dosis 8 mg/ 20 gBB 400 mg/Kg BB (Metode *tail flick*)

1) Berat mencit : 24,71

$$\text{- Dosis} = \frac{24,72 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 9,89 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{9,89 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$$

2) Berat mencit : 23,89

$$\text{- Dosis} = \frac{23,59 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 9,56 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{9,56 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,32 \text{ ml}$$

3) Berat mencit : 24,92

$$\text{- Dosis} = \frac{24,92 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 9,97 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{9,97 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,033 \text{ ml}$$

4) Berat mencit : 26,17

$$\text{- Dosis} = \frac{26,17 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,47 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,47 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,35 \text{ ml}$$

5) Berat mencit : 25,58

$$\text{- Dosis} = \frac{25,58 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 8 \text{ mg} = 10,23 \text{ mg}$$

$$\text{- Volume pemberian} = \frac{10,23 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,34 \text{ ml}$$

Lampiran 17. Perhitungan rata-rata waktu reaksi (detik)

Perlakuan	No. hewan	t ₀	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀
Kontrol negatif (CMC)	1	3,78	5,94	5,9	7,5	6,01
	2	4,86	6,01	7,52	9,23	8,28
	3	5,74	6,45	7,81	8,16	9,65
	4	4,67	5,52	8,74	7,12	7,21
	5	5,28	7,14	8,4	7,41	8,59
Rata-rata		6,212	7,674	7,884	7,948	
SD		0,615	1,101	0,843	1,389	
Kontrol positif (tramadol)	1	4,59	6,96	8,39	10,68	11,36
	2	5,23	8,87	10,53	9,95	11,24
	3	7,01	9,11	11,77	11,84	11,65
	4	5,4	7,45	10,51	10,83	10,26
	5	4,05	8,75	9,38	9,76	10,81
Rata-rata		8,228	9,916	10,612	11,064	
SD		0,959	1,646	1,121	0,542	
Kelompok dosis 100 mg/Kg BB	1	6	7,32	8,44	9,36	11,97
	2	7,09	8,92	11,94	11,09	12,22
	3	6,04	7,89	9,96	9,6	9,28
	4	5,75	6,48	8,05	10,97	11,35
	5	3,86	5,74	6,41	8,72	9,39
Rata-rata		7,27	8,96	9,948	10,842	
SD		1,174	1,232	2,090	1,412	
Kelompok dosis 200 mg/Kg BB	1	5,46	7,97	8,75	10,77	9,88
	2	7,13	9,7	10,69	12,14	13,75
	3	5,92	8,34	9,26	9,75	10,46
	4	6,99	8,88	10,49	11,71	12,63
	5	7,76	10,74	10,82	12,97	13,4
Rata-rata		9,126	10,002	11,468	12,024	
SD		1,112	0,935	1,245	1,752	
Kelompok dosis 400 mg/Kg BB	1	6,11	8,86	9,55	10,53	11,64
	2	4,75	7,91	8,34	10,33	11,02
	3	6,14	8,8	9,98	10,03	10,52
	4	4,17	6,76	7,45	8,95	9,96
	5	5,33	6,56	9,55	11,34	11,18
Rata-rata		7,778	8,974	10,236	10,864	
SD		1,090	1,049	0,868	0,644	

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Perhitun gan rata- rata waktu reaksi (detik) setelah
Kontrol negatif (CMC)	1	2,16	2,12	3,72	2,23	
	2	1,15	2,66	4,37	3,42	
	3	0,71	2,07	2,42	3,91	
	4	0,85	4,07	2,45	2,54	
	5	1,86	3,12	2,13	3,31	
Rata-rata		1,346	2,808	3,018	3,082	

dikurangi t₀

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀
Kontrol positif (tramadol)	1	2,37	2,8	5,09	6,77
	2	3,64	5,3	4,72	6,01
	3	2,1	4,76	4,83	4,64
	4	2,05	5,11	6,43	4,86
	5	3,75	4,38	4,76	6,76
Rata-rata		2,782	4,47	5,166	5,808

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀
Kelompok dosis 100 mg/Kg BB	1	1,32	2,44	3,36	5,97
	2	1,83	4,85	4	5,13
	3	1,85	3,92	3,56	3,24
	4	0,73	2,3	5,22	5,6
	5	1,88	2,55	4,86	5,53
Rata-rata		1,522	3,212	4,2	5,094

