

**UJI EFEKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA
Mus musculus YANG DIINDUKSI
ASAM ASETAT**

SKRIPSI



Oleh :

Ayu Dewi Lestari

NIM 19040013

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**UJI EFEKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA
Mus musculus YANG DIINDUKSI
ASAM ASETAT**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :

Ayu Dewi Lestari

NIM 19040013

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar skripsi pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi

Jember, 16 Agustus 2023

Pembimbing Utama



Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm
NIDN. 0015048203

Pembimbing Anggota



apt. Wima Anggitasari, M.Sc
NIDN. 07230990001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul *Uji Efektivitas Analgesik Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika (Vernonia Amygdalina) Pada Mus Musculus Yang Diinduksi Asam Asetat* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Nama : Ayu Dewi Lestari

NIM : 19040013

Hari, Tanggal : 16 Agustus 2023

Program Studi : Sarjana Farmasi,

Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,



apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm

NIDN. 0509088601

Penguji II,



Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm

NIDN. 0015048203

Penguji III,



apt. Wima Anggitasari, M.Sc

NIDN. 07230990001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas dr. Soebandi



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm.

NIDN. 0703068903

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Ayu Dewi Lestari

NIM : 19040013

Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember,

Yang menyatakan,



Ayu Dewi Lestari
NIM 19040013

SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA
Mus musculus YANG DIINDUKSI
ASAM ASETAT**

Oleh:

Ayu Dewi Lestari

NIM. 19040013

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Wima Anggitasari, M.Sc

LEMBAR PERSEMBAHAN

Dengan mengucap rasa syukur alhamdulillah kepada Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW, Skripsi ini saya persembahkan untuk orang-orang terdekat saya yang saya sayangi:

1. Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin, M.Farm selaku pembimbing I dan Wima Anggitasari, M.Sc selaku pembimbing II telah meluangkan waktu, perhatian, dan pikiran serta kesabaran dalam memberikan bimbingan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
2. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm selaku penguji yang telah banyak memberikan bantuan, saran, waktu dan perhatiannya dalam menyusun skripsi ini.
3. Seluruh dosen prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi atas segala ilmu dan pengalaman yang telah diberikan.
4. Terimakasih kepada kedua orang tua saya yaitu papa Saiman dan mama Gusti Ayu Artini yang sangat berjasa didalam hidup saya, serta keluarga besar saya yang selalu tiada henti memberikan doa, kasih sayang, semangat, pengorbanan waktu dan materil yang senantiasa memberikan dukungan sehingga membuat skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Terimakasih tentunya untuk mbak DEP yang sangat-sangat baik hati dan tidak pernah capek mendengar keluh kesah saya serta mempunyai sifat dan pikiran yang amat sangat berkesan pada penyusunan skripsi saya kali ini.

6. Teruntuk para teman-temanku yang ada digrup “genk qosidah” yang selalu meramaikan grub dengan berbagai wacana-wacana yang sebagian dari wacana tersebut tidak dapat terselesaikan dan juga memberi semangat.
7. Para sahabatku yang ada digrub “Gas Budal” yang selalu bersama saya dalam keadaan susah maupun senang, teman nongkrong, teman ngopi bersama, teman curhat, dan teman dalam mengerjakan skripsi.
8. Terimakasih juga kepada teman-teman saya (Ayu Wulan, Debby Anisyia, Devi Eka, Diah Fitri, Fatika Elprina, dan Firda Makkiatul yang sudah meluangkan waktunya untuk membantu dalam penelitian skripsi saya
9. Teman-teman angkatan 2019 Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.
10. Terimakasih yang sebanyak-banyaknya untuk diri saya sendiri yang sudah bertahan dititik ini untuk menyelesaikan semua proses perkuliahan awal hingga skripsi ini sampai selesai.

MOTTO

“Tak selamanya langit itu kelam suatu saat kan cerah juga hiduplah dengan sejuta harapan habis gelap akan terbit terang.”

(Rhoma Irama)

“Proses sama pentingnya dibandingkan hasil. Hasilnya nihil tak apa. Yang penting sebuah proses telah dicanangkan dan dilaksanakan.”

(Sujiwo Tejo)

“Beberapa orang diciptakan menjadi terlalu dekat untuk dipandangi namun terlalu jauh untuk digapai.”

(Fiersa Besari)

ABSTRAK

Lestari, Ayu Dewi* Fajrin, Fifteen Aprila** Anggitasari, Wima***.2023. **Uji Efektivitas Analgesik Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Pada *Mus musculus* Yang DiInduksi Asam Asetat**. Skripsi. Program Studi S1 Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) merupakan golongan tanaman yang digunakan sebagai bahan obat tradisional. Daun afrika memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid yang mempunyai aktifitas biologis sebagai efek analgesik yang mekanisme kerjanya menghambat enzim siklooksigenase dengan mengurangi produksi prostaglandin. Mekanisme nyeri dapat melibatkan empat proses yaitu: transduksi, transmisi, modulasi, dan persepsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas analgesik ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) pada mencit yang diinduksi asam asetat.

Metode: Penelitian eksperimental laboratorium dengan menguji efektivitas ekstrak etil asetat daun afrika pada mencit jantan sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%), kelompok kontrol positif (Asam mefenamat), serta tiga kelompok perlakuan dosis ekstrak 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB.

Hasil Penelitian: Menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun afrika mempunyai kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Persentase proteksi analgesik pada kelompok asam mefenamat sebesar $58,80\% \pm 11,48$, ekstrak dosis 300 mg/kgBB sebesar $58,47\% \pm 2,27$, ekstrak dosis 200 mg/kgBB sebesar $40,2\% \pm 6,07$, dan ekstrak dosis 100 mg/kgBB sebesar $35,21\% \pm 6,40$.

Kesimpulan: Ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki perbedaan efektivitas sebagai analgesik pada setiap dosisnya dimana dosis 300 mg/kgBB merupakan dosis analgesik terbaik.

Kata kunci: Analgesik, Asam mefenamat, Daun afrika, Induksi asam asetat, Mencit putih jantan.

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Lestari, Ayu Dewi* Fajrin, Fifteen Aprila** Anggitasari, Wima***.2023. **Analgesic Effectiveness Test of Ethyl Acetate Extract of African Leaves (*Vernonia amygdalina*) on Acetic Acid Induced Muscles.** Thesis. University of Pharmacy S1 Study Program, dr. Soebandi.

Background: African leaves (*Vernonia amygdalina*) is a group of plants used as traditional medicine. African leaves contain secondary metabolites, namely flavonoid compounds which have biological activity as an analgesic effect whose mechanism of action is to inhibit the cyclooxygenase enzyme by reducing the production of prostaglandins. The mechanism of pain can involve four processes, namely: transduction, transmission, modulation, and perception. This study aims to determine the analgesic effectiveness of the ethyl acetate extract of African leaves (*Vernonia amygdalina*) in acetic acid-induced mice.

Methods: A laboratory experimental study tested the effectiveness of an ethyl acetate extract of African leaves on 25 male mice, which were divided into 5 groups, namely the negative control group (CMC Na 0.5%), the positive control group (Mefenamic acid), and the three dose treatment groups, extract 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, and 300 mg/kgBB.

Results: It shows that the ethyl acetate extract of African leaves contains flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. The percentage of analgesic protection in the mefenamic acid group was $58.80\% \pm 11.48$, the extract dose of 300 mg/kgBB was $58.47\% \pm 2.27$, the extract dose of 200 mg/kgBB was $40.2\% \pm 6.07$, and the extract dose of 100 mg/kg BB was $35.21\% \pm 6.40$.

Conclusion: Ethyl acetate extract of African leaves (*Vernonia amygdalina*) has different effectiveness as an analgesic at each dose, with 300 mg/kgBB is the best analgesic dose.

Keywords: Analgesic, Mefenamic acid, African leaves, Acetic acid induction, Male white mice (Balb/C)

*Author

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Efektivitas Analgesik Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Pada *Mus musculus* Yang Diinduksi Asam Asetat”.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Andi Eka Pranata, S.ST., S.Kep., Ners., M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M. Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. Dr. apt. Fifteen Aprila Fajrin., M.Farm selaku pembimbing utama
5. apt. Wima Anggitasari., M.Sc selaku pembimbing anggota

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAM JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN KRIPSI	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Bagi Peneliti	6
1.4.2 Bagi Instansi Farmasi.....	6
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	6
1.4.4 Bagi Penelitian Selanjutnya	7
1.5 Keaslian Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman.....	8
2.1.1 Klasifikasi Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	8
2.1.2 Morfologi Tanaman Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	10
2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	10
2.1.4 Khasiat Tanaman Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	11
2.2 Tinjauan Umum Nyeri	11
2.2.1 Definisi Nyeri	11
2.2.2 Klasifikasi Nyeri.....	13
2.2.4 Patofisiologi Nyeri	14
2.3 Analgesik.....	15
2.4 Asam Mefenamat	16
2.5 Ekstrak dan Ekstraksi	17
2.5.1 Ekstrak	17
2.5.2 Ekstraksi	17
2.5.3 Ekstraksi Dengan Cara Dingin	18
2.5.4 Metode Ekstraksi Panas.....	20
2.6 Mencit (<i>Mus Musculus</i>).....	22
2.6.1 Morfologi.....	23
2.6.2 Karakteristik.....	23
2.7 Asam Asetat	23
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	25
3.1 Kerangka Konsep	25
3.2 Hipotesis Penelitian.....	26
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	27
4.1 Desain Penelitian.....	27
4.2 Populasi Dan Sampel Penelitian	27
4.2.1 Populasi	27
4.2.2 Sampel.....	27
4.3 Variabel	29
4.3.1 Variabel Bebas.....	29

4.3.2 Variabel Terikat.....	29
4.3.3 Variabel Terkendali.....	29
4.4 Tempat Penelitian.....	29
4.5 Waktu Penelitian	29
4.6 Definisi Operasional.....	30
4.7 Teknik Pengumpulan Data	31
4.7.1 Determinasi Tanaman.....	31
4.7.2 Alat-alat penelitian	31
4.7.3 Bahan-bahan penelitian	31
4.7.4 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	32
4.7.5 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) ..	32
4.7.6 Skrining Fitokimia Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	33
4.7.7 Pembuatan Larutan Asam asetat	34
4.7.8 Pembuatan Larutan CMC Na 0,5%	34
4.7.9 Pembuatan Suspensi Asam Mefenamat	35
4.8 Uji Aktivitas Analgesik	35
4.8.1 Persiapan Hewan Coba	35
4.8.2 Kerangka Kerja Pengujian Efektivitas Analgesik dengan metode <i>Writhing Test</i>	36
4.9 Pengolahan dan Analisis Data	36
4.9.1 Pengolahan Data	36
4.9.2 Analisis Data.....	37
4.10 Etika Penelitian	38
BAB 5 HASIL PENELITIAN	39
5.1 Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika	39
5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	39
5.1.2 Hasil Rendemen Daun Afrika.....	39
5.1.3 Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika.....	40
5.2 Jumlah Geliat Kelompok Kontrol Dan Perlakuan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika	41

5.3 Persentase Proteksi Kelompok Kontrol Dan Perlakuan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika.....	42
5.4 Analisis Perbedaan Persentase Proteksi Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika	43
BAB 6 PEMBAHASAN	45
BAB 7 PENUTUP.....	52
7.1 Kesimpulan.....	52
7.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 4.1 Definisi Operasional	30
Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi	40
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia.....	40
Tabel 5.3 Rata-rata Jumlah Geliat Kumulatif Mencit Pada Perlakuan yang Berbeda Selama 60 menit	41
Tabel 5.4 Persentase Proteksi Kelompok Asam mefenamat, Ekstrak dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB	42
Tabel 5.5 Hasil Uji LSD Tiap Masing-masing Kelompok	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun Afrika.....	8
Gambar 2.2 Patofisiologi Nyeri	14
Gambar 2.6 Mencit.....	24
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	27
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	38
Gambar 5.1 Diagram Presentase Proteksi	44

DAFTAR SINGKATAN

CGRP	: Calcitonin gen-related peptide
COX	: Cyclooxygenase
EEADA	: Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika
IASP	: Internasional Association for the Study of Pain
LSD	: Least square differences
NSAID	: Non steroid anti-inflammatory drug
OA	: Osteoarthritis
PGE2	: Prostaglandin E2
PGF2a	: Prostaglandin F2-alfa
RAL	: Rancangan acak lengkap
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
WHO	: World Health Organization

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut *The International Association for the Study of Pain* nyeri merupakan pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan, akibat adanya kerusakan jaringan yang aktual atau potensial (IASP, 2020). Hampir setiap orang pernah mengalami nyeri. Nyeri dapat timbul akibat rangsangan secara kimiawi, mekanik atau fisik yang berlebih di dalam tubuh. Rangsangan tersebut dapat menyebabkan kerusakan jaringan kemudian memicu terjadinya penguraian pereda mediator nyeri berupa histamin, bradikinin, serotonin maupun prostaglandin (Lara *et al.*, 2021). Nyeri merupakan persoalan universal yang umumnya terjadi di masyarakat dan merupakan salah satu alasan paling umum pasien untuk datang mengunjungi dokter. Hal tersebut muncul akibat rasa sakit yang bisa mempengaruhi kualitas hidup penderitanya (Arifin *et al.*, 2018).

Nyeri merupakan gejala yang hampir semua terjadi pada penyakit, salah satunya pada penyakit tulang dan sendi (osteoarthritis). Osteoarthritis merupakan penyakit sendi yang dapat digerakkan. Penyakit ini bersifat kronis, progresif, non-inflamasi, yang ditandai dengan erosi tulang rawan dan membentuk tulang baru di daerah permukaan sendi (Pratama, 2019).

Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2016, nyeri pada osteoarthritis merupakan penyakit sendi muskuloskeletal yang kemungkinan sering terjadi. Prevalensi di dunia pada osteoarthritis terjadi pada bagian lutut

yaitu mencapai sebesar 3,8% dan osteoarthritis pada pinggul mencapai sebesar 0,85% WHO (2019). Prevalensi osteoarthritis di Indonesia memperoleh sejumlah 5% pada umur <40 tahun, 30% umur 40-60 tahun, dan 65% umur >61 tahun. Prevalensi bagi perempuan lebih banyak (27,5%) dibandingkan laki-laki (21,8%), dan di Jawa Timur prevalensinya lebih tinggi sekitar 27% (Risikesdas, 2021).

