



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK
NAGA (*Pyrrhosia piloselloides* (L.) M. G. PRICE) PADA MENCIT
YANG DIINDUKSI ASAM ASETAT**

SKRIPSI

**GRACE NATALIA
0806453586**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANALGESIK EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK
NAGA (*Pyrrhosia piloselloides* (L.) M.G. PRICE) PADA MENCIT
YANG DIINDUKSI ASAM ASETAT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

**GRACE NATALIA
0806453586**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, Juli 2012


Grace Natalia

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Grace Natalia

NPM : 0806453586

Tanda tangan : 

Tanggal : Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Grace Natalia
NPM : 0806453586
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga
(*Pyrrhosia piloselloides* (L.) M.G. Price) pada Mencit
yang Diinduksi Asam Asetat

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing 1 : Dra. Juheini Amin, M.Si., Apt. (.....)
Pembimbing 2 : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed, Apt. (.....)
Penguji 1 : Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. (.....)
Penguji 2 : Dr. Berna Elya, M.S., Apt. (.....)

Dietapkan di : Depok
Tanggal : 10 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah mencurahkan kasih dan pertolongan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dra. Juheini Amin, M.Si, Apt. dan Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed, Apt. selaku pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, nasihat, saran, serta semangat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt. selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
3. Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan izin untuk dapat melakukan penelitian ini serta membimbing selama masa perkuliahan.
4. Dr. Retnosari Andrajati, M.S. selaku kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan nasihat, bimbingan dan izin untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Farmakologi.
5. Dr. Berna Elya, M.S., Apt. selaku koordinator pendidikan Departemen Farmasi FMIPA UI atas izin yang diberikan sehingga penulis dapat melakukan penelitian ini.
6. Seluruh dosen pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu dan mendukung penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. PT Bayer Cibubur atas pemberian asetosal untuk penelitian ini.

8. Papa, Mama, Kak Eva, Bang Togap, Kak Yoseph, Ci Elna, Aline, Mikha, dan Kak Franki Siadari yang telah memberikan waktu, motivasi, semangat, kasih sayang, nasihat, saran, serta dukungan doa untuk penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI, terutama dalam masa penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Lidya, Raissa, Dessy, Yennita, Tami, Jeff, Wileam, Ivan, Chrisna, Anthony, Melda, Dita, Bu Rianti, Gabriella, keluarga Farmasi, KTB Farmasi, PO Farmasi dan PO FMIPA UI yang telah memberikan semangat dan dukungan doa selama penelitian ini.
10. Kak Riza, Kak Wita, dan teman-teman angkatan 2008 khususnya KBI Farmakologi dan Fitokimia yang telah mendukung, memotivasi, dan menemani penulis selama masa penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Kiranya Tuhan memberkati seluruh pihak yang telah membantu penulis. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam skripsi ini namun penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Grace Natalia
NPM : 0806453586
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrhosia piloselloides* (L.) M.G. Price) pada Mencit yang Diinduksi Asam Asetat

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Juli 2012
Yang menyatakan



(Grace Natalia)

ABSTRAK

Nama : Grace Natalia
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) pada Mencit yang Diinduksi Asam Asetat

Obat bahan alam telah digunakan dalam upaya promotif, preventif, dan rehabilitatif kesehatan manusia. Secara empiris, daun sisik naga digunakan oleh masyarakat sebagai penghilang rasa sakit atau analgesik. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek analgesik ekstrak etanol daun sisik naga dalam menghambat respon geliat mencit yang disebabkan oleh stimulasi kimia. Pada penelitian ini, 25 ekor mencit jantan dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok pertama diberi CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, kelompok kedua diberi asetosal 13 mg/20 g bb sebagai kontrol positif, kelompok ketiga sampai kelompok kelima diberi ekstrak etanol daun sisik naga dengan variasi dosis, yakni 17,125; 34,25; dan 68,5 mg/20 g bb secara oral. Satu jam setelah perlakuan, kelompok-kelompok tersebut disuntikkan asam asetat glasial 0,6% secara intraperitoneal dan dihitung jumlah geliat yang timbul pada menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan interval 5 menit. Hasil uji menunjukkan bahwa ketiga dosis ekstrak daun sisik naga memiliki efek analgesik yang signifikan ($\alpha < 0,05$) ditinjau dari penurunan jumlah geliat mencit dengan persentase inhibisi geliat yang diberikan oleh dosis I, dosis II, dan dosis III berturut-turut adalah 94,27%; 86,36%; dan 84,68%.