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀
Kelompok dosis 200 mg/Kg BB	1	2,51	3,29	5,31	4,42
	2	2,57	3,56	5,01	6,62
	3	2,42	3,34	3,83	4,54
	4	1,89	3,5	4,72	5,64
	5	2,98	3,06	5,21	5,64

Rata-rata	2,474	3,35	4,816	5,372
------------------	-------	------	-------	-------

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀
Kelompok dosis 400 mg/Kg BB	1	2,75	3,44	4,42	5,53
	2	3,16	3,59	5,58	6,27
	3	2,66	3,84	3,89	4,38
	4	2,59	3,28	4,78	5,79
	5	1,23	4,22	6,01	5,85
Rata-rata	2,478	3,674	4,936	5,564	

Lampiran 18. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN) metode *tail-flick*

Setelah dikurangi t₀

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Rata-rata
Kontrol negatif (CMC)	1	2,16	2,12	3,72	2,23	2,5575
	2	1,15	2,66	4,37	3,42	2,9
	3	0,71	2,07	2,42	3,91	2,2775
	4	0,85	4,07	2,45	2,54	2,4775
	5	1,86	3,12	2,13	3,31	2,605

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Rata-rata
Kontrol positif (tramadol)	1	2,37	2,8	5,09	6,77	4,2575
	2	3,64	5,3	4,72	6,01	4,9175
	3	2,1	4,76	4,83	4,64	4,0825
	4	2,05	5,11	6,43	4,86	4,6125
	5	3,75	4,38	4,76	6,76	4,9125

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Rata-rata
Kelompok dosis 100 mg/Kg BB	1	1,32	2,44	3,36	5,97	3,2725
	2	1,83	4,85	4	5,13	3,9525
	3	1,85	3,92	3,56	3,24	3,1425
	4	0,73	2,3	5,22	5,6	3,4625
	5	1,88	2,55	4,86	5,53	3,705

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Rata-rata
Kelompok dosis 200 mg/Kg BB	1	2,51	3,29	5,31	4,42	3,8825
	2	2,57	3,56	5,01	6,62	4,44
	3	2,42	3,34	3,83	4,54	3,5325
	4	1,89	3,5	4,72	5,64	3,9375

	5	2,98	3,06	5,21	5,64	4,2225
--	---	------	------	------	------	--------

Perlakuan	No. hewan	t ₃₀	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	Rata- rata
Kelompok dosis 400 mg/Kg BB	1	2,75	3,44	4,42	5,53	4,035
	2	3,16	3,59	5,58	6,27	4,65
	3	2,66	3,84	3,89	4,38	3,6925
	4	2,59	3,28	4,78	5,79	4,11
	5	1,23	4,22	6,01	5,85	4,3275

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

Dimana, T₁ = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian CMC-Na (kelompok kontrol negatif).

T₂ = Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian tramadol dan larutan ekstrak.