Nyeri yang dialami dapat diatasi dengan menggunakan obat pereda nyeri yaitu analgesik. Analgesik merupakan obat yang digunakan untuk menghambat atau menghilangkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Penggunaan analgesik berdasarkan tingkatan rasa nyeri ada dua yaitu, analgesik sentral (berat) dan analgesik ringan (perifer). Untuk mengatasi rasa nyeri yang ringan, dapat digunakan sebagai obat oral analgesik seperti golongan *Non Steroid Anti-inflammatory Drug* (NSAID) yang merupakan golongan obat yang bekerja dengan cara memblok kinerja enzim *Cyclooxygenase* (COX-1 dan COX-2) untuk menurunkan produksi prostaglandin yang berperan sebagai mediasi terjadinya inflamasi dan nyeri. Untuk analgesik sentral dapat digunakan untuk nyeri yang berat seperti paska operasi dan kanker, namun dalam penggunaan analgesik harus dengan resep dokter (Husna dan Dipahayu, 2017).

Pemanfaatan obat tradisional sebagai salah satu alternatif pengobatan yang lebih dikenal dengan istilah *back to nature* dinilai lebih menguntungkan jika dibandingkan pengobatan dengan obat sintetik atau obat modern (Suwarni *et al.*, 2016). Indonesia juga dikenal memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan untuk masyarakat. Hal tersebut dapat

menjadikan peluang yang tinggi untuk mengembangkan tanaman obat-obatan herbal (Novianti, 2017). Penggunaan tanaman obat sebagai obat tradisional merupakan salah satu pengobatan yang lebih banyak disukai bagi masyarakat lantaran aman dan mudah diperoleh selain itu juga memiliki efek samping yang relatif sederhana dari pada obat modern (Aulia dan Sinata, 2019). Salah satu tanaman tradisional yang diketahui dapat memiliki efek analgesik adalah daun afrika (*Vernonia amygdalina*).

Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) adalah tanaman yang mempunyai berbagai macam akan khasiat pada bidang kesehatan yaitu sebagai analgesik, antidiabetes, antihipertensi, dan antimikroba (Yeap *et al.*, 2010). Khasiat daun afrika ini tidak terlepas dari kandungan senyawa metabolit sekunder, yakni antrakuinon, tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid (Fauzan dan Zuhrotun, 2019). Dari beberapa golongan senyawa tersebut daun afrika yang dapat mengurangi aktivitas rasa nyeri adalah flavonoid (Miftahul, 2017). Berdasarkan pustaka sebelumnya, menunjukkan bahwa efek analgesik dan anti-inflamasi dari kandungan flavonoid dapat bekerja dengan cara mencegah COX-2 (Agustina *et al.*, 2015).

Pemilihan pelarut menggunakan etil asetat karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yaitu berupa flavonoid. Flavonoid diketahui mempunyai kepolaran yang berbeda-beda pada setiap jenisnya tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksilnya. Pada umumnya flavonoid ditemukan berikatan dengan gula yang membentuk glikosida yang menyebabkan senyawa tersebut lebih mudah larut

dalam pelarut polar. Bentuk aglikon dari flavonoid mempunyai sifat yang kurang polar bahkan cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non-polar. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa non-polar sehingga memungkinkan terjadi pada senyawa flavonoid pada daun afrika yang bersifat polar maupun non-polar dapat terekstraksi lebih efektif (Prayoga *et al.*, 2019).

Model untuk menyebabkan nyeri pada hewan coba adalah menggunakan induksi senyawa kimia, salah satunya asam asetat. Penggunaan asam asetat sebagai pengujian efek analgesik cukup peka sebagai penginduksi nyeri. Induksi asam asetat akan memicu pelepasan asam arakidonat dari jaringan fosfolipid melalui jalur siklooksigenase dan menghasilkan prostaglandin E2 (PGE2) dan prostaglandin F2a (PGF2a). Prostaglandin tersebut dapat menyebabkan terjadinya rasa nyeri pada hewan coba yang akan menimbulkan iritasi pada bagian abdomen dan mengakibatkan respon geliat pada hewan uji (Sentat *et al.*, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kartikawati *et al.*, (2018) mengenai uji efek analgetik ekstrak etanol 96% daun afrika (*Vernonia amygdalina*) pada mencit putih jantan galur swiss webster menyatakan bahwa dosis 1500 mg/kgBB diketahui memberikan efek analgetik terbaik pada mencit yang diinduksi asam asetat. Namun, penelitian uji efektivitas analgesik ekstrak daun afrika dengan pelarut etil asetat belum dilakukan sebelumnya.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan uji efektivitas analgesik ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) pada (*Mus musculus*)

yang diinduksi asam asetat dengan menggunakan metode geliat. Pada pengujian ini diharapkan ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dapat menjadi alternatif terapi analgesik sebagai pengganti golongan NSAID dengan efek samping yang ringan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki efektivitas analgesik terhadap *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat?
2. Apakah terdapat perbedaan efek analgesik pada parameter persentase proteksi setelah pemberian ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB pada *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas analgesik ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) pada *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi kandungan senyawa pada ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai analgesik.
2. Mengidentifikasi jumlah geliat mencit pada kelompok kontrol negatif CMC Na 0,5%, kontrol positif Asam mefenamat dosis 65 mg/kgBB, ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*)

dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB pada *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat.

3. Mengidentifikasi persentase proteksi pada kontrol positif Asam mefenamat dosis 65 mg/kgBB, ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB pada *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat.
4. Menganalisis perbedaan persentase proteksi kontrol positif Asam mefenamat dosis 65 mg/kgBB, ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB pada *Mus musculus* yang diinduksi asam asetat.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Mengetahui dan menambah pengetahuan tentang pengujian efektivitas ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai analgesik.

1.4.2 Bagi Instansi Farmasi

Untuk memperkaya ilmu pengetahuan tentang pengujian efektivitas ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai analgesik yang diujikan pada mencit.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dapat menjadi salah satu alternatif untuk mengobati nyeri.

1.4.4 Bagi Penelitian Selanjutnya

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan dasar untuk penelitian selanjutnya untuk mengenai efektivitas ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai alternatif pengobatan dengan khasiat yang sama maupun berbeda.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Judul	Persamaan	Perbedaan
(Delisma <i>et al.</i> , 2017)	Uji Aktivitas Analgetika Ekstrak n-Heksana Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Delile) Terhadap Mencit Swiss Webster Jantan	1) Menggunakan sampel daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) 2) Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi 3) Rute pemberian secara per-oral	1) Metode menggunakan pelarut n-Heksan sedangkan penelitian ini menggunakan pelarut etil asetat 2) Menggunakan kontrol positif aspirin sedangkan penelitian ini menggunakan kontrol positif asam mefenamat 3) Metode yang digunakan pada pengujian analgesik ekstrak n-Heksan daun afrika yaitu Tail Flick Test (jentik ekor) dan metode Writhing Test (geliat) sedangkan pada pengujian ini menggunakan pengujian <i>Writhing Test</i> (geliat).
(Kartika <i>et al.</i> , 2021)	Uji Efek Analgetik Ekstrak Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> . D) Pada Mencit Putih Galur Swiss Webster	1) Menggunakan sampel daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) 2) Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi 3) Menggunakan penginduksi asam asetat 1% 4) Metode yang digunakan pada pengujian analgesik ini adalah metode geliat (<i>Writhing test</i>)	1) Metode menggunakan pelarut etanol 96% sedangkan pengujian ini menggunakan pelarut etil asetat 2) Menggunakan kontrol positif Paracetamol sedangkan penelitian ini menggunakan Asam mefenamat 4) Dosis pelarut etanol 96% daun afrika 1000mg/kgBB, 1500mg/KgBB, dan 3000mg/KgBB sedangkan penelitian ini menggunakan dosis ekstrak etil asetat daun afrika 100mg/KgBB, 200mg/KgBB, dan 300mg/KgBB.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Klasifikasi daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) menurut (Tjitrosoepomo, 2013) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Class : Dicotyledoneae
Ordo : Asterales
Family : Asteraceae
Genus : Vernonia
Species : *Vernonia amygdalina*



Gambar 2. 1 Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) (Tjitrosoepomo, 2013)

Pada (Gambar 2.1) daun afrika merupakan tanaman dari famili Asteraceae. Tanaman ini didistribusikan secara luas di seluruh Afrika tropis dan dapat dibudidayakan sebagai suplemen makanan di Afrika Barat termasuk di Nigeria. Daun afrika merupakan daun yang pahit (*bitter leaf*) bahkan secara lokal dikenal sebagai ‘Shuwaka’ dalam

bahasa Hausa dan 'Ewuro' dalam Bahasa Yoruba. Tanaman daun afrika merupakan pohon yang berbentuk kecil yang bisa tumbuh setinggi 3 m (Danladi *et al.*, 2018).

1) Batang

Batang dari tanaman daun afrika memiliki struktur anatomi yang tidak jauh berbeda dengan kelompok tanaman perdu lainnya. Bagian ini berukuran kecil dan tingginya bisa mencapai 7 hingga 10 m. Batangnya tumbuh tegak lurus ke atas dan strukturnya tidak terlalu kokoh. Bagian dari warna kulit batang daun afrika berwarna abu-abu kecoklatan. Pohon berdaun afrika memiliki banyak cabang namun tidak terlihat karena tidak terlalu panjang dan mudah patah. Batang daun Afrika merupakan batang berkayu dengan penampang membulat. Seiring bertambahnya usia pohon, warna batangnya berubah menjadi coklat kotor. Jenis akar tanaman pada daun afrika ini adalah akar tunggang (Salsabila, 2020).

2) Daun

Daun afrika mempunyai daun dengan pertulangan yang menyirip, bagian ujung daun yang berbentuk meruncing, dan bagian tepi daun berbentuk gerigi yang berwarna hijau. Bagian daunnya berbentuk agak lonjong dengan ukuran panjang sekitar 10 sampai 15 cm dan lebarnya berkisar antara 4 sampai 5 cm. Pertulangan daunnya lebih terlihat jelas dan tulang yang berada ditengah mempunyai warna agak kemerah-merahan. Tekstur pada

daun Afrika cukup lembut pada bagian atas ataupun bawahnya. Daun Afrika yang sudah tua mempunyai warna hijau pekat dengan permukaan daun yang kasar. Warna percabangan daun Afrika berwarna hijau dan sedikit berwarna coklat ketika sudah tua (Salsabila, 2020).

2.1.2 Morfologi Tanaman Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Daun Afrika memiliki ukuran tinggi yang bervariasi dari ukuran 2 m sampai 10 m, mempunyai kulit batang yang berwarna coklat muda, sedikit kasar dan mengelupas, bahkan memiliki percabangan yang cenderung rapuh. Daun dari tumbuhan tersebut berbentuk lancet-oblongata yang luas daunnya sekitar 28 x10 cm yang berwarna hijau hingga menjadi hijau gelap, serta tanpa adanya rambut halus pada permukaan daun, dan memiliki bau yang khas dan rasa yang pahit (Mardhiyah, 2015). Daun afrika memiliki karakteristik morfologi diantaranya batang tegak, tinggi 1-3 m, bulat, berkayu, berwarna coklat kotor, daun majemuk, anak daun berhadapan, panjang 15-25 cm, lebar 5-8 cm, tebal 7-10 mm, berbentuk lanset, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal membulat, pertulangan menyirip, berwarna hijau tua, akar tunggang (Kharimah *et al.*, 2016).

2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Tumbuhan afrika memiliki sinonim *Gymnanthemum amygdalinum* yang di Indonesia dikenal dengan istilah daun Afrika. Tanaman daun Afrika mempunyai kandungan nutrisi dan senyawa kimia diantaranya

protein 19,2%, karbohidrat 68,4%, serat 19,2%, lemak 4,7%, asam askorbat 166,5 mg/100g, karotenoid 30mg/100g, kalsium 0,97g/100g, besi 7,5 mg/100g. Senyawa yang terkandung di dalam daun Afrika berupa, alkaloid, saponin, antrakuinon, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, alkaloid indole, dan luteolin (Aufia dan Marfu'ah, 2018). Dalam penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun afrika juga banyak mengandung senyawa fitokimia diantaranya saponin, seskuiterpen, lakton, flavonoid dan steroid glikosida (Putri, 2019). Berdasarkan dari skrining fitokimia daun afrika positif mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, asam amino, flavonoid, terpenoid, seskueterpen lakton, dan kardiotonik (Febrianti, 2017).

2.1.4 Khasiat Tanaman Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Daun Afrika mempunyai banyak manfaat dari berbagai macam pengobatan tradisional. Pada penelitian sebelumnya, daun afrika mempunyai efek sebagai aktivitas antara lain: antikanker, antiparasit, antihelmentik, antimalaria, antiviral, antithrombik, dan antikoagulan, analgesik, antiinflamasi, antioksidan, antipiretik, hepatoprotektor, dan antidiabetes (Yeap *et al.*, 2010).

2.2 Tinjauan Umum Nyeri

2.2.1 Definisi Nyeri

Nyeri merupakan suatu pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan yang disebabkan oleh kerusakan pada jaringan atau faktor kerusakan jaringan sebagai respon perlindungan diri dari

setiap individu. Nyeri bisa disebabkan adanya trauma mekanik, fisik, kimia atau lainnya yang bisa menimbulkan adanya rangsangan pada reseptor nyeri (Syamsul *et al.*, 2016).

Secara umum, nyeri merupakan salah satu sensasi tidak nyaman, baik secara ringan maupun berat. Nyeri merupakan suatu kondisi yang dapat menyerang seseorang dan akan diketahui keberadaannya jika orang tersebut pernah mengalaminya. Terdapat rangsangan mekanis atau kimiawi yang dapat merusak jaringan dan melepaskan zat tertentu yang disebut mediator nyeri. Rangsangan tersebut akan diteruskan ke otak melalui sumsum tulang belakang menuju thalamus dan diteruskan ke otak yang kemudian menimbulkan sensasi nyeri (Afrianti *et al.*, 2014).

Rasa sakit yang diakibatkannya dinilai berdasarkan intensitas (ringan, sedang, dan berat), sifatnya (tumpul, tajam, seperti terbakar), durasi (sementara, intermiten, dan terus-menerus), dan luas penyebaran (dangkal atau dalam, lokal atau menyebar) (Hermanto *et al.*, 2020). Berdasarkan mekanisme nyerinya, terdiri dari empat proses yaitu:

- 1) Transduksi merupakan proses mengubah rangsangan nyeri menjadi arus listrik yang melewati ujung saraf.
- 2) Transmisi merupakan proses penularan dengan adanya nonreseptor yang terletak pada saraf tepi menuju korteks serebral melalui kornu dorsalis dan medula spinalis.