Kata kunci : analgesik, asam asetat, geliat, *Pyrrosia piloselloides*, sisik naga
xiv+64 halaman ; 7 gambar; 14 tabel; 11 lampiran
Daftar acuan : 36 (1964-2012)

ABSTRACT

Name : Grace Natalia
Program Study : Pharmacy
Title : The Analgesic Effect Testing of Ethanol Extract of Sisik Naga Leaves (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) in Mice Induced by Acetic Acid

Natural medicines have been used in promotive, preventive, and rehabilitative of human health. Empirically, sisik naga leaves used as analgesic. This study aimed to observe the analgesic effect of ethanol extract of sisik naga leaves in inhibiting writhing respon in mice caused by chemical stimulation. In this study, 25 mice were used and divided into five groups. First group received CMC 0,5% as negative control group, second group received acetosal 13 mg/20 g bw as positive control group, third group until fifth group received ethanol extract of sisik naga leaves with doses 17,125; 34,25; and 68,5 mg/20 g bw per oral. One hour afterward, the groups induced by intraperitoneal injection of glacial acetic acid 0,6% and the writhing that occurred at 10 minute until 60 minute counted with interval 5 minute. The result showed that ethanol extract of sisik naga leaves have analgesic effect significantly ($\alpha < 0,05$) reviewed from reduction of writhing number in mice with the writhing inhibition for dose I, II, and III are 94,27%; 86,36%; and 84,68% respectively.