Tramadol

$$1 = \frac{4,2575 - 2,5575}{2,5575} \times 100\% = 66,47\%$$

$$2 = \frac{4,9175 - 2,9}{2,9} \times 100\% = 69,57\%$$

$$3 = \frac{4,0825 - 2,2775}{2,2775} \times 100\% = 79,25\%$$

$$4 = \frac{4,6125 - 2,4775}{2,4775} \times 100\% = 86,17\%$$

$$5 = \frac{4,9125 - 2,605}{2,605} \times 100\% = 88,58\%$$

Ekstrak daun semanggi dosis 100 mg/Kg BB

$$1 = \frac{3,2725 - 2,5575}{2,5575} \times 100\% = 27,96\%$$

$$2 = \frac{3,9525 - 2,9}{2,9} \times 100\% = 36,29\%$$

$$3 = \frac{3,1425 - 2,2775}{2,2775} \times 100\% = 37,98\%$$

$$4 = \frac{3,4625 - 2,4775}{2,4775} \times 100\% = 39,76\%$$

$$5 = \frac{3,705 - 2,605}{2,605} \times 100\% = 42,23\%$$

Ekstrak daun semanggi dosis 200 mg/Kg BB

$$1 = \frac{3,8825 - 2,5575}{2,5575} \times 100\% = 51,81\%$$

$$2 = \frac{4,44 - 2,9}{2,9} \times 100\% = 53,10\%$$

$$3 = \frac{3,5325 - 2,2775}{2,2775} \times 100\% = 55,10\%$$

$$4 = \frac{3,9375 - 2,4775}{2,4775} \times 100\% = 58,93\%$$

$$5 = \frac{4,2225 - 2,605}{2,605} \times 100\% = 62,09\%$$

Ekstrak daun semanggi dosis 400 mg/Kg BB

$$1 = \frac{4,035 - 2,5575}{2,5575} \times 100\% = 57,77\%$$

$$2 = \frac{4,65 - 2,9}{2,9} \times 100\% = 60,34\%$$

$$3 = \frac{3,6925 - 2,2775}{2,2775} \times 100\% = 62,13\%$$

$$4 = \frac{4,11 - 2,4775}{2,4775} \times 100\% = 65,89\%$$

$$5 = \frac{4,3275 - 2,605}{2,605} \times 100\% = 66,12\%$$

	TRAMADOL	Dosis 100 mg/Kg BB	Dosis 200 mg/Kg BB	Dosis 400 mg/Kg BB
	66,47%	27,96%	51,81%	57,77%
	69,57%	36,29%	53,10%	60,34%
	79,25%	37,98%	55,10%	62,13%
	86,17%	39,76%	58,93%	65,89%
	88,58%	42,23%	62,09%	66,12%
Rata-Rata	78	36,84	56,21	62,45
SD	9,802	5,432	4,250	3,598

Lampiran 19. Perhitungan rata-rata jumlah geliat kumulatif

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Jumlah geliat kumulatif
Kontrol negatif (CMC)	1	84	36	21	7	148
	2	90	45	26	10	171
	3	91	40	27	12	170
	4	85	40	18	9	152
	5	87	45	28	10	170
Rata-rata		87,4	41,2	24	9,6	162,2
SD		3,049	3,834	4,301	1,817	11,234

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Jumlah geliat kumulatif
Kontrol positif (asam mefenamat)	1	40	10	5	2	57
	2	45	15	8	3	71
	3	41	18	9	5	73
	4	50	20	7	3	80
	5	42	10	7	2	61
Rata-rata		43,6	14,6	7,2	3	68,4
SD		4,037	4,561	1,483	1,225	9,317

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Jumlah geliat kumulatif
------------------	------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	------------------------	--------------------------------

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Jumlah geliat kumulatif
Kelompok dosis 4 mg/ 20g BB	1	65	27	16	3	111
	2	82	31	21	2	136
	3	72	33	18	5	128
	4	64	30	15	5	114
	5	67	30	20	4	121
Rata-rata		70	30,2	18	3,8	122
SD		7,382	2,168	2,549	1,304	10,223
Kelompok dosis 2 mg/ 20g BB	1	82	29	10	2	123
	2	93	32	15	3	143
	3	85	38	12	4	139
	4	80	25	11	4	120
	5	84	31	15	3	133
Rata-rata		84,8	31	12,6	3,2	131,6
SD		4,969	4,743	2,302	0,836	9,939

Perlakuan	No. hewan	t₃₀	t₆₀	t₉₀	t₁₂₀	Jumlah geliat kumulatif
Kelompok dosis 8 mg/ 20g BB	1	83	27	16	6	132
	2	90	33	15	5	143
	3	87	35	21	7	150
	4	82	25	18	8	133
	5	89	32	17	6	144
Rata-rata		86,2	30,4	17,4	6,4	140,4
SD		3,564	4,219	2,302	1,1402	7,701

Lampiran 20. Perhitungan persen proteksi analgetik metode *Sigmund*

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

Keterangan :