- 3) Modulasi merupakan proses penurunan atau peningkatan implus nyeri yang dilakukan oleh pengontrol internal oleh sistem saraf pusat.
- 4) Persepsi merupakan hasil sistem saraf pusat menerima implus nyeri yang diteruskan melalui saraf dan berakhir di sistem saraf pusat.

2.2.2 Klasifikasi Nyeri

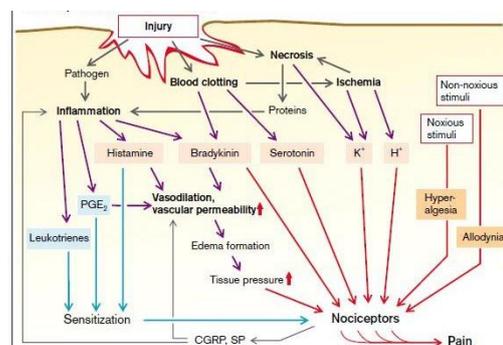
Klasifikasi nyeri memiliki sifat yang sangat unik pada masing-masing individual. Salah satu pendekatan yang dapat diambil untuk mengklasifikasikan nyeri berdasarkan durasi (akut, kronis), patofisiologis (sensasi nyeri, nyeri neuropatik) dan etiologi (pasca operasi, dan kanker) (Arisetijono *et al.*, 2015).

Berdasarkan klasifikasi nyeri pada durasi yaitu nyeri akut dan kronis. Nyeri akut mungkin berhubungan dengan kerusakan jaringan dalam waktu terbatas setelah nosiseptor kembali ke dalam ambang stimulus istirahat. Nyeri akut bisa dirasakan setelah operasi hingga tujuh hari kemudian. Pada nyeri kronis tergolong sebagai maligna atau non maligna dan pasien mungkin akan mengalami nyeri selama 1-6 bulan. Nyeri kronis maligna disertai adanya kelainan patologis seperti kanker atau infeksi HIV. Dalam nyeri kronis kemungkinan mempunyai elemen nosiseptif dan neuropatologis. Nyeri kronis non maligna diantaranya terjadi nyeri pada bagian punggung, migrain, arthritis, diabetes, neuropati disertai tanpa kelainan patologis (Arisetijono *et al.*, 2015).

2.2.4 Patofisiologi Nyeri

Rangsangan pada nyeri dapat diterima oleh adanya nonsiseptor pada bagian kulit yang berintensitas tinggi maupun rendah berupa peradangan dan suhu yang terjadi pada sel jaringan. Sel yang mengalami nekrotik akan merilis K^+ dalam protein intraseluler, akibatnya mediator nyeri dapat dilepaskan seperti leukotrien, prostaglandin E₂, dan histamin. Mediator nyeri tersebut merangsang nonsiseptor kemudian menyebabkan terjadinya nyeri (hiperalgesia atau alodina). Hiperalgesia adalah peningkatan nyeri yang disebabkan oleh rangsangan melebihi tingkat nyeri yang biasanya, sedangkan alodina yakni nyeri yang disebabkan oleh stimulus yang biasanya tidak dapat menimbulkan rasa nyeri. Selain itu, lesi dapat mengaktifkan faktor pembekuan, yang selanjutnya merangsang reseptor nyeri. Apabila terjadi penyumbatan pada pembuluh darah, terjadi iskemia yang akan menyebabkan penumpukan akumulasi K^+ ekstraseluler dan H^+ yang kemudian dapat mengaktifkan reseptor nyeri (Bahrudin, 2018).

Bradikinin, histamin, dan prostaglandin E₂ yang mempunyai efek vasodilator dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah.



Gambar 2.2 Patofisiologi Nyeri (Bahrudin, 2018)

Pada (Gambar 2.2) hal tersebut dapat menyebabkan adanya edema lokal, terkait jaringan yang mengikat dan juga terjadi stimulus pada nosiseptor, sehingga akan melepaskan substansi peptida P (SP) dan kalsitonin gen terkait peptida (CGRP). Kedua senyawa kimia tersebut yang merangsang proses inflamasi, menyebabkan pembuluh darah dan merangsang nosiseptor sehingga menyebabkan nyeri (Bahrudin, 2018).

2.3 Analgesik

Analgesik merupakan obat yang digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan nyeri atau pereda nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Obat-obatan tersebut digunakan untuk membantu meredakan nyeri, baik disengaja maupun tidak, sering kita konsumsi, misalnya saat sedang sakit gigi atau sakit kepala, salah satu kandungan obatnya yang kita gunakan sering kali mengandung obat pereda nyeri atau pereda nyeri (Nugroho, 2012). Pada golongan obat analgesik dapat dibagi menjadi dua yakni, analgesik narkotik dan analgesik non-narkotik.

1) Analgesik narkotik

Analgesik narkotik adalah golongan sekelompok obat yang mempunyai sifat berupa opium atau morfin. Obat golongan tersebut dapat digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa sakit seperti patah tulang dan kanker. Contoh golongan ini adalah kodein, fentanil, dan metadon (Mita dan Husni, 2017).

2) Analgesik non-narkotik

Analgesik non-narkotik merupakan obat yang mampu meringankan ataupun menghilangkan rasa nyeri tanpa mempengaruhi pada sistem susunan saraf pusat sehingga efek tersebut dapat menurunkan tingkat kesadaran. Obat analgesik non-narkotik tidak dapat memberikan efek adiksi pada penggunaannya (Yuniarti dan Astuti, 2023).

Obat-obat dalam golongan analgetik dibagi dalam beberapa kelompok yaitu: derivat para-asaminofenol (paracetamol), derivat salisilat (salisilamida, benorilat, dan asetosal), derivat asam propionate (naproksen, ketoprofen, dan ibuprofen), derivat antranilat (asam mefenamat, dan glafenin), derivat antranilat (aminofenazon, isopropilaminofenazon, dan propifenazon) lainnya benzidamin (Wardoyo dan Oktarlina, 2019).

2.4 Asam Mefenamat

Asam mefenamat adalah salah satu golongan obat NSAID yang bekerja sangat baik dalam mengatasi rasa nyeri. Obat ini dapat digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri yang ringan hingga sedang, berupa nyeri otot, nyeri menstruasi, sakit gigi, dan sakit kepala. Mekanisme kerja asam mefenamat yaitu dengan cara menghalangi efek pada enzim yang disebut dengan *cyclooxygenase* (COX). Enzim tersebut dapat membantu tubuh untuk memproduksi bahan kimia yang disebut prostaglandin. Prostaglandin ini dapat menyebabkan rasa sakit dan peradangan. Dengan menghalangi terjadinya efek enzim COX, maka prostaglandin yang akan diproduksi lebih

sedikit, sehingga rasa sakit dan peradangan akan mereda atau membaik (Zulkifli dan Octaviany, 2019).

2.5 Ekstrak dan Ekstraksi

2.5.1 Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV ekstrak disebut dengan ekstrak sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan ekstraksi sederhana dari tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang mudah menguap dan dalam bentuk massa atau bubuk, selebihnya dapat digunakan menurut standar yang ditentukan. Ekstrak kental (*extractum spissa*) merupakan suatu sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengesktraksi senyawa aktif dari simplisia dengan menggunakan pelarut hingga menguap dan sisa massa atau serbuk yang tersisa kemudian diolah hingga memenuhi batas standar yang telah ditentukan. Ekstrak cair (*ekstractum liquidum*) merupakan sediaan yang berasal dari tanaman simplisia yang mengandung etanol sebagai bahan pengawet. Ekstrak kering (*extractum sicca*) merupakan sediaan ekstrak yang mengandung air kurang lebih dari 5% (Depkes RI, 2016).

2.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif biologis yang ada dalam dengan pelarut. Selama ekstraksi, pelarut berdifusi ke dalam padatan dan melarutkan senyawa yang polaritas yang sesuai dengan pelarut. Efektivitas ekstraksi senyawa kimia dari tumbuhan

bergantung pada beberapa faktor, yakni: bagian tanaman yang digunakan, sumber tanaman yang digunakan, kadar air, cara pengolahan, kandungan air tanaman, dan ukuran partikel senyawa. Metode ekstraksi variannya adalah sebagai berikut: waktu ekstraksi, jenis ekstraksi, sifat pelarut, suhu, konsentrasi pelarut, dan polaritas pelarut dapat mempengaruhi jumlah dan komposisi metabolit sekunder pada ekstrak (Tiwari *et al.*, 2011). Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu metode dingin dan metode panas.

2.5.3 Ekstraksi Dengan Cara Dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstraksi senyawa simplisia yang tidak tahan terhadap panas yang bersifat termolabil (dipengaruhi oleh suhu) (Marjoni, 2016). Ekstraksi cara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu, perkolasi dan maserasi.

1) Maserasi

Maserasi adalah metode yang paling sederhana dan paling banyak digunakan. Cara ini dilakukan dengan menambahkan serbuk simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan ditempatkan pada wadah dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukan kemudian ditutup rapat pada suhu kamar. Setelah proses ekstraksi, selanjutnya dilakukan penyaringan terhadap pelarut dan sampel yang bertujuan untuk memisahkan pelarut dan serbuk sampel. Kerugian utama pada metode ekstraksi ini adalah

memakan banyak waktu yang lama dalam proses ekstraksi, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan kemungkinan ada beberapa senyawa yang hilang dengan menggunakan metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang mungkin bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Remaserasi yaitu metode ekstraksi yang terjadi pengulangan atau penambahan dalam pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Pelarut yang kedua ditambahkan sebanyak jumlah dari penambahan pelarut pertama. Keuntungan dari remaserasi ini yakni dengan cara pengerjaan dan peralatan yang akan digunakan mudah didapatkan dan sederhana, sedangkan kerugian dari remaserasi yakni dalam pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan larutan penyari yang lebih banyak dibandingkan larutan penyari pada metode maserasi dan hasil penyariannya kurang sempurna (Ningsih *et al.*, 2015).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah proses perpindahan pelarut organik melalui sampel pelarut yang akan mengangkut senyawa organik bersama-sama pelarut. Efektivitas pada proses ini akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang akan digunakan (Hasrianti *et al.*, 2016). Keuntungan dari metode perkolasi ini adalah sampel yang terus menerus dialiri oleh pelarut yang baru. Sementara kerugian pada perkolasi yaitu membutuhkan pelarut dalam jumlah besar, memakan waktu, dan apabila sampel

dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau pada semua area.

2.5.4 Metode Ekstraksi Panas

Metode ekstraksi panas digunakan jika senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia tahan panas. Ekstraksi panas dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu refluks, sokletasi, digesti, dekokta, dan infusa.

1) Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang sering dilakukan pada titik didih pelarut dengan adanya sejumlah pelarut pendingin balik (kondensor). Keuntungan metode refluks yaitu padatan dengan tekstur kasar dan tahan panas langsung dapat diekstraksi dengan metode ini. Kerugian dari metode ini adalah membutuhkan pelarut dalam jumlah besar (Romadhoni, 2017).

2) Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan pelarut selalu menghasilkan produk baru, hal ini biasanya dilakukan dengan alat khusus agar ekstraksi berlangsung terus menerus jika terdapat cairan pendingin (kondensor) yang kering. Pelarut kemudian didinginkan dalam pendingin mengekstrak padatan. Kelebihan metode soklet adalah proses ekstraksinya terjadi terus menerus dan memerlukan waktu perpindahan yang lebih singkat serta jumlah pelarut lebih sedikit dibandingkan dengan proses perkolasi dan maserasi. Kerugian

metode ini adalah dapat merusak zat terlarut atau komponen yang tidak stabil secara termal lainnya jika ekstrak terus dipanaskan (Romadhoni, 2017).

3) Digesti

Digesti merupakan proses perendaman dengan pengadukan terus menerus pada suhu diatas suhu kamar, biasanya dilakukan pada suhu 40-50°C (Novianti, 2019).

4) Dekokta

Dalam proses penyarian antara dekokta dan infusa hampir sama dengan infusa, yang membedakan hanyalah waktu dalam proses pemanasannya. Waktu untuk pemanasan dekokta lebih lama dibandingkan dengan metode infusa, yaitu pada metode dekokta selang waktunya selama 30 menit dihitung setelah suhu sudah mencapai 90°C (Marjoni, 2016).

5) Infusa

Infusa merupakan suatu proses filtrasi dengan menggunakan air sebagai pelarut pada suhu 90°C selama 15-20 menit. Infusa dibuat dengan cara merendam sampel dalam labu, dimana perlakuan dapat dilakukan pada sampel segar atau dalam bentuk simplisia (Najib, 2018). Kelebihan metode infusa ini yaitu dalam pembuatannya yang sangat singkat dan cepat, alat dan bahan yang digunakan mudah dicari dan tidak terlalu banyak (Wahyuningsih dan Wiryosoendjoyo, 2019). Kekurangan dari metode infusa yakni

hasil yang di peroleh tidak dapat disimpan dan digunakan setelah 24 jam karena penggunaan pelarut berair yang tidak stabil, dan rentan terhadap infeksi jamur (Aristya, 2015).

2.6 Mencit (*Mus Musculus*)

Klasifikasi mencit putih (*Mus musculus*) menurut Rejeki *et al.*, (2018) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub phylum	: Vetebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i>



Gambar 2.3 Mencit (*Mus musculus*) (Rejeki *et al.*, 2018)

Seperti pada (Gambar 2.3) pengujian pada hewan uji yang akan digunakan adalah mencit putih jantan dengan berat badan mencapai 15-30 g (Tolistiawaty *et al.*, 2018). Mencit merupakan salah satu hewan coba (40-80%) yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium. Kelebihan dari mencit adalah memiliki hasil reproduksi sekitar 10-12 anak per kelahiran,

terkait biaya dalam pembiayaan dan pemeliharaan, relatif murah dan mencit merupakan salah satu dari banyak hewan laboratorium yang ditandai dengan reproduksi yang sangat cepat, beragam spesies dan habitat yang baik (Kartika *et al.*, 2013).

2.6.1 Morfologi

Pada bagian tubuh mencit terdiri diantaranya dari bagian kepala, badan, leher, dan ekor. Bagian rambut mencit yaitu berwarna putih atau abu-abu dengan warna lebih terang pada bagian perut. Mencit sangat aktif pada malam hari, sehingga hewan ini tergolong hewan nokturnal (Rejeki *et al.*, 2018).