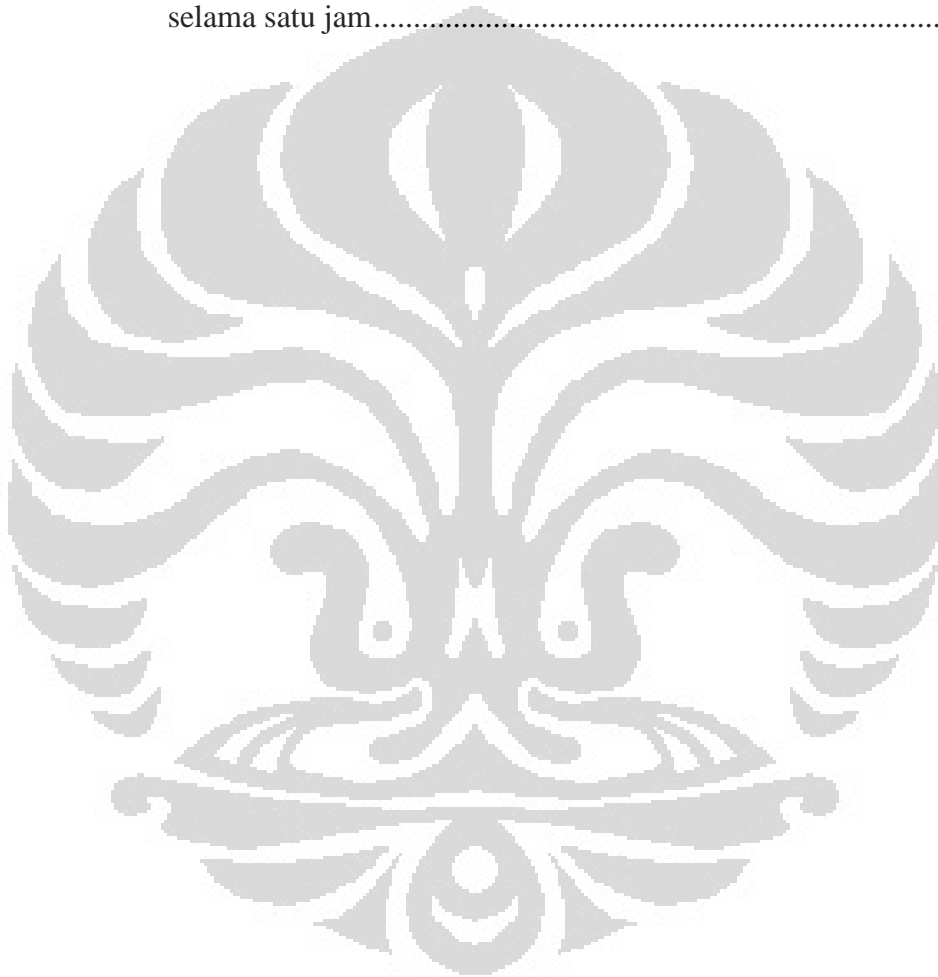
Key words : analgesic, acetic acid, writhing, *Pyrrosia piloselloides*, sisik naga
xiv+64 pages ; 7 pictures; 14 tables; 11 appendixes
Bibliography : 36 (1964-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup	2
1.3 Jenis Penelitian dan Metode Penelitian	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tumbuhan Sisik Naga	4
2.2 Simplisia, Ekstrak dan Ekstraksi	5
2.3 Standardisasi Ekstrak	8
2.4 Nyeri	8
2.5 Pengobatan Nyeri	10
2.6 Asetosal	13
2.7 Metode Uji Efek Analgesik	14
3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Tempat dan Waktu	16
3.2 Bahan	16
3.3 Alat	17
3.4 Prosedur Kerja	17
3.5 Metode	27
3.6 Analisis Data	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Pembuatan Ekstrak	30
4.2 Standardisasi Ekstrak	30
4.3 Uji Pendahuluan	31
4.4 Uji Efek Analgesik	33
5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
DAFTAR ACUAN	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun sisik naga.....	44
Gambar 2.2	Biosintesis prostaglandin.....	11
Gambar 3.1	Bagan pengenceran asam asetat 0,4%; 0,6%; dan 0,8%	44
Gambar 4.1	Ekstrak etanol daun sisik naga.....	45
Gambar 4.2	Geliat mencit yang diinduksi oleh asam asetat 0,6%	45
Gambar 4.3	Diagram batang persentase protektif dan efektivitas asetosal dan ekstrak etanol daun sisik naga	37
Gambar 4.4	Grafik rata-rata geliat mencit pada uji efek analgesik sebenarnya selama satu jam.....	46



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Uji pendahuluan konsentrasi asam asetat	25
Tabel 3.2	Uji pendahuluan waktu pemberian ekstrak	26
Tabel 3.3	Kelompok perlakuan uji analgesik	27
Tabel 4.1	Hasil standardisasi ekstrak etanol daun sisik naga	31
Tabel 4.2	Rata-rata jumlah geliat mencit uji pendahuluan konsentrasi asam asetat.....	32
Tabel 4.3	Rata-rata jumlah geliat mencit uji pendahuluan waktu pemberian ekstrak 34,25 mg/20 g bb.....	34
Tabel 4.4	Rata-rata jumlah geliat mencit uji efek analgesik	34
Tabel 4.5	Persentase inhibisi geliat mencit.....	35
Tabel 4.6	Persentase efektivitas analgesik.....	36
Tabel 4.7	Susut pengeringan ekstrak	47
Tabel 4.8	Penapisan fitokimia	48
Tabel 4.9	Jumlah geliat mencit uji pendahuluan konsentrasi asam asetat	49
Tabel 4.10	Jumlah geliat mencit uji pendahuluan waktu pemberian ekstrak 34,5 mg/20 g bb	49
Tabel 4.11	Jumlah geliat mencit uji efek analgesik.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penetapan dosis dan cara pembuatan suspensi bahan uji	51
Lampiran 2. Penetapan kadar fenolat total.....	53
Lampiran 3. Uji normalitas terhadap jumlah geliat mencit.....	54
Lampiran 4. Uji homogenitas varians terhadap jumlah geliat mencit	55
Lampiran 5. Uji Kruskal-Wallis terhadap jumlah geliat mencit	56
Lampiran 6. Uji Mann-Whitney terhadap jumlah geliat mencit antarkelompok	57
Lampiran 7. Surat determinasi tumbuhan sisik naga	58
Lampiran 8. Sertifikat analisis asam asetat glasial.....	59
Lampiran 9. Sertifikat analisis asetosal.....	60
Lampiran 10. Sertifikat galur hewan uji	63
Lampiran 11. Skema kerja pelaksanaan uji analgesik	64