P = R jumlah geliat kumulatif kelompok percobaan rata-rata tiap individu

K = Jumlah geliat kumulatif kelompok kontrol rata-rata

- **% Proteksi Asam Mefenamat**

$$100 - \frac{68,4}{162,2} \times 100\% = 57,83\%$$

- **% Proteksi Ekstrak Daun Semanggi dosis 2mg/ 20g BB**

$$100 - \frac{131,6}{162,2} \times 100\% = 18,87\%$$

- **% Proteksi Ekstrak Daun Semanggi dosis 4mg/ 20g BB**

$$100 - \frac{122}{162,2} \times 100\% = 24,78\%$$

- **% Proteksi Ekstrak Daun Semanggi dosis 8mg/ 20g BB**

$$100 - \frac{140,4}{162,2} \times 100\% = 13,44\%$$

Lampiran 21. Hasil uji statistik SPSS 17

▪ Metode *tail-flick*

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikannya. Berdasarkan uji distribusi normal menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan nilai signifikansi 0,445 yang berarti $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi kelompok tersebut normal.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu tail-flick	25	46.7020	27.84677	.00	88.58

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu tail-flick
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	46.7020
	Std. Deviation	27.84677
Most Extreme Differences	Absolute	.173
	Positive	.153
	Negative	-.173
Kolmogorov-Smirnov Z		.864
Asymp. Sig. (2-tailed)		.445

a. Test distribution is Normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu tail-flick
N		25
Normal Parameters ^{a,,b}	Mean	46.7020
	Std. Deviation	27.84677
Most Extreme Differences	Absolute	.173
	Positive	.153
	Negative	-.173
Kolmogorov-Smirnov Z		.864
Asymp. Sig. (2-tailed)		.445

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Syarat dari uji *Anova* adalah data harus terdistribusi normal. Kesimpulan dari uji *Kolmogorov-Smirnov* adalah bahwa seluruh data terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan ke uji *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

waktu tail-flick

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.043	4	20	.002

ANOVA

waktu tail-flick

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17984.379	4	4496.095	143.589	.000
Within Groups	626.247	20	31.312		
Total	18610.626	24			

Hasil dari *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$) sehingga dapat diperoleh kesimpulan bahwa ada perbedaan varian antara kelompok data yang dibandingkan. Pada hasil uji *Anova* diperoleh nilai

signifikansi $p = 0,000$ yang berarti masing-masing kelompok memiliki perbedaan waktu reaksi pada *tail flick*. Uji dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan.

Multiple Comparisons

waktu tail-flick

Dunnett T3

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	-78.01000*	4.38416	.000	-99.1276	-56.8924
	Ekstrak Semanggi dosis 2 mg/20g BB	-36.84200*	2.42824	.001	-48.5384	-25.1456
	Ekstrak Semanggi dosis 4 mg/20g BB	-56.20600*	1.90049	.000	-65.3603	-47.0517
	Ekstrak Semanggi dosis 8 mg/20g BB	-62.45200*	1.60726	.000	-70.1939	-54.7101
Kontrol positif	Kontrol negatif	78.01000*	4.38416	.000	56.8924	99.1276
	Ekstrak Semanggi dosis 2 mg/20g BB	41.16800*	5.01171	.001	21.3659	60.9701
	Ekstrak Semanggi dosis 4 mg/20g BB	21.80400*	4.77835	.034	1.9389	41.6691
	Ekstrak Semanggi dosis 8 mg/20g BB	15.55800	4.66949	.126	-4.4770	35.5930

Ekstrak Semanggi dosis 2 mg/20g BB	Kontrol negatif	36.84200*	2.42824	.001	25.1456	48.5384
	Kontrol positif	-41.16800*	5.01171	.001	-60.9701	-21.3659
	Ekstrak Semanggi dosis 4 mg/20g BB	-19.36400*	3.08354	.003	-30.8281	-7.8999
	Ekstrak Semanggi dosis 8 mg/20g BB	-25.61000*	2.91199	.000	-36.7191	-14.5009
Ekstrak Semanggi dosis 4 mg/20g BB	Kontrol negatif	56.20600*	1.90049	.000	47.0517	65.3603
	Kontrol positif	-21.80400*	4.77835	.034	-41.6691	-1.9389
	Ekstrak Semanggi dosis 2 mg/20g BB	19.36400*	3.08354	.003	7.8999	30.8281
	Ekstrak Semanggi dosis 8 mg/20g BB	-6.24600	2.48900	.246	-15.4243	2.9323
Ekstrak Semanggi dosis 8 mg/20g BB	Kontrol negatif	62.45200*	1.60726	.000	54.7101	70.1939
	Kontrol positif	-15.55800	4.66949	.126	-35.5930	4.4770
	Ekstrak Semanggi dosis 2 mg/20g BB	25.61000*	2.91199	.000	14.5009	36.7191
	Ekstrak Semanggi dosis 4 mg/20g BB	6.24600	2.48900	.246	-2.9323	15.4243