2.6.2 Karakteristik

Mencit bisa bertahan hidup 1-2 tahun dan bisa juga mencapai umur 3 tahun. Pada umur 8 minggu mencit sudah siap kawin. Perkawinan mencit terjadi saat mencit betina mulai mengalami estrus. Pada siklus estrus yaitu berkisar 4-5 hari, sedangkan lama bunting berkisar 19-21 hari. Berat badan pada masing – masing mencit ini bervariasi. Berat badan mencit jantan dewasa berkisar antara 20-40 g sedangkan untuk mencit betina berkisar 25-40 g (Rejeki *et al.*, 2018).

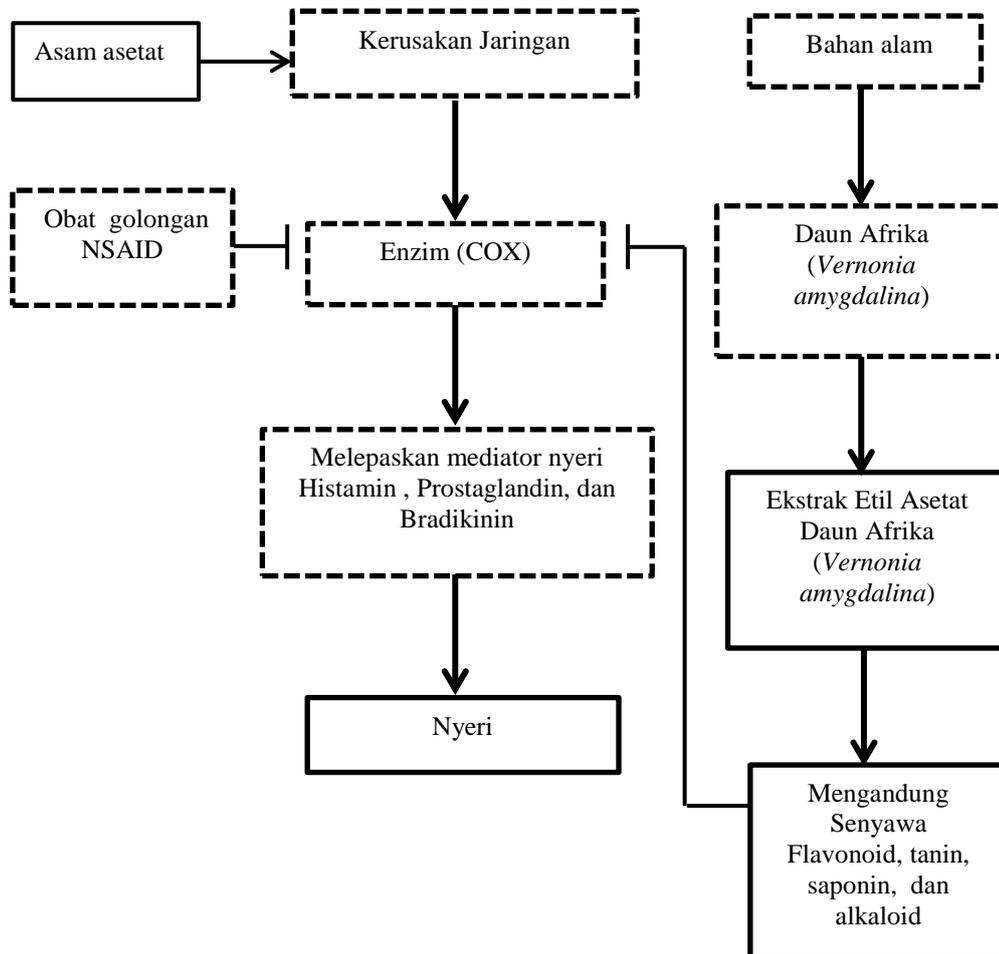
2.7 Asam Asetat

Asam asetat atau biasa disebut asam asetat (CH_3COOH) merupakan zat iritan yang menyebabkan jaringan lokal sehingga menimbulkan nyeri pada rongga perut atau pemberian secara intraperitoneal. Asam asetat adalah obat pereda nyeri dengan berpotensi rendah karena mengandung ion hidrogen.

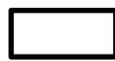
Terkait ion hidrogen dapat menurunkan nilai pH dibawah 6 sehingga menimbulkan rasa sakit yang berhubungan dengan peningkatan dengan konsentrasi ion hidrogen. Penurunan pH dibawah 6 dapat merusak membran. Luka pada membran sel mengaktifkan enzim fosfolipase pada membran fosfolipid untuk menghasilkan asam arakidonat yang akhirnya membentuk prostaglandin. Terbentuknya prostaglandin tersebut meningkatkan sensitivitas reseptor nyeri sehingga mencit merespon dengan cara menggeliat untuk beradaptasi dengan keadaan yang dirasakannya (Wulandari dan Hendra, 2011). Asam asetat ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan atau gangguan metabolisme jaringan jika disuntikkan dibawah bagian kulit dimana terdapat jaringan yang rusak, kemungkinan menyebabkan sel melepaskan mediator nyeri sehingga dapat merangsang reseptor nyeri (Wulandari dan Hendra, 2011). Untuk menginduksi nyeri yang diberikan asam asetat sebanyak 1% secara intraperitoneal dengan pengamatan terjadinya geliat selama 60 menit selama 5 menit.

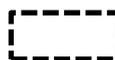
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

 : Dilakukan Penelitian

 : Tidak dilakukan Penelitian

 : Menghambat

Gambar 3. 1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual di atas maka peneliti menarik hipotesis dalam penelitian sebagai berikut :

Hipotesis Nol (H₀) : Ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) tidak memiliki efek analgesik pada *Mus musculus*.

Hipotesis Alternatif (H_A) : Ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki efek analgesik pada *Mus musculus*.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji efektivitas analgesik dari ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) merupakan penelitian eksperimental di laboratorium dengan menggunakan hewan uji mencit *Mus musculus*.

4.2 Populasi Dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi merupakan seluruh kumpulan faktor-faktor yang menunjukkan beberapa ciri umum yang terdiri dari wilayah yang akan diteliti (Amirullah, 2015). Populasi dalam penelitian ini yaitu daun afrika yang diperoleh dari Desa Kunir Lor, Kecamatan Kunir, Kabupaten Lumajang, Provinsi Jawa Timur dan hewan uji mencit putih jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram.

4.2.2 Sampel

Sampel merupakan sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015).

1) Cara pengambilan sampel

Sampel pada penelitian ini menggunakan daun afrika diperoleh dari Desa Kunir Lor, Kecamatan Kunir, Kabupaten Lumajang, Provinsi Jawa Timur, dalam pengambilan daunnya yaitu diambil 4-5 tangkai dari pucuk atas yang masih segar. Hewan uji mencit putih antara yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g. Mencit diadaptasi

terlebih dahulu selama 1 minggu. Proses adaptasi tersebut dilakukan guna menciptakan lingkungan yang mencegah terjadinya stress pada hewan uji.

2) Jumlah sampel

Hewan uji dibagi ke dalam lima kelompok, yang dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu dengan menandai bagian ekor hewan uji, kemudian dilakukan pengundian.

Banyaknya kelompok hewan uji dihitung menggunakan rumus Federer yaitu:

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = kelompok perlakuan = 5

n = jumlah hewan uji per kelompok perlakuan

(Ridwan, 2013)

maka :

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(4-1) (n-1) \geq 15$$

$$4n-1 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 1$$

$$4n \geq 16$$

$$N \geq 4$$

Pada penelitian ini, masing-masing kelompok eksperimen jumlah mencit menggunakan 5 hewan uji untuk menguji efektivitas ekstrak etil

asetat daun afrika dan obat yang digunakan, sehingga diperlukan 25 ekor mencit.

4.3 Variabel

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yakni pemberian ekstrak etil asetat daun afrika pada mencit yang digunakan.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah dengan cara pengujian efektivitas ekstrak etil asetat daun afrika yang dilihat dari jumlah geliat pada mencit.

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini yakni metode ekstraksi, kriteria mencit (berat badan, usia, jenis kelamin) dan teknik cara pengujian efektivitas analgesik secara in vivo pada mencit.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret Tahun 2023.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Indikator	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala Data	Hasil ukur
1	Ekstrak etil asetat daun afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>)	Hasil ekstraksi menggunakan metode remaserasi menggunakan pelarut etil asetat yang di pekatkan pada rotary evoporator.	% Rendemen	Penimbangan	Visual	Rasio	Bobot ekstrak (g)
2.	Efektivitas analgesik (jumlah geliat)	Melihat jumlah geliat yang akan terjadi pada saat hewan ditandai dengan kaki mencit ditarik kedepan dan kebelakang disertai abdomen yang menyentuh lantai pada hewan uji dikarenakan pemberian ekstrak etil asetat daun afrika dengan masing-masing konsentrasi 100mg/kgBB, 200mg/kgBB,dan 300mg/kgBB	Metode <i>writhing test</i>	Pengamatan dari jumlah geliat pada mencit dari menit ke 5 hingga ke 60 menit.	Visual	Rasio	Jumlah geliat (menit)
3.	Persen proteksi analgesik	Angka dalam persen menunjukkan berapa besar efek analgesik yang ditimbulkan sehingga mampu menghambat terjadinya respon pada geliat		Membandingkan terkait jumlah geliat pada masing-masing kelompok kontrol. Dengan rumus: % proteksi = $100 - \left(\frac{P}{K} \times 100\right)$	Data observasi	Rasio	Persentase (%)

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun afrika dilakukan di Laboratorium Politeknik Negeri Jember dengan mengumpulkan seluruh bagian dari tanaman daun afrika. Determinasi ini bertujuan untuk mengetahui dan memastikan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar spesies dari (*Vernonia amygdalina*) dan termasuk dalam famili dari Asteraceae (Suroso, 2016).

4.7.2 Alat-alat penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang, makananan dan minuman untuk pakan mencit, neraca analitik (OHAUS), spuit injeksi 1 mL, sonde oral, gelas beaker (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), kain penyaring, blender, oven, stopwatch, kertas saring Whatman no. 1, cawan petri, gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, pipet volume, rotary evaporator, sarung tangan (Safe Glove), spidol permanent, sonde oral, mortir dan stamper, dan toples.

4.7.3 Bahan-bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ekstrak etil asetat daun Afrika dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, akuadest, CMC Na 0,5%, obat analgesik (Asam Mefenamat) 500 mg, Asam asetat 1% .

4.7.4 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Pengambilan daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yang digunakan sebagai penyederhanaan yakni seluruh bagian daun dengan kriteria daun masih segar, berwarna hijau dan tidak terlalu tua dan diambil 4 sampai 5 tangkai dari pucuknya.

Pembuatan simplisia biasanya melalui beberapa tahapan yaitu pengumpulan simplisia, pemilahan basah, pencucian, pencacahan, pengeringan, sortasi kering, pengemasan serta penyimpanan. Dalam penelitian ini, daun afrika disiapkan sebanyak 2 kg, dibersihkan melalui tahap penyortiran basah yang dilakukan dengan cara pembersihan dengan air mengalir untuk memisahkan sampel dari kotoran yang tidak diinginkan. Langkah selanjutnya adalah mengolah sampel dengan menjemurnya dibawah sinar matahari hingga simplisia terlihat tidak terasa basah saat disentuh. Untuk memastikan simplisia tersebut benar-benar kering, keringkan kembali dalam oven dengan suhu 40°C. Sampel dikeringkan seluruhnya, kemudian di blender hingga menjadi serbuk dan diayak dengan mesh 60 (Fatimah *et al.*, 2020).

4.7.5 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Pada penelitian ini pembuatan ekstrak daun afrika menggunakan metode maserasi. Sampel berupa serbuk simplisia daun afrika

ditimbang sebanyak 200 g serbuk simplisia daun afrika ke dalam wadah dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1000 mL untuk merendam seluruh sampel, kemudian ditutup rapat. Perendaman dilakukan selama 3 hari dan terlindung dari cahaya. Selama proses perendaman, aduk rata. Setelah 3 hari, simplisia disaring dengan kertas saring menggunakan kertas saring untuk menghasilkan filtrat dan residu. Proses perendaman kembali dilakukan seperti pada awal proses maserasi. Hasil filtrat dari maserasi dan perendaman ulang digabungkan dan dipekatkan dengan alat rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat.

Perhitungan % Rendemen:

$$= \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

(Kartikawati *et al.*, 2021)

4.7.6 Skrining Fitokimia Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

1) Uji alkaloid

Masukkan 1 gram ekstrak sampel pekat kedalam dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 3 mL HCl. Setelah itu tambahkan 2 tetes reagen dragendrof. Positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan (Kartikawati *et al.*, 2021).

2) Uji flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel pekat dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 1-2 tetes HCl pekat. Kemudian panaskan selama 5 menit dalam penangas air. Positif

mengandung flavonoid jika membentuk warna merah hingga jingga (Kartikawati *et al.*,2021).

3) Uji Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel pekat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 mL air panas dan didihkan selama 5 menit. Kemudian, tambahkan 3-4 tetes FeCl₃. Positif mengandung tanin jika warna yang dihasilkan yaitu biru kehitaman (Kartikawati *et al.*,2021).

4) Saponin

Masukkan 1 gram ekstrak sampel pekat ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas dan dingin. Setelah itu dikocok kuat selama kurang lebih 10 detik. Jika terdapat busa setinggi 1-10 cm selama minimal 10 menit dan jika ditambahkan 1 tetes HCl pekat maka busa tersebut masih ada (Kartikawati *et al.*, 2021).

4.7.7 Pembuatan Larutan Asam asetat

Asam asetat glasial dibuat menjadi asam asetat 1% v/v, dengan cara memipet 1 mL. Larutan asam asetat glasial dengan pipet volume kemudian diencerkan dengan air suling hingga volume 100 mL. Asam asetat 1% diberikan secara intraperitoneal dengan volume injek sebanyak 0,1 mL/20gBB mencit (Lara *et al.*, 2021).

4.7.8 Pembuatan Larutan CMC Na 0,5%

Sediaan CMC Na 0,5 % ditaburkan sedikit demi sedikit kedalam mortir yang berisi 10 mL air panas, didiamkan selama 15 menit hingga membentuk gel, kemudian di aduk hingga membentuk massa homogen

dan diencerkan dengan aquadest ke dalam labu ukur 100 mL (Lara *et al.*, 2021).