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri merupakan sebuah gejala dari berbagai macam penyakit dan hampir tiap orang pernah mengalaminya. Nyeri selalu bersifat subyektif dan tidak ada uji laboratorium yang dapat mendiagnosa nyeri. Hanya penderita yang dapat menggambarkan rasa nyeri yang dialaminya (O'Neil, 2008; Baumann, 2005).

Obat yang digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri disebut analgesik. Secara garis besar, terdapat dua jenis analgesik yaitu analgesik non-opiat, seperti obat anti-inflamasi non-steroid dan parasetamol; dan analgesik opiat, seperti kodein dan morfin. Obat AINS menunjukkan aktivitas antiinflamasi, antipiretik, dan analgesik. Aktivitas analgesik obat AINS disebabkan oleh kemampuannya dalam menginhibisi sintesis prostaglandin sehingga menurunkan rangsang nyeri yang diterima oleh sistem saraf pusat (Baumann, 2005). Efek analgesik obat-obat AINS jauh lebih lemah daripada efek analgesik opiat, namun AINS tidak menimbulkan ketagihan dan efek samping sentral merugikan seperti yang dapat ditimbulkan oleh opiat. Efek samping obat AINS yang paling sering terjadi yaitu gangguan pada saluran cerna (Wilmana & Gan, 2007) sehingga masyarakat beralih ke pengobatan tradisional menggunakan herbal yang relatif aman.

Kekayaan alam tumbuhan Indonesia terdiri atas 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia dan 940 jenis di antaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat (Nugroho, 2010). Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam meningkatkan kesehatan (promotif), memulihkan kesehatan (rehabilitatif), pencegahan penyakit (preventif), dan penyembuhan (kuratif). Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun-menurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Sari, 2006).

Daun sisik naga merupakan salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional antara lain sebagai antiinflamasi,

analgesik, antitusif dan hemostatik (Dalimartha, 1999). Orang-orang Malaya telah menggunakan tumbuhan ini sebagai obat luar, yaitu untuk mengobati luka dan penyakit kulit. Orang-orang Cina menggunakan daun sisik naga untuk mengobati sakit kepala dan orang-orang Filipina menggunakan seluruh bagian sisik naga untuk menghentikan perdarahan. Selain itu, di Indonesia jus daun sisik naga dilaporkan dapat digunakan sebagai obat batuk, susah buang air besar dan gonorrhoea (Hartini, 2002). Penelitian yang telah dilakukan berhubungan dengan penggunaan tumbuhan sisik naga sebagai obat masih sangat terbatas. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak air, ekstrak kloroform, dan ekstrak etanol daun sisik naga memiliki efek antibakteri yang diduga karena kandungan sterol, fenol, flavonoid, dan tanin yang terdapat di dalamnya (Somchit, et al., 2011).

Penggunaan tumbuhan sisik naga sebagai obat di Indonesia belum memasyarakat. Untuk itu, diperlukan penelitian secara farmakologis agar penggunaannya di masyarakat dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Daun sisik naga mengandung minyak atsiri, triterpen, flavonoid, tanin, gula, dan saponin (Hariana 2006; Dalimartha, 1999). Efek analgesik yang dimiliki daun sisik naga diduga karena kandungan flavonoid di dalamnya yang dapat menghambat sintesis prostaglandin (Narayana, Reddy, Chaluvadi, dan Krishna, 2001). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji efek analgesik ekstrak etanol daun sisik naga pada hewan uji mencit jantan menggunakan metode geliat.