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

Dapat diperoleh kesimpulan pada output *Anova* terlihat bahwa nilai $F = 143.589$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak yang berarti 5 kelompok perlakuan tersebut memang berbeda nyata. Tanda * diangka *Mean Difference* pada *Dunnet T3 test* diatas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada tiap kelompok perlakuan. Pada ekstrak semanggi dosis 400 mg/Kg BB menunjukkan tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif (tramadol).

▪ **Metode Sigmund**

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikannya. Berdasarkan uji distribusi normal menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan nilai signifikansi 0,537 yang berarti $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi kelompok tersebut normal.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Jumlah Geliat	25	124.92	33.096	57	171

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Geliat
N		25
Normal Parameters ^{a,,b}	Mean	124.92
	Std. Deviation	33.096
Most Extreme Differences	Absolute	.161
	Positive	.113
	Negative	-.161

Kolmogorov-Smirnov Z	.805
Asymp. Sig. (2-tailed)	.537

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Syarat dari uji *Anova* adalah data harus terdistribusi normal. Kesimpulan dari uji *Kolmogorov-Smirnov* adalah bahwa seluruh data terdistribusi normal, sehingga dapat dilanjutkan ke uji *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Geliat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.516	4	20	.725

ANOVA

Jumlah Geliat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24385.440	4	6096.360	64.091	.000
Within Groups	1902.400	20	95.120		
Total	26287.840	24			

Hasil dari *Test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai signifikansi 0,725 ($p > 0,05$) sehingga dapat diperoleh kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan varian antara kelompok data yang dibandingkan dan varian data tersebut valid karena varian dari data tersebut adalah sama. Pada hasil uji *Anova* diperoleh nilai signifikansi $p = 0,000$ yang berarti masing-masing kelompok memiliki perbedaan rata-rata geliat pada *Sigmund*. Uji dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk melihat

apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok perlakuan.

Multiple Comparisons

Jumlah Geliat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	95% Confidence Interval			
			Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	Kontrol positif	93.800*	6.168	.000	75.34	112.26
	Ekstrak Daun Semanggi dosis 2 mg/ 20g BB	30.600*	6.168	.001	12.14	49.06
	Ekstrak Daun Semanggi dosis 4 mg/ 20g BB	40.200*	6.168	.000	21.74	58.66
	Ekstrak Daun Semanggi dosis 8 mg/ 20g BB	21.800*	6.168	.016	3.34	40.26
	Kontrol negatif	-93.800*	6.168	.000	-112.26	-75.34
	Ekstrak Daun Semanggi dosis 2 mg/ 20g BB	-63.200*	6.168	.000	-81.66	-44.74

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

Jumlah Geliat

Tukey HSD^a

Perlakuan metode sigmund	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol positif	5	68.40		
Ekstrak Daun Semanggi dosis 4 mg/ 20g BB	5		122.00	
Ekstrak Daun Semanggi dosis 2 mg/ 20g BB	5		131.60	
Ekstrak Daun Semanggi dosis 8 mg/ 20g BB	5		140.40	
Kontrol negatif	5			162.20
Sig.		1.000	.051	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Dapat diperoleh kesimpulan pada output *Anova* terlihat bahwa nilai $F = 64,091$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak yang berarti 5 kelompok perlakuan tersebut memang berbeda nyata. Tanda * diangka *Mean Difference* pada *Tukey test* diatas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada tiap kelompok perlakuan. Pada bagian *Homogeneous Subsets* terlihat kelompok perlakuan terbagi menjadi 3 kolom. Kelompok dosis terdapat dalam satu kolom yang berarti ketiga dosis tidak mempunyai perbedaan yang nyata. Kelompok kontrol negatif (CMC) pada kolom 1 dan kelompok ketiga dosis pada kolom 2 dan kontrol positif (asam mefenamat) pada kolom 3 mempunyai perbedaan yang nyata, karena tidak terdapat dalam satu kolom.