4.7.9 Pembuatan Suspensi Asam Mefenamat

Tablet asam mefenamat 500 mg dan digerus dalam mortar disuspensikan dengan CMC Na 0,5%, diaduk sampai homogen lalu dituang dan di ad kedalam labu ukur 100 mL (Lara *et al.*, 2021). Perhitungan dosis asam mefenamat dituliskan secara lengkap pada Lampiran 3.

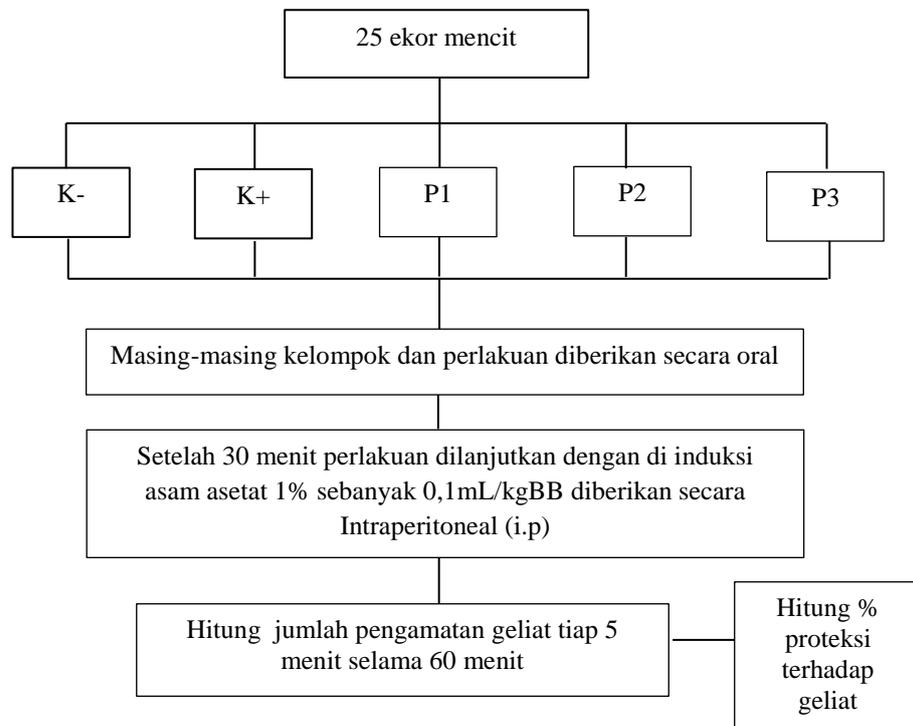
4.8 Uji Aktivitas Analgesik

4.8.1 Persiapan Hewan Coba

Pada mencit jantan yang akan digunakan dalam penelitian ini, mencit terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu dan dipuaskan selama \pm 18 jam, namun tetap diberikan minum. Jumlah mencit yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 25 ekor yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan kemudian beri tanda pada masing-masing ekor mencit untuk memudahkan pengamatan. Semua ditimbang dan dicatat beratnya untuk memastikan dosis yang digunakan (Pandey *et al.*, 2013).

4.8.2 Kerangka Kerja Pengujian Efektivitas Analgesik dengan metode

Writhing Test



Gambar 4. 1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

K - : Kontrol negatif yaitu dengan diberikan CMC Na 0,5 %

K+ : Kontrol positif yaitu dengan diberikan Asam mefenamat 65mg/kgBB

P1 : Dengan dosis ekstrak etil asetat yang diberikan 100 mg/kgBB

P2 : Dengan dosis ekstrak etil asetat yang diberikan 200 mg/kgBB

P3 : Dengan dosis ekstrak etil asetat yang diberikan 300 mg/kgBB

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

4.9.1 Pengolahan Data

Semua data yang diperoleh dianalisa secara statistik dan tingkat persentase proteksi. Persentase proteksi adalah kemampuan bahan yang

diuji dalam mengurangi respon menggeliat mencit terhadap asam asetat.

Persentase proteksi analgesik dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Proteksi} = 100 - \left(\frac{P}{K} \times 100\% \right)$$

Keterangan :

P = Jumlah geliat kelompok perlakuan

K = Jumlah geliat kelompok kontrol negatif

(Kartikawati *et al.*, 2021)

4.9.2 Analisis Data

Analisis data penelitian ini menggunakan uji statistik parametrik. Data yang diperoleh pertama terlebih dahulu dicek dengan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Data tersebut dikatakan terdistribusi dengan normal dan homogen jika nilai $p > 0,05$. Tujuan uji tersebut digunakan sebagai syarat agar dapat menggunakan uji parametrik *one way ANOVA*. Setelah melakukan uji normalitas dan homogenitas kemudian dilakukan analisa menggunakan uji parametrik *one way ANOVA* satu arah dengan tingkat kepercayaan 95% untuk melihat signifikan persentase proteksi setiap kelompok. Apabila didapat nilai $p < 0,05$ dilakukan uji lanjutan yaitu uji *post hoc* yaitu *LSD least significant defferences*. Jika pada analisis uji *one way ANOVA* tidak memenuhi syarat normalitas dan homogenitas, sehingga dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *kruskal-wallis*.

4.10 Etika Penelitian

Dalam proses peneliti yang dimanfaatkan pada hewan percobaan harus mengkaji kelayakan dan alasan pemanfaatan hewan dengan mempertimbangkan penderitaan yang akan dialami oleh hewan coba dan manfaat yang akan diperoleh bagi manusia (Ridwan *et al.*, 2013).

Pada penelitian eksperimen ini, etika mencakup aturan atau prinsip yang harus dipatuhi ketika melakukan eksperimen. Uji etik pada penelitian ini akan dilaksanakan melalui komite etik di Universitas dr. Soebandi Jember. Penelitian dinyatakan layak secara etik berdasarkan 7 standar WHO (2011), yaitu:

1. Nilai sosial
2. Nilai Ilmiah
3. Pemerintah Beban dan Manfaat
4. Resiko
5. Bujukan/Eksploitasi
6. Kerahasiaan dan Privasi
7. Persetujuan setelah penjelasan yang merujuk pada pedoman CIOMS 2016, apabila telah mendapat izin kode etik selanjutnya melakukan penelitian.

Penelitian ini sudah mendapatkan izin etik dari KEPK di Universitas dr. Soebandi Jember dengan Nomor 078/KEPK/UDS/III/2023.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman merupakan suatu teknik untuk melihat kecocokan suatu tanaman yang berdasarkan morfologi tanaman tersebut. Tujuan dilakukannya determinasi guna untuk membuktikan bahwa jenis tanaman yang akan digunakan dalam penelitian tersebut sesuai dengan yang dimaksudkan, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel. Kebenaran identitas tanaman dalam pengujian untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut memang jenis tumbuhan yang digunakan bukan jenis lain. Identifikasi determinasi tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*) telah dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Berdasarkan nomor surat: 056/PL17.8/PG/2023 menunjukkan bahwa hasil determinasi yang telah dilakukan dapat diperoleh dengan pasti bahwa yang digunakan dalam penelitian ini yakni benar-benar berasal dari spesies *Asteraceae*. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

5.1.2 Hasil Rendemen Daun Afrika

Serbuk halus simplisia daun afrika sebanyak 200 g dimaserasi selama 3 hari dengan pelarut etil asetat 1 L. Setelah dimaserasi selama 3 hari, kemudian dilanjutkan untuk remaserasi selama 1 kali 24 jam. Hasil dari ekstrak kental dihitung hasil rendemennya, hasil perhitungan ditunjukkan pada tabel 5.1.

Berdasarkan tabel dibawah terdapat hasil dari nilai % rendemen yang didapatkan cukup tinggi yaitu sebesar 15,6%.

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi

Berat Sampel (g)	Volume Pelarut Etil Asetat (L)	Lama Perendaman	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
200	1	3x24 jam dan diremaserasi 1x24 jam	31,23	15,6

5.1.3 Kandungan Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun afrika memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada tabel 5.2 (Lampiran 17).

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil Penelitian	Hasil Pustaka	Kesimpulan
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl pekat	Terbentuk warna merah jingga	Warna merah jingga (Kartikawati <i>et al.</i> , 2021)	+
Alkaloid	HCl dan <i>dragendroff</i>	Terdapat endapan	Terdapat endapan (Kartikawati <i>et al.</i> , 2021)	+
Tanin	Air panas dan FeCl ₃	Terbentuk warna biru kehitaman	Biru Kehitaman (Kartikawati <i>et al.</i> , 2021)	+
Saponin	Air panas dan HCl pekat	Timbul adanya buih	Buih setinggi 1-10 cm (Kartikawati <i>et al.</i> , 2021)	+

Keterangan : (+) mengandung senyawa

5.2 Jumlah Geliat Kelompok Kontrol Dan Perlakuan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Hasil dari pengujian yang didapatkan berupa kumulatif geliat mencit setiap 5 menit selama 1 jam yang kemudian digunakan untuk menghitung persentase proteksi analgesik yang ditimbulkan dari ekstrak etil asetat daun afrika. Data rata-rata jumlah geliat setiap 5 menit selama 60 menit dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Rata-rata Jumlah Geliat Kumulatif Mencit Pada Perlakuan yang Berbeda Selama 60 menit

No.	Kelompok Perlakuan	Jumlah Geliat Kumulatif Mencit	Jumlah Rata-rata Geliat (\pm SD)
1.	Kontrol Negatif CMC Na 0,5%	115	120,4 \pm 10,52
		125	
		135	
		107	
		120	
2.	Kontrol Positif Asam mefenamat 65 mg/kgBB	45	49,6 \pm 13,83
		34	
		43	
		70	
		56	
3.	Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika 100 mg/kgBB	76	78 \pm 7,71
		82	
		89	
		69	
		74	
4.	Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika 200 mg/kgBB	75	72 \pm 7,31
		62	
		71	
		70	
		82	
5.	Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika 300 mg/kgBB	54	50 \pm 2,73
		48	
		47	
		51	
		50	

5.3 Persentase Proteksi Kelompok Kontrol Dan Perlakuan Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Dari data jumlah geliat kumulatif tiap masing-masing mencit pada kelompok perlakuan selanjutnya dibuat persentase proteksi. Hasil dari perhitungan persentase proteksi untuk kelompok asam mefenamat dan dosis ekstrak etil asetat daun afrika 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Persen Proteksi Kelompok Kontrol Asam mefenamat, Ekstrak dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 300 mg/kgBB

Kelompok Perlakuan	Mencit	% Proteksi	Rata-rata % Proteksi \pm SD
Kontrol Positif Asam mefenamat 65 mg/kgBB	1	62,63	58,80 \pm 11,48
	2	71,76	
	3	64,29	
	4	41,86	
	5	53,49	
Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika 100 mg/kgBB	1	36,88	35,21 \pm 6,40
	2	31,89	
	3	26,08	
	4	38,54	
	5	42,69	
Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika 200 mg/kgBB	1	37,71	40,2 \pm 6,07
	2	31,89	
	3	41,03	
	4	48,51	
	5	41,86	
Ekstrak Etil Asetat daun Afrika 300 mg/kgBB	1	55,15	58,47 \pm 2,27
	2	60,13	
	3	60,96	
	4	57,64	
	5	58,47	

Hasil perhitungan dari rata-rata persentase proteksi untuk masing-masing kelompok dengan nilai urutan tertinggi hingga terendah. Pada perlakuan tertinggi yakni kelompok perlakuan pada kelompok kontrol positif asam mefenamat sebesar (58,80 \pm 11,48%), selanjutnya pada persentase proteksi untuk pemberian ekstrak etil asetat perlakuan 3 dengan dosis 300 mg/kgBB sebesar (58,47 \pm 2,27%),

kemudian persentase proteksi untuk pemberian ekstrak etil asetat daun afrika perlakuan 2 dengan dosis 200 mg/kgBB sebesar $(40,2 \pm 6,07\%)$, dan dosis ekstrak etil asetat daun afrika perlakuan 1 dengan dosis 100 mg/kgBB sebesar $(35,21 \pm 6,40\%)$.

Berdasarkan hasil dari rata-rata persentase proteksi yang telah diperoleh, selanjutnya diuji statistik menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*. Berdasarkan (Lampiran 10 dan 11) data persentase proteksi berdistribusi normal dan homogen dengan signifikansi $p > 0,05$ khusus kontrol positif asam mefenamat 0,788 untuk dosis 100 mg/kgBB 0,898 untuk dosis 200 mg/kgBB 0,947, dan yang terakhir dosis 300 mg/kgBB yaitu 0,833. Pada uji homogenitas diperoleh hasil bahwa data bersifat homogen dengan signifikansi 0,058 yang menunjukkan data tersebut homogen.

5.4 Analisis Perbedaan Persentase Proteksi Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Data dari hasil persentase proteksi diolah dengan menggunakan *Uji Post Hoc LSD* untuk mengetahui adanya suatu kelompok perlakuan mempunyai perbedaan bermakna dan signifikansi antar masing-masing kelompok perlakuan. Hasil data uji LSD pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.5.

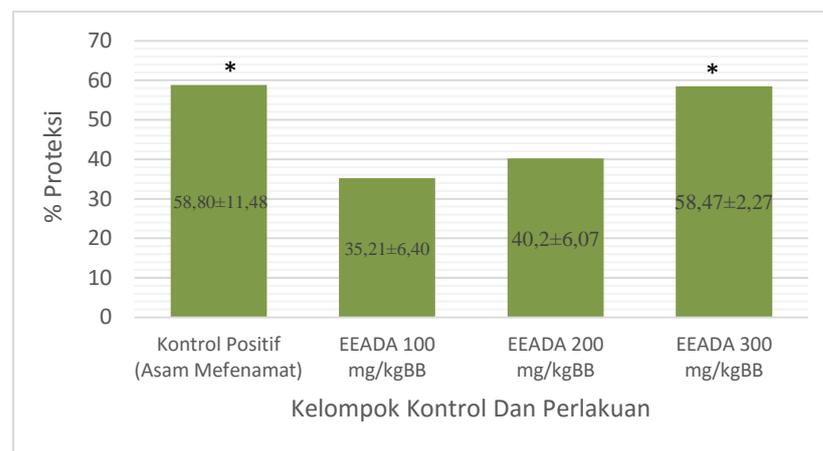
Tabel 5. 5 Hasil Uji LSD Tiap Masing – masing Kelompok

Kelompok Perlakuan	Kontrol Positif	Uji Dosis Ekstrak 100 mg/kgBB	Uji Dosis Ekstrak 200 mg/kgBB	Uji Dosis Ekstrak 300 mg/kgBB
Kontrol Positif (Asam mefenamat)		B	B	TB
Uji Dosis Ekstrak 100 mg/kgBB			TB	B
Uji Dosis Ekstrak 200 mg/kgBB				B
Uji Dosis Ekstrak 300 mg/kgBB				

Keterangan:

B = Berbeda bermakna signifikan $p > 0,05$

TB = Tidak berbeda bermakna signifikan $p < 0,05$

**Gambar 5.1** Diagram presentase proteksi

Keterangan:

*= Tidak berbeda bermakna signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan data hasil LSD pada tabel 5.6 dapat disimpulkan bahwa dosis 300 mg/kgBB ekstrak etil asetat daun afrika merupakan dosis yang paling efektif karena tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif asam mefenamat.