1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup

Masalah yang diteliti dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol daun sisik naga memiliki efek analgesik ditinjau dari penurunan jumlah geliat mencit jantan yang diinduksi oleh asam asetat. Ruang lingkup penelitian ini adalah fitokimia dan farmakologi eksperimental.

1.3 Jenis Penelitian dan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Metode yang digunakan adalah metode Sigmund yang dimodifikasi berdasarkan uji

pendahuluan. Penelitian ini menggunakan mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) secara oral kemudian diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal untuk menimbulkan rasa nyeri yang ditunjukkan dengan adanya geliat. Ekstrak etanol daun sisik naga diperoleh melalui proses maserasi kemudian dilakukan standarisasi terhadap ekstrak. Efek analgesik ekstrak etanol daun sisik naga dievaluasi dengan menghitung jumlah geliat yang timbul sebagai respon rasa nyeri.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek analgesik dari ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) ditinjau dari penurunan jumlah geliat mencit jantan yang diinduksi oleh asam asetat.

1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) memiliki efek analgesik ditinjau dari penurunan jumlah geliat mencit jantan yang diinduksi oleh asam asetat.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Sisik Naga

2.1.1 Taksonomi

2.1.1.1 Klasifikasi

Dunia : Tumbuhan
Divisi : Pteridophyta
Kelas : Pteridopsida
Bangsa : Polypodiales
Suku : Polypodiaceae
Marga : *Pyrrrosia*
Jenis : *Pyrrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price (United States Department of Agriculture, 2005)

2.1.1.2 Nama daerah

Sumatra: picisan, sisik naga, sakat riburibu (Melayu). *Jawa*: paku duduwitan (Sunda), pakis duwitan (Jawa) (Depkes RI, 1989).

2.1.2 Deskripsi tumbuhan

Sisik naga merupakan tumbuh-tumbuhan epifit kecil. Tumbuhan ini memiliki akar rimpang yang tipis, bersisik, melekat kuat dan merayap jauh. Warna daun hijau sampai hijau kecokelatan. Daun bertangkai pendek, tebal berdaging, bentuk jorong sampai jorong memanjang, ujung daun tumpul atau membundar, pangkal daun runcing atau agak meruncing, pinggir daun rata, permukaan daun tua gundul atau berambut jarang pada permukaan bawah. Ukuran daun yang berbentuk bulat sampai jorong hampir sama dengan uang logam picisan sehingga tanaman ini disebut juga picisan (Depkes RI, 1989; Dalimartha, 1999).

Tumbuh-tumbuhan ini tersebar di seluruh Asia tropik, di Jawa di daerah dengan musim kering yang banyak hujan, dari daerah datar hingga ± 1000 m di

atas permukaan laut, tumbuh secara umum pada batang dan dahan pohon dan perdu yang daunnya tidak begitu lebat (Heyne, 1987). Gambar tumbuhan sisik naga terlampir pada Gambar 2.1.

2.1.3 Kandungan kimia

Sisik naga mengandung saponin, tanin, minyak atsiri, triterpen, flavonoid, dan gula (Hariana, 2006; Dalimartha, 1999).

2.1.4 Efek farmakologis dan kegunaan tanaman

Daun sisik naga memiliki efek antiinflamasi, analgesik, hemostatis, dan antitusif. Tumbuhan ini dapat digunakan untuk pengobatan sariawan, konstipasi, sakit perut, disentri, parotitis, TBC kulit dengan pembesaran kelenjar getah bening, batuk, TB paru disertai batuk darah, jaundice, gonore, perdarahan, rematik non artikular, leukora, dan kanker payudara. Dosis oral yang dianjurkan adalah rebusan 15-60 gram daun segar (Dalimartha, 1999; Heyne, 1987).