BAB 6 PEMBAHASAN

Pada penelitian ini identifikasi kandungan senyawa kualitatif pada ekstrak kental bertujuan untuk memastikan adanya zat aktif dalam sampel. Berdasarkan hasil identifikasi dari ekstrak kental yang diperoleh mempunyai sifat organoleptis seperti tekstur dari ekstrak etil asetat daun afrika yakni kental dan lengket, berwarna hijau kehitaman, dan beraroma khas.

Bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah daun afrika yang segar dengan kualitas yang baik. Proses ekstraksi diawali dengan sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan dengan cara dioven pada suhu 40°C hingga sortasi kering dijadikan serbuk halus. Serbuk halus simplisia sebanyak 200 g dengan pelarut etil asetat 1 L kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Pemilihan pelarut etil asetat karena bersifat semi polar dan bertujuan agar bisa menarik suatu senyawa-senyawa metabolit sekunder yang baik bersifat polar maupun non polar (Elmitra dan Yuliantari 2017). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 3 hari dan dilakukan ulang 1 hari untuk diremaserasi. Tujuan dilakukan remaserasi adalah untuk menarik jumlah senyawa yang kemungkinan masih tertinggal selama terjadinya proses maserasi (Werdiningsih *et al.*, 2022). Ekstrak kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C untuk mendapatkan ekstrak kental. Suhu evaporasi 45°C merupakan suhu yang berada pada rentang aman untuk pengoperasian *rotary evaporator*, dan menjaga senyawa metabolit agar tidak rusak karena pemanasan, seperti contohnya flavonoid yang merupakan golongan senyawa yang tidak tahan terhadap suhu $\geq 50^\circ\text{C}$

(Susiloningrum dan Sari, 2023). Hasil dari proses ekstraksi etil asetat daun afrika menghasilkan ekstrak kental sebanyak 31,23 g dengan rendemen sebanyak 15,6%. Hasil tersebut memenuhi persyaratan dari FHI (Farmakope Herbal Indonesia) yakni nilai rendemen ekstrak kental daun afrika tidak kurang dari 11,8%. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kartikawati *et al.*, (2021) pada daun afrika dengan pelarut etanol 96% mendapatkan ekstrak pekat sejumlah 39,2 g dengan nilai rendemen sejumlah 19,6%.

Dari ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dilanjutkan untuk uji skrining fitokimia. Skrining fitokimia adalah tahap awal untuk memberikan gambaran tentang kandungan senyawa metabolit sekunder pada bahan yang akan diteliti. Identifikasi untuk uji skrining fitokimia bisa dilakukan secara kualitatif, semi kuantitatif, dan kuantitatif dengan tujuan yang akan diinginkan. Identifikasi kandungan metabolit sekunder dilakukan secara kualitatif. Berdasarkan penelitian ini hasil skrining fitokimia yang dilakukan secara kualitatif membuktikan bahwa ekstrak etil asetat daun afrika mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Identifikasi ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Kartikawati, *et al* (2021), bahwa kandungan yang terdapat pada ekstrak daun afrika yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Pada penelitian Nainggoloan *et al.*, (2018) tentang evaluasi sediaan krim ekstrak etanol daun afrika menyatakan bahwa mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder seperti tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Hasil penelitian Nainggoloan *et al.*, (2018) ini sedikit berbeda dimana terdapat kandungan steroid dan triterpenoid. Perbedaan hasil skrining fitokimia ini dapat

terjadi karena adanya perbedaan dari lokasi geografis pada tempat tumbuhnya tanaman dan kondisi cuaca saat panen tanaman tersebut (Delina *et al.*, 2019).

Pada pengujian ini, hewan coba yang akan digunakan adalah mencit putih jantan dikarenakan dari segi biologisnya cenderung stabil sehingga diharapkan data yang diperoleh homogen. Kelebihan menggunakan hewan coba yakni dari segi fisiologis tubuhnya mirip dengan manusia, mudah diperoleh, harga relatif murah, dan sangat mudah penanganannya (Aldi *et al.*, 2016). Sebelum dilakukan perlakuan pada masing-masing hewan coba yakni mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dan dipuaskan \pm 18 jam dengan tetap diberikan minum. Pada masing-masing mencit yang akan digunakan dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok dari setiap kelompoknya terdiri dari 5 ekor mencit. Selanjutnya mencit diberikan perlakuan dengan suspensi CMC Na 0,5%, asam mefenamat dengan dosis 65 mg/kgBB, dan juga suspensi ekstrak etil asetat daun afrika pada masing-masing dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB dari masing-masing perlakuan diberikan secara oral dengan menggunakan sonde, kemudian diinduksi nyeri yang berupa induksi kimia dengan asam asetat 1% secara intraperitoneal (ip) dengan volume pemberian 0,1 mL/BB.

Asam asetat digunakan sebagai analgesik untuk menguji efektivitas obat pereda nyeri. Pada pengujian ini, asam asetat dapat menyebabkan terjadinya peradangan pada dinding rongga perut sehingga menimbulkan reaksi menggeliat berupa kontraksi otot atau peradangan pada otot perut. Kemunculan reaksi menggeliat paling banyak akan muncul maksimal 5-20 menit setelah pemberian asam asetat dan umumnya akan mereda setelah 1 jam (Puente *et al.*, 2015).

Alasan menggunakan induksi kimia ini yaitu dapat menimbulkan rasa nyeri yang diperlihatkan dalam bentuk respon geliat. Respon geliat dapat dihitung mulai dari menit ke 5 hingga menit ke 60 sehingga hasil yang didapatkan dari geliat mencit dijadikan parameter pengamatan yang akan dianalisis. Cara menghitung satu geliat mencit ditandai dengan terjadinya kontraksi pada bagian dinding perut dan kedua pasang kaki ditarik kebelakang sehingga perut menyentuh bagian bawah ruang yang akan ditematinya (Ramadhan dan Hastuti, 2016).

Hasil dari pengujian ini diperoleh berupa data kumulatif geliat mencit tiap 5 menit selama 60 menit yang kemudian digunakan untuk menghitung persentase proteksi yang ditimbulkan dari ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*). Pada pengujian ini menggunakan 2 kelompok kontrol, yakni kontrol negatif CMC-Na 0,5% dan kontrol positif Asam mefenamat. Pada kontrol negatif dengan menggunakan CMC-Na 0,5% dan jumlah rata-rata geliatnya sebesar $120,4 \pm 10,52$, sedangkan pada kontrol positif dengan asam mefenamat jumlah rata-rata geliatnya sebesar $49,6 \pm 13,83$. Pada kontrol negatif jumlah rata-rata geliat lebih banyak dibandingkan dengan kontrol positif, hal tersebut dikarenakan CMC-Na 0,5% merupakan suatu bahan inert yang belum terbukti mempunyai khasiat sebagai analgesik, sedangkan asam mefenamat merupakan zat yang sudah terbukti mempunyai khasiat sebagai analgesik. Asam mefenamat bekerja dengan cara menghambat enzim *cyclooxygenase* (COX), sehingga produksi prostaglandin diseluruh tubuh menurun. Penghambatan terhadap (*cyclooxygenase-2*) (COX2) diperkirakan dapat memediasi efek analgesik. Hal ini juga dapat mendukung dalam penggunaan asam mefenamat sebagai kontrol positif pada penelitian ini.

Pada kelompok perlakuan menggunakan ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 100 mg/kgBB dihasilkan jumlah rata-rata geliat sebesar $78 \pm 7,71$, dengan dosis 200 mg/kgBB sebesar $72 \pm 7,31$ dan dosis 300 mg/kgBB sebesar $50 \pm 2,73$. Dari hasil diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etil asetat yang diberikan pada mencit, maka semakin kecil jumlah geliat yang ditimbulkan. Onset nyeri pada mencit dimulai dari menit ke-5 dan puncak nyeri yang timbul ke-10. Pada kelompok perlakuan, diamati dari menit ke-5 timbulnya respon nyeri yang disebabkan oleh asam asetat, sebagian besar dengan penurunan jumlah geliat yang signifikan pada menit ke-30. Ekstrak etil asetat daun afrika dari setiap dosis memulai efek analgesik pada mencit yang diinduksi oleh asam asetat.

Hasil data geliat kumulatif mencit pada masing-masing kelompok perlakuan dianalisa lebih lanjut untuk mengetahui persentase proteksi. Presentase proteksi menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun afrika mampu mengurangi terjadinya reaksi menggeliat pada mencit akibat diinduksi asam asetat 1%. Persentase proteksi kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak etil asetat daun afrika dapat dilihat pada tabel 5.5. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa hasil rata-rata persentase proteksi pada kelompok kontrol positif sebesar $58,80 \pm 11,48\%$, hasil rata-rata persentase proteksi pada ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 100 mg/kgBB sebesar $35,21 \pm 6,40\%$, hasil rata-rata persentase proteksi pada ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 200 mg/kgBB sebesar $40,2 \pm 6,07\%$, dan hasil rata-rata persentase proteksi pada ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 300 mg/kgBB sebesar $58,47 \pm 2,27\%$. Suatu obat dikatakan

mempunyai efektivitas sebagai uji analgesik jika mampu mengalami adanya penurunan dari jumlah geliat mencit lebih dari 50% dari jumlah geliat pada kelompok kontrol negatif.

Hasil dari persentase proteksi yang didapatkan dianalisa secara statistik menggunakan *one way* ANOVA. Syarat uji *one way* ANOVA yaitu datanya terdistribusi normal dan homogen. Hasilnya yaitu dengan kontrol positif asam mefenamat 0,788 untuk dosis 100 mg/kgBB 0,898 untuk dosis 200 mg/kgBB 0,947, dan yang terakhir dosis 300 mg/kgBB yaitu 0,833. Pada uji homogenitas diperoleh hasil signifikansi 0,058 yang menunjukkan data tersebut homogen. Berdasarkan hasil uji homogenitas maka dapat dilanjutkan uji *One Way* ANOVA dimana pada uji ini diperoleh hasil yang signifikan yaitu $P=0,00$.

Dari hasil pengujian dosis yang efektif sebagai analgesik pada mencit yaitu ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 300 mg/kgBB. Khasiat ekstrak etil asetat daun afrika sebagai uji analgesik tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif yaitu asam mefenamat yang merupakan salah satu golongan obat NSAID (*non steroid anti inflammatory*) yang bekerja sangat baik dalam pengobatan nyeri.

Efek dari penurunan nyeri pada ekstrak etil asetat daun afrika dikarenakan adanya kandungan senyawa yang berfungsi sebagai analgesik yakni kandungan senyawa berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Mekanisme kerja dari flavonoid sendiri dapat mencegah enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga asam arakidonat tidak dapat berubah menjadi mediator nyeri dengan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga dapat mengurangi terjadinya respon nyeri (Amalia *et al.*, 2021). Alkaloid juga berperan

sebagai penghambat dalam biosintesis prostaglandin, yakni jalur siklooksigenase dalam lintasan metabolisme asam arakidonat (Rustanti *et al.*, 2017). Serta tanin dan saponin dapat menghambat terjadinya enzim COX-2 yang kemudian dapat mencegah biosintesis mediator analgesik prostaglandin (Sentat *et al.*, 2018). Selain senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin untuk senyawa steroid juga mempunyai aktivitas sebagai analgesik dimana senyawa steroid pasti mempunyai efek analgesik dan anti-inflamasi (Delisma *et al.*, 2017).

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil peninjauan selama penelitian dan pembahasan, dapat kami simpulkan bahwa:

1. Kandungan senyawa pada ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yakni senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.
2. Rata-rata jumlah mencit yang menggeliat setiap 60 menit setelah distimulasi dengan asam asetat pada kelompok kontrol negatif CMC-Na 0,5% sebanyak (120,4±10,52), pada kelompok kontrol positif asam mefenamat dengan dosis 65 mg/kgBB sebanyak (49,6±13,83), ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 100 mg/kgBB sebanyak (78±7,71), dosis 200 mg/kgBB sebanyak (72±7,31), dan dosis 300 mg/kgBB sebanyak (50±2,73).
3. Rata-rata persentase proteksi kelompok kontrol positif asam mefenamat dengan dosis 65 mg/kgBB sebesar (58,80±11,48), ekstrak etil asetat daun afrika dengan dosis 100 mg/kgBB sebesar (35,21±6,40), dosis 200 mg/kgBB sebesar (40,2±6,07), dan dosis 300 mg/kgBB sebesar (58,47±2,27).
4. Kelompok kontrol positif asam mefenamat dengan dosis 65 mg/kgBB memiliki perbedaan bermakna dibandingkan dengan ekstrak etil asetat daun afrika pada dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB, sedangkan pada ekstrak etil asetat dengan dosis 300 mg/kgBB tidak berbeda nyata

dengan kelompok kontrol positif asam mefenamat pada dosis 65 mg/kgBB.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang kandungan senyawa pada daun afrika (*Vernonia amygdalina*) secara kuantitatif.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui efek toksik ekstrak etil asetat daun afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai analgesik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, R., Yenti, R., & Meustika, D. 2014. Uji Aktifitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit Putih Jantan yang di Induksi Asam Asetat 1 %. *Jurnal Sains Dan Farmasi Klinis*, 01(01), 54–60.
- Agustina, R., Indrawati, D. T., & Masruhin, M. A. 2015. Aktivitas ekstrak daun salam. *Laboratorium Penelitian Dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*, 5(2),120–123.
- Aldi, Y., Amdani, A., & Bakhtiar, A. 2016. Aktivitas Senyawa Skopoletin dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linn.) Terhadap Respon Fisiologi Makrofag Mencit Putih Jantan. *SCIENTIA: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 6(1), 25-35.
- Amalila, D., Samodra, G., & Silvia Febriana, A. 2021. Uji Analgesik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dan Daun Kelor (*Moringae Oliferae* L.) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(2), 91–97.
- Amirullah, 2015. Populasi dan Sampel (Pemahaman, Jenis dan Teknik). Malang Andjani, Hidayat Sujuti, Sri Winarsih, 2016. Efek Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Nuclear Factor Kappa Beta (NF-kB) Aktif dan Apoptosis Cell Line Kanker MCF-7. Universitas Brawijaya.
- Arifianti, L., R.D. Oktarina, dan I. Kusumawati. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. 2(1), 110.
- Arifin, H., Alwi, T. I., Aisyahharma, O., & Juwita, D. A. 2018. Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut Dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(2), 112.
- Arisetijono Eko, Machlusil Husna, Badrul Munir, Dessika Rahmawati, 2015. *Continuing Neurological Education* 4. Malang.
- Aristya, G. R., Daryono, B. S., Handayani, N. S. N., & Arisuryanti, T. 2015. Karakterisasi Kromosom Tumbuhan dan Hewan. Yogyakarta: *Gadjah Mada University Press*.

- Aufia, W., Amal, S. and Marfu'ah, N. 2018. Uji toksisitas sub akut infusa daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 2(1), 1–8.
- Aulia, N., & Sinata, N. 2019. Uji efek analgetik infusa daun sukun (*artocarpus altilis forst*) terhadap mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan diinduksi asam asetat 1%. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 8(1), 32–40.
- Bahrudin, M. 2018. Patofisiologi Nyeri (Pain). *Saintika Medika*, 13(1), 7.
- Danladi, S., Hassan, M. A., Masa'ud, I. A., & Ibrahim, U. I. 2018. *Vernonia amygdalina* del: A mini review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(9), 4187–4190.
- Delina, S., Arina, Y., & Sari, N. M. I. 2019. Pengaruh Ekstrak Dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Delile) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Pendahuluan Penyakit infeksi masih menempati urutan tertinggi penyebab kesakitan dan kematian di negara-negara berkembang , termasuk Indones. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 4(3), 1–15.
- Delisma, C., Fitriyaningsih, S. P., & Suwendar, S. 2017. Uji Aktivitas Analgetika Ekstrak N-Heksana Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Delile) Terhadap Mencit Swiss Webster Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 1(1), 26–34.
- Elmitra, E., Apriyanti, O., & Sepriani, T. L. 2019. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit (*Solanum frutescens*. L) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode Induksi Caraagenan. *Journal Academi Pharmacy Prayoga*, 4(2), 1-13.
- Fatimah, N., & Sundu, R. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS) Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 5(2), 250–257.
- Fauzan, M. R., & Zuhrotun, D. A. 2019. *Review Artikel: Beberapa Tanaman Yang Memiliki Aktivitas Analgesik Secara In Vivo*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. *Jurnal Farmaka* 4(17), 123–133.
- Febrianti, P., Prabowo, W. C., & Rijai, L. 2017. Aktivitas Antioksidan Dan tabir Surya Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *Laboratorium Penelitian Dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas Mulawarma*. April, 2(5), 23-24.
- Handayani, I. A., *et al.* 2016. Perbandingan Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Secara Remaserasi Dan Perkolasi

Comparision Flavonoid Level In Mahkota Dewa Fruit *Extract In Remaseration And Percolation*. *Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), 79–87.

Hasrianti Y. 2016. Hubungan Postur Kerja Dengan Keluhan Muskuloskeletal Pada Pekerja di PT. *Maruki Internasional Indonesia Makassar*. Universitas Hasanudin.

Hermanto, R., Isro'in, L., & Nurhidayat, S. 2020. Studi Kasus : Upaya Penurunan Nyeri Pada Pasien Post Operasi Fraktur Femur. *Health Sciences Journal*, 4(1), 111.

Husna, H. I., & Dipahayu, D. 2017. Pengaruh Pengetahuan Masyarakat Terhadap Rasionalitas Penggunaan Analgesik Oral Non Steroid Anti-Inflammatory Drug Golongan Non Selective COX-1 dan COX-2 secara Swamedikasi. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(2), 24–29.

International Association for the Study of Pain. *IASP taxonomy*. 2020 Mei 22 [cited 2016 Aug 31]. Available from.

Kartika A.A, H.C.H Siregar, A.M Fuah, 2013. Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) Dan Mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternakan IPB, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Kartikawati, E., Deswati, D. A., & Mahardika, A. 2019. Uji Efek Analgetik Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*.D) Pada Mencit Jantan Putih Galur Swiss Webster. *Jurnal Sabdariffarma*. 9(2): 8-14.

Kharimah, N. Z., Lukmayani, Y., Syafnir, L., Farmasi, P., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. 2016. Prosiding Farmasi Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Identification Flavonoid Compound toward Extract and Fraction of Afrika Leaves (*Vernonia amygdalina* Del.). *Prosiding Farmasi*, 2(6), 703–709.

Lara, A. D., Elisma, & Sani, F. K. 2021. Uji Aktivitas Analgesik Infusa Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Test The Analgesic Activity Of Jeruju Leaf Infusion (*Acanthus ilicifolius* L.) On Male White Mice (*Mus musculus*). *Indonesian Journal of Pharma Science*, 3(2), 71–80.

Marjoni, M. R. 2016. Dasar - Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi. *Pharmaciana*, 4(2), 193–200.

Miftahul Na'imah 2017. Efek Analgesik Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* L.) pada Mencit yang diinduksi Asam Asetat. *Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta*.

- Mita, R. S., & Husni, P. 2017. Pemberian Pemahaman Mengenai Penggunaan Obat Analgesik Secara Rasional Pada Masyarakat Di Arjasari Kabupaten Bandung. *Aplikasi Ipteks Untuk Masyarakat*, 6(3), 193–194.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 8(2), 361-367.
- Najib, Ahmad. 2018. Standarisasi Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Penerbit Deepublish. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Yogyakarta. 4(2), 241-245.
- Nainggolan, M. T., Simaremare, E. S., & Pratiwi, R. D. 2018. Evaluasi Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) dengan Basis Vanishing Cream (VC). *Jurnal Biologi Papua*, 10(1), 17–25
- Ningsih, G., Utami, S., & Nugrahani, R. 2015. Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur. *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 4(1), 107565.
- Novianti, D. 2017. Potensi Dan Pengembangan Jenis Tanaman Obat Didesa Meranjat Kecamatan Indralaya Selatan. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Nugroho. 2012. *Motivasi dan Metode Statistik Penelitian dengan SPSS*, edisi 3. Jakarta : EGC
- Octasari, P. M., Wardani, D. K., & Sari, E. L. 2022. Uji Daya Analgetik dan Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada Mencit Galur Swiss. *Jurnal Wiyata*, 6(12), 149–161.
- Pandey, P. V., Bodhi, W., & Yudistira, A. 2013. Uji Efek Analgetik Ekstrak Rumpun Teki (*Cyperus Rotundus* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Novergicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 2(3), 44-48.
- Pratama, A. D. 2019. Rspad Gatot Soebroto Abstrak Jurnal Sosial Humaniora Terapan. *Jurnal Sosial Humaniora Terapan*, 1(2), 21–34.
- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. 2019. Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema Reticulatum* Br .) pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Putri, Y. A. 2019. Potensi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai Antidiabetik, 10(2), 336–339.
- Ramadhan, G. C., & Hastuti, S. 2016. Uji daya analgetik ekstrak etanol daun jinten (*Coleus amboinicus* L.) pada mencit dengan metode rangsang kimia. *IJMS - Indonesian Journal On Medical Science Indonesian Journal On*

Medical Science, 3(2), 31–37.

- Rejeki, P. S., Putri, E. A., & Prasetya, R. E. 2018. Ovariektomi Pada Tikus Dan Mencit. Surabaya: *Airlangga University Press*.
- Ridwan Endi, 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan Dalam Peneliti Kesehatan, Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta.
- Riskesdas. 2021. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar. *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*, 1-100
- Romadhoni, F. P. 2017. Isolasi Pektin Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Abb) Dengan Metode Refluks Menggunakan pelarut HCI Encer. *Skripsi Politeknik Negeri Sriwijaya*.
- Salsabilah, Nurcahyono, F. 2020. Efikasi Daun Jati Cina Dalam Mengatasi Kontsipasi: *Jurnal Ilmu Farmasi* 3(1) Pp. 41-50.
- Sentat, T., Yulistia, B. S., & Lukman, N. H. 2018. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L) Rendle) pada mencit putih (*Mus musculus* L) jantan dengan metode induksi nyeri cara kimia. *Al Ulum Sains Dan Teknologi*, 4(1), 28–33.
- Sentat T, Soemarie YB, Hakim LN. 2018. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan dengan metode induksi nyeri cara kimia. *Al Ulum Sains dan Teknologi* 4(1): 28-33.
- Sukmawati, S., Hadi, H., & Aminah, A. 2017. Potensi Senyawa Flavonoid Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Asal Ternate Sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 9(2), 195–200.
- Suroso, S. K. T. 2016. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etil Asetat Daun Sorgum (*Sorghum bicolor* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D). July, 1–23.
- Susanti, N. M. P., Budiman, I. N., & Warditiani, N. K. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90 % Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L .) Merr .). *Repository Universitas Udayana*, 3(4), 83–86.
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. 2023. Optimasi Suhu UAE (Ultrasonik Assisted Extraction) Terhadap Nilai Sun Protection Factor (SPF) Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb) Sebagai Kandidat Bahan Aktif Tabir Surya. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 7(1), 58–66.

- Suwarni, E., Cahyaningsih, E., & Yuda, P. E. S. K. 2016. Uji Efek Analgesik Gajah Mada University Press Infusa Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 2(1), 6–11.
- Syamsul, E. S., Andani, F., & Soemarie, Y. B. 2016. Analgesic Activity Study Of Ethanolic Extract Of *Callicarpa Longifolia* Lamk. In Mice. *Majalah Obat Tradisional*, 21(2), 99–103. Tahun x. *Gambaran Waktu Tunggu Pelayanan Resep Di Puskesmas Tegal Selatan*, 2(09), 1-5.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia*, 1(1), pp. 98-106.
- Tjitrosoepomo, G. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Tolistiawaty Intan, Junus Widjaja, Phetisyia Pamela F. Sumolang, Octaviani, 2014. Gambaran Kesehatan Pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan 61 Coba, Balai Litbang P2B2 Donggalan, Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Sulawesi Tengah.
- Wahyuningsih, R., & Wiryosoendjoyo, K. 2019. Uji Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 6(2), 167–176.
- Wardoyo., A, V., & Oktarlina., R. Z. 2019. Tingkat Pengetahuan Masyarakat Terhadap Obat Analgesik Pada Swamedikasi Untuk Mengatasi Nyeri Akut. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 10(2): 156-160.
- Werdiningsih, W., Tia Pratiwi, N., & Yuliaty Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, N. 2022. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten]. *J. Sintesis Submitted: 12 Desember, 2022*(2), 54–61.
- WHO. 2019. *Classification Osteoarthritis: Standards Of Medical Care In Osteoarthritis*. (online). 42(1), hal 13-28
- Wulandari, D., & Hendra, P. 2011. Efek Analgesik Infusa Daun (*Macaranga tanarius* L.) Pada Mencit Betina Galur Swiss. *Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 13(2), 108–117.
- Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Liang, W. S., Ky, H., Yousr, A. H. N., & Alitheen, N. B. 2010. *Vernonia amygdalina*, an ethnoveterinary and ethnomedical used green vegetable with multiple bioactivities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2787–2812.

- Yuniarti, R. K., & Astuti, W. K. 2023. Potensi Analgesik Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdanila* L.). *Journal Transformation of Mandalika*, 4(2), 64-67.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. 2017. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology)*, 4(1), 35-42.
- Zulkifli, & Octaviany, E. E. 2019. Uji Efek Analgetik Ekstrak Akar Binasa (*Plumbago indica* L) Asal Kabupaten Sidenreng Rappang Terhadap Mencit Dengan Metode Writhing Reflex Test. *Jurnal Herbal Indonesia*, 1(1), 43-49.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 56/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1360/FIKES.UDS/U/III/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Ayu Dewi Lestari
NIM : 19040013
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Asterales; Famili: Asteraceae; Genus: Vernonia; Spesies: Vernonia amygdalina, Del

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 Maret 2023

Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2 Uji Layak Etik

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"

No.078/KEPK/UDS/III/2023

Protokol penelitian versi 2 yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Ayu Dewi Lestari
Principal In Investigator

Nama Institusi : Universitas dr.Soebandi Jember
Name of the Institution

Dengan judul:
Title

**"UJI EFEKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA *Mus musculus* YANG DIINDUKSI
ASAM ASETAT"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 29 Maret 2023 sampai dengan tanggal 29 Maret 2024.

This declaration of ethics applies during the period March 29, 2023 until March 29, 2024.



March 29, 2023
Professor and Chairperson,



Rizki Fitrianingtyas, SST, MM, M.Keb

Lampiran 3 Perhitungan Dosis Asam mefenamat

Tiap tablet asam mefenamat mengandung 500 mg asam mefenamat dengan faktor konversi dosis pada manusia berat badan (70 kg) ke mencit 20 g adalah 0,0026

Konversi dosis untuk mencit = $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg}$

Maka didapatkan dosis asam mefenamat yang diberikan pada mencit 1,3 mg/20gBB mencit sehingga dosis dalam mg/kgBB adalah:

$$\text{Dosis yang diberikan : } \frac{1,3 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} = \frac{x}{1000 \text{ mg}} = 65 \text{ mg/KgBB}$$

(Lara et al., 2021)

Lampiran 4 Perhitungan Rendemen Ekstraksi

Perhitungan rendemen ekstrak etil asetat daun Afrika (*Vernonia amygdaliana*)

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \times 100 \%$$

Bobot simplisia = 200 gram

Bobot Ekstrak = 31,23 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{31,23}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 15,6 \%$$

Lampiran 5 Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Suspensi Etil Asetat Daun Afrika, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB

1. Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Suspensi Ekstrak Etil Asetat

Daun Afrika 100 mg/kgBB

a. Penyesuaian dosis = $\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram/kgBB}} = \frac{x}{20 \text{ gram}}$

$$X = \frac{100 \text{ mg/kgBB} \times 20 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} = 2 \text{ mg/20 gram/kgBB}$$

b. Larutan stok = $\frac{2 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{2 \text{ mg} \times 10 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$

c. Volume Pemberian

Larutan yang akan dibuat 10 mL, maka : $\frac{2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ mL} =$

0,2 mL/20gram/kgBB

d. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Ditimbang Ekstrak etil asetat daun afrika sebanyak 100 mg larutkan kedalam suspensi CMC Na 0,5 % sebanyak 10 mL diaduk ad homogen.