2.2 Simplisia, Ekstrak dan Ekstraksi

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Proses yang dilakukan untuk memperoleh ekstrak disebut ekstraksi. Terdapat dua cara ekstraksi menggunakan pelarut, yaitu cara dingin dan cara

panas (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.2.1 Ekstraksi cara dingin (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000; Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, dan Kaur, 2011)

2.2.1.1 Maserasi

Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan disebut maserasi. Secara teknologi, maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian keseimbangan konsentrasi. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Metode ini merupakan pilihan terbaik untuk ekstraksi simplisia yang mengandung senyawa-senyawa termolabil.

2.2.1.2 Perkolasi

Ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan disebut perkolasi. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2.2.2 Ekstraksi cara panas (Departemen Kesehatan RI dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000; Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, dan Kaur, 2011)

2.2.2.1 Refluks

Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik disebut refluks. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat diperoleh proses ekstraksi sempurna.

2.2.2.2 Soxhlet

Ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik disebut soxhlet. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa-senyawa yang termolabil karena pemanasan dapat menyebabkan degradasi senyawa tersebut.

2.2.2.3 Digesti

Maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi daripada temperatur ruangan, yaitu umumnya dilakukan pada temperatur 40-50°C disebut digesti.

2.2.2.4 Infus

Ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) disebut infus.

2.2.2.5 Dekok

Infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air disebut dekok. Metode ini digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang mengandung senyawa larut air dan stabil pada pemanasan.

Selain menggunakan pelarut, metode ekstraksi dapat dilakukan dengan destilasi uap yang merupakan ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air. Ekstraksi ini berdasarkan pada peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian. Pada destilasi uap, bahan simplisia tidak tercelup ke air yang mendidih namun dilewati uap air sehingga senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi.

2.3 Standardisasi Ekstrak

Dalam upaya pengembangan obat bahan alam, penelitian mengenai khasiat obat perlu diikuti dengan upaya peningkatan mutu dan keamanan produk. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap manfaat bahan obat tersebut. Oleh karena itu, standardisasi ekstrak penting dilakukan untuk memelihara keseragaman mutu, keamanan, dan khasiatnya (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2005).

Standardisasi ekstrak terdiri dari dua parameter yaitu parameter non spesifik dan parameter spesifik. Parameter non spesifik terdiri dari susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba, serta cemaran kapang, khamir, dan aflatoksin dalam ekstrak. Parameter spesifik terdiri dari identitas, organoleptik, kandungan kimia, dan kadar total golongan kandungan kimia, dan kadar kandungan kimia tertentu dalam ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.4 Nyeri

International Association for the Study of Pain (IASP) mendefinisikan nyeri sebagai suatu pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan berkaitan dengan potensi atau terjadinya kerusakan jaringan, atau keadaan yang menggambarkan kondisi tersebut (O'Neil, 2008). Dalam lingkup pengertian nyeri, terdapat istilah ambang dan toleransi nyeri. Ambang nyeri merupakan tingkatan dimana stimulus diterima dan dirasakan pertama kali sebagai nyeri. Ambang nyeri tiap orang umumnya hampir sama tetapi dapat berubah. Toleransi nyeri merupakan kemampuan individu dalam menahan stimulus nyeri tanpa menunjukkan gejala-gejala fisik. Toleransi nyeri sangat bervariasi antarindividu dan dipengaruhi oleh faktor psikologis dan sosiokultural (Corwin, 2008).

2.4.1 Patofisiologi nyeri

Sebagian besar jaringan dan organ manusia dilengkapi dengan nosiseptor, yaitu reseptor sensorik khusus yang terhubung ke serabut saraf aferen primer

(Woolfrey & Kapur, 2003). Tipe nyeri dapat diklasifikasikan menjadi nyeri nosiseptif dan nyeri neuropati. Nyeri nosiseptif merupakan nyeri sementara sebagai respon terhadap stimulus berbahaya di nosiseptor. Sistem nosiseptif ini menyampaikan informasi adanya bahaya di perifer ke sistem saraf pusat. Nyeri neuropati merupakan nyeri yang disebabkan oleh proses input sensori yang abnormal oleh saraf perifer atau SSP karena adanya kerusakan atau perubahan patologis. Nyeri nosiseptif menggambarkan patofisiologi nyeri akut sedangkan nyeri neuropati merupakan penyebab munculnya nyeri kronis (O'Neil, 2008; Baumann, 2005).