No.	BB Mencit (gram)	Volume oral (mL)	Volume Asam Asetat (IP)
1	24 gram	$\frac{24 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,24 mL	$\frac{24 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,12 mL
2	23 gram	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,23 mL	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,115 mL
3	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
4	27 gram	$\frac{27 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,27 mL	$\frac{27 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,135 mL
5	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL

2. Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Suspensi Ekstrak Etil Asetat

Daun Afrika 200 mg/kgBB

a. Penyesuaian dosis = $\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ gram/kgBB}} = \frac{x}{20 \text{ gram}}$

$$X = \frac{100 \text{ mg/kgBB} \times 20 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} = 4 \text{ mg/20 gram/kgBB}$$

b. Larutan stok = $\frac{4 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}} = \frac{4 \text{ mg} \times 10 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL}} = 200 \text{ mg}$

c. Volume Pemberian

Larutan yang akan dibuat 10 mL, maka : $\frac{4 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 10 \text{ mL} =$

$$0,2 \text{ mL/20gram/kgBB}$$

d. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Ditimbang ekstrak etil asetat daun afrika sebanyak 200 mg larutkan kedalam suspensi CMC Na 0,5 % sebanyak 10 mL diaduk ad homogen.

No.	BB Mencit (gram)	Volume oral (mL)	Volume Asam Asetat (IP)
1	25 gram	$\frac{25 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,25 mL	$\frac{25 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,125 mL
2	23 gram	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,23 mL	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,115 mL
3	21 gram	$\frac{21 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,21 mL	$\frac{21 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,105 mL
4	26 gram	$\frac{26 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,26 mL	$\frac{26 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,13 mL
5	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL

3. Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika
300 mg/kgBB

a. Penyesuaian dosis = $\frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ gram/kgBB}} = \frac{x}{20 \text{ gram}}$

$$X = \frac{100 \text{ mg/kgBB} \times 20 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} = 6 \text{ mg/20 gram/kgBB}$$

b. Larutan stok = $\frac{6 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}} = \frac{6 \text{ mg} \times 10 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL}} = 300 \text{ mg}$

c. Volume Pemberian

Larutan yang akan dibuat 10 mL, maka : $\frac{6 \text{ mg}}{300 \text{ mg}} \times 10 \text{ mL} =$

0,2 mL/20gram/kgBB

d. Pembuatan Suspensi Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika

Ditimbang Ekstrak etil asetat daun afrika sebanyak 300 mg larutkan kedalam suspensi CMC Na0,5 % sebanyak 10 mL diaduk ad homogen.

No.	BB Mencit (gram)	Volume oral (mL)	Volume Asam Asetat (IP)
1	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
2	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
3	32 gram	$\frac{32 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,32 mL	$\frac{32 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,16 mL
4	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gm}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
5	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL

Lampiran 6 Perhitungan Dosis dan Volume Pemberian Asam Mefenamat

Dosis Terapi Manusia 500 mg dikonversi BB mencit 20 gram

Konversi mencit = 0,0026

- a. Dosis Pemberian = $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg}/20 \text{ gramBB}$ (Diberikan dalam volume 0,2 mL)
- b. Larutan yang akan dibuat 10 mL,

$$\text{Larutan Stok} = \frac{1,3 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}} = \frac{1,3 \text{ mg} \times 10 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL}} = 65 \text{ mg}$$

- c. Penimbangan Sediaan Tablet Asam Mefenamat:

- | | |
|--------------|---------------|
| 1. 0,53 gram | 6. 0,63 gram |
| 2. 0,62 gram | 7. 0,63 gram |
| 3. 0,61 gram | 8. 0,63 gram |
| 4. 0,61 gram | 9. 0,63 gram |
| 5. 0,62 gram | 10. 0,58 gram |

$$\text{Berat rata-rata tablet} = \frac{6,09 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} = 0,609 \text{ gram} \approx 609 \text{ mg}$$

1 tablet Asam mefenamat mengandung 500 mg, asam mefenamat yang ditimbang.

$$= \frac{65 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 609 \text{ mg} = 79,17 \text{ mg} \approx 0,07917 \text{ gram}$$

d. Pembuatan Suspensi Asam mefenamat

Ditimbang asam mefenamat sebanyak 79,17 mg larutkan kedalam suspensi CMC Na 0,5 % sebanyak 10 ml diaduk ad homogen.

No.	BB Mencit (gram)	Volume oral (mL)	Volume Asam Asetat (IP)
1	23 gram	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,23 mL	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,115 mL
2	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
3	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
4	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
5	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL

Lampiran 7 Pembuatan Larutan CMC Na 0,5%

$$\text{Sediaan CMC Na 0,5\%} = \frac{0,5 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,005 \text{ gram} \rightarrow 5 \text{ mg}$$

Ditimbang serbuk CMC Na 0,5 % sebanyak 0,5 gram, kemudian ditaburkan ke dalam aquadest hangat sebanyak 100 mL aduk hingga sedikit membentuk gel.

Volume Larutan yang diberikan

No.	BB Mencit (gram)	Volume oral (mL)	Volume Asam Asetat (IP)
1	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
2	23 gram	$\frac{23 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,23 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,115 mL
3	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL
4	21 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,01 mL
5	20 gram	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,2 \text{ mL}$ = 0,2 mL	$\frac{20 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} \times 0,1 \text{ mL}$ = 0,1 mL

Lampiran 8 Jumlah Geliat Pada Mencit dari Menit ke 5 Sampai 60 menit

Kelompok Perlakuan	Hewan Uji	Jumlah Geliat Mencit (Menit)												Jumlah	Rata-rata	SD
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60			
Kontrol Negatif (CMC Na)	1	5	15	18	16	13	10	9	7	6	6	5	5	115		
	2	9	19	21	18	15	11	8	7	6	5	3	3	125		
	3	1	25	19	15	15	18	6	8	8	9	6	5	135	120,4	10,52
	4	0	11	15	12	16	11	9	8	8	7	6	4	107		
	5	4	15	18	16	13	10	11	9	8	6	6	4	120		
Kontrol Positif (Asam Mefenamat)	1	0	1	0	2	10	8	9	5	5	3	2	0	45		
	2	0	3	5	6	4	3	3	4	3	2	0	1	34		
	3	8	10	5	4	4	2	3	2	2	2	1	0	43	49,6	13,83
	4	0	1	0	10	6	17	11	2	11	9	3	0	70		
	5	12	7	9	4	5	3	4	3	2	3	2	2	56		
EEADA Dosis 100 mg/kgBB	1	10	11	13	8	9	3	4	5	5	3	3	2	76		
	2	11	13	9	7	6	8	9	5	5	4	3	2	82		
	3	12	15	13	10	8	8	6	7	6	3	1	0	89	78	7,71
	4	0	5	7	8	8	10	8	7	7	5	4	3	69		
	5	13	11	10	9	8	6	5	3	4	2	2	1	74		
EEADA Dosis 200 mg/kgBB	1	6	9	12	10	9	7	5	5	6	4	2	0	75		
	2	0	3	10	9	5	6	9	5	8	4	2	1	62		
	3	1	4	6	7	9	8	7	10	12	5	2	0	71	72	7,31
	4	1	5	7	8	8	10	8	7	6	4	3	3	70		
	5	0	7	5	8	8	9	11	9	9	7	6	3	82		
EEADA Dosis 300 mg/kgBB	1	3	5	8	9	7	6	6	5	3	1	1	0	54		
	2	1	1	2	6	9	11	7	4	3	2	1	0	48		
	3	1	6	8	5	6	5	4	3	4	3	1	1	47	50	2,73
	4	0	3	6	8	7	5	4	3	4	4	2	0	51		
	5	4	7	9	7	6	3	4	5	3	1	1	0	50		

Lampiran 9 Perhitungan Persen Proteksi

% Proteksi : $(P/K \times 100\%)$

Keterangan :

P = Jumlah geliat kelompok perlakuan

K = Jumlah geliat kelompok kontrol negatif (didapatkan hasil rata-rata dari mencit 1 sampai 5 sebesar 120,4)

1. Persen Proteksi Pada Kelompok Kontrol Positif Asam mefenamat

1. Mencit I : $100 - (45/120,4 \times 100\%) = 62,63 \%$
2. Mencit II : $100 - (34/120,4 \times 100\%) = 71,76 \%$
3. Mencit III : $100 - (43/120,4 \times 100\%) = 64,29 \%$
4. Mencit IV : $100 - (70/120,4 \times 100\%) = 41,86 \%$
5. Mencit V : $100 - (56/120,4 \times 100\%) = 53,49 \%$

2. Persen Proteksi Pada Kelompok Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika Dosis

100 mg/kgBB

1. Mencit I : $100 - (76/120,4 \times 100\%) = 36,88 \%$
2. Mencit II : $100 - (82/120,4 \times 100\%) = 31,89 \%$
3. Mencit III : $100 - (89/120,4 \times 100\%) = 26,08 \%$
4. Mencit IV : $100 - (74/120,4 \times 100\%) = 38,54 \%$
5. Mencit V : $100 - (69/120,4 \times 100\%) = 42,69 \%$

3. Persen Proteksi Pada Kelompok Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika Dosis

200 mg/kgBB

1. Mencit I : $100 - (75/120,4 \times 100\%) = 37,71 \%$
2. Mencit II : $100 - (82/120,4 \times 100\%) = 31,89 \%$

3. Mencit III : $100 - (71/120,4 \times 100\%) = 41,03 \%$
4. Mencit IV : $100 - (62/120,4 \times 100\%) = 48,51 \%$
5. Mencit V : $100 - (70/120,4 \times 100\%) = 41,86 \%$

4. Persen Proteksi Pada Kelompok Ekstrak Etil Asetat Daun Afrika Dosis

300 mg/kgBB

1. Mencit I : $100 - (54/120,4 \times 100\%) = 55,15 \%$
2. Mencit II : $100 - (48/120,4 \times 100\%) = 60,13 \%$
3. Mencit III : $100 - (47/120,4 \times 100\%) = 60,96 \%$
4. Mencit IV : $100 - (51/120,4 \times 100\%) = 57,64 \%$
5. Mencit V : $100 - (50/120,4 \times 100\%) = 58,47 \%$

Lampiran 10 Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
persen_proteksi	kontrol positif (Asam mefenamat)	,230	5	,200*	,957	5	,788
	EEADA dosis 100 mg/kgBB	,202	5	,200*	,974	5	,898
	EEADA dosis 200 mg/kgBB	,192	5	,200*	,982	5	,947
	EEADA dosis 300 mg/kgBB	,167	5	,200*	,964	5	,833

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

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 11 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

persen_proteksi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,078	3	16	,058

Lampiran 12 Uji *One Way Anova*

ANOVA

persen_proteksi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2252,707	3	750,902	13,961	,000
Within Groups	860,561	16	53,785		
Total	3113,269	19			

Lampiran 13 Descriptive

Descriptives

persen_proteksi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimu m	Maximu m
					Lower Bound	Upper Bound		
					kontrol positif (Asam mefenamat)	5		
EEADA dosis 100 mg/kgBB	5	35,216 0	6,40717	2,8653 7	27,2604	43,1716	26,08	42,69
EEADA dosis 200 mg/kgBB	5	40,200 0	6,07776	2,7180 6	32,6535	47,7465	31,89	48,51
EEADA dosis 300 mg/kgBB	5	58,470 0	2,27305	1,0165 4	55,6476	61,2924	55,15	60,96
Total	20	48,173 0	12,80063	2,8623 1	42,1821	54,1639	26,08	71,76

Lampiran 14 Uji *Post Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen_proteksi

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif (Asam mefenamat)	EEADA dosis 100 mg/kgBB	23,59000*	4,63832	,000	13,7572	33,4228
	EEADA dosis 200 mg/kgBB	18,60600*	4,63832	,001	8,7732	28,4388
	EEADA dosis 300 mg/kgBB	,33600	4,63832	,943	-9,4968	10,1688
EEADA dosis 100 mg/kgBB	kontrol positif (Asam mefenamat)	-23,59000*	4,63832	,000	-33,4228	-13,7572
	EEADA dosis 200 mg/kgBB	-4,98400	4,63832	,299	-14,8168	4,8488

	EEADA dosis 300 mg/kgBB	-23,25400*	4,63832	,000	-33,0868	-13,4212
EEADA dosis 200 mg/kgBB	kontrol positif (Asam mefenamat)	-18,60600*	4,63832	,001	-28,4388	-8,7732
	EEADA dosis 100 mg/kgBB	4,98400	4,63832	,299	-4,8488	14,8168
	EEADA dosis 300 mg/kgBB	-18,27000*	4,63832	,001	-28,1028	-8,4372
EEADA dosis 300 mg/kgBB	kontrol positif (Asam mefenamat)	-,33600	4,63832	,943	-10,1688	9,4968
	EEADA dosis 100 mg/kgBB	23,25400*	4,63832	,000	13,4212	33,0868
	EEADA dosis 200 mg/kgBB	18,27000*	4,63832	,001	8,4372	28,1028

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

Lampiran 15 Pengumpulan Sampel Penelitian dan Proses Ekstraksi

		
Daun Afrika	Pencucian	Perajangan
		
Oven	Penimbangan	Maserasi
		
Evaporasi	Ekstrak Kental	

Lampiran 16 Pengujian Analgesik

1. Proses Pembuatan Larutan Uji

		
Penimbangan Ekstrak	Penimbangan Asam mefenamat	Penimbangan CMC Na
		
Suspensi Asam mefenamat, Suspensi CMC Na, dan Suspensi Ekstrak etil asetat Daun Afika	Suspensi Asam Asetat	

2. Proses Perlakuan Pada Hewan Uji

		
Proses Adaptasi	Penimbangan hewan uji	Pemberian Ekstrak Secara Oral

	
<p>Pemberian Asam asetat Secara ip</p>	<p>Proses terjadinya reaksi geliat pada hewan uji</p>

Lampiran 17 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Afrika

	
<p>Uji Flavonoid</p>	<p>Uji Alkaloid</p>
	
<p>Uji Tanin</p>	<p>Uji Saponin</p>