Mekanisme terjadinya nyeri nosiseptif dijelaskan melalui empat proses, yaitu transduksi, transmisi, persepsi, dan modulasi. Transduksi merupakan konversi stimulus bahaya termal, mekanikal, atau kimiawi menjadi aktivitas elektrik di ujung perifer serabut saraf sensori. Potensial aksi melewati ujung saraf perifer sepanjang akson menuju sistem saraf pusat. Transmisi merupakan transfer sinaptik dan modulasi input dari satu neuron ke neuron lainnya. Persepsi adalah rasa nyeri mulai dirasakan secara sadar oleh penderita. Modulasi merupakan proses inhibisi rangsang nosiseptif melalui pelepasan opioid endogen, serotonin, dan norepinefrin (Baumann, 2005; Burzynski, J. & Strassels, S., 2009).

2.4.2 Klasifikasi nyeri

2.4.2.1 Nyeri akut

Nyeri akut berlangsung kurang dari enam bulan. Nyeri ini bersifat protektif dan sangat berguna sebagai peringatan akan terjadinya suatu penyakit dan kondisi yang berbahaya. Di bawah kondisi normal, nyeri akut berperan dalam proses penyembuhan dengan menurunkan stimulus nyeri. Namun, apabila tidak diobati, nyeri akut dapat menyebabkan stres psikologi dan menurunkan sistem imun tubuh sehingga akan memperlambat pemulihan. Gejala yang muncul dapat berupa hipertensi, takikardi, takipnu, diaforesis, midriasis, dan pucat (Baumann, 2005; Corwin, 2008; O'Neil, 2008).

2.4.2.2 Nyeri kronis

Nyeri akut yang berlangsung selama lebih dari enam bulan menyebabkan nyeri kronis. Seringkali, respon fisiologis yang umumnya muncul pada nyeri akut tidak muncul pada nyeri kronis, namun beberapa gejala dapat mendominasi. Pada nyeri kronis terdapat empat pengaruh utama, yaitu 1) pengaruh terhadap fungsi fisik, 2) perubahan psikologis, 3) konsekuensi sosial, dan 4) konsekuensi masyarakat. Efek nyeri kronik terhadap fungsi fisik meliputi lemahnya aktivitas sehari-hari dan gangguan tidur. Perubahan psikologis yang terjadi antara lain depresi, gelisah, insomnia, marah, dan kehilangan harga diri. Perubahan fisik dan psikologis yang dialami dapat menyebabkan perubahan hubungan dan keakraban dengan teman-teman atau keluarga karena penderita menarik diri. Dalam tingkat masyarakat, nyeri kronik menyebabkan naiknya harga perawatan kesehatan, disabilitas, dan kehilangan produktivitas (Baumann, 2005; O'Neil, 2008).

2.4.3 Penilaian nyeri (O'Neil 2008)

Dalam dunia kedokteran, tidak terdapat tes laboratorium yang dapat mendiagnosa nyeri. Pasien adalah satu-satunya orang yang dapat menggambarkan intensitas dan kualitas nyeri yang dirasakannya. Oleh karena itu perlu dilakukan pendekatan yang berorientasi kepada pasien untuk menilai nyeri yang dirasakan oleh pasien. Riwayat medis, keluarga, dan psikologis serta latihan fisik penting untuk mengetahui sumber nyeri. Selain itu, perlu dilakukan penilaian secara seksama mengenai karakteristik nyeri, seperti onset, durasi, lokasi, kualitas, tingkatan, dan intensitas nyeri, usaha untuk meringankan gejala nyeri, efikasi dan efek samping yang muncul pada pengobatan yang pernah dijalani maupun pengobatan terakhir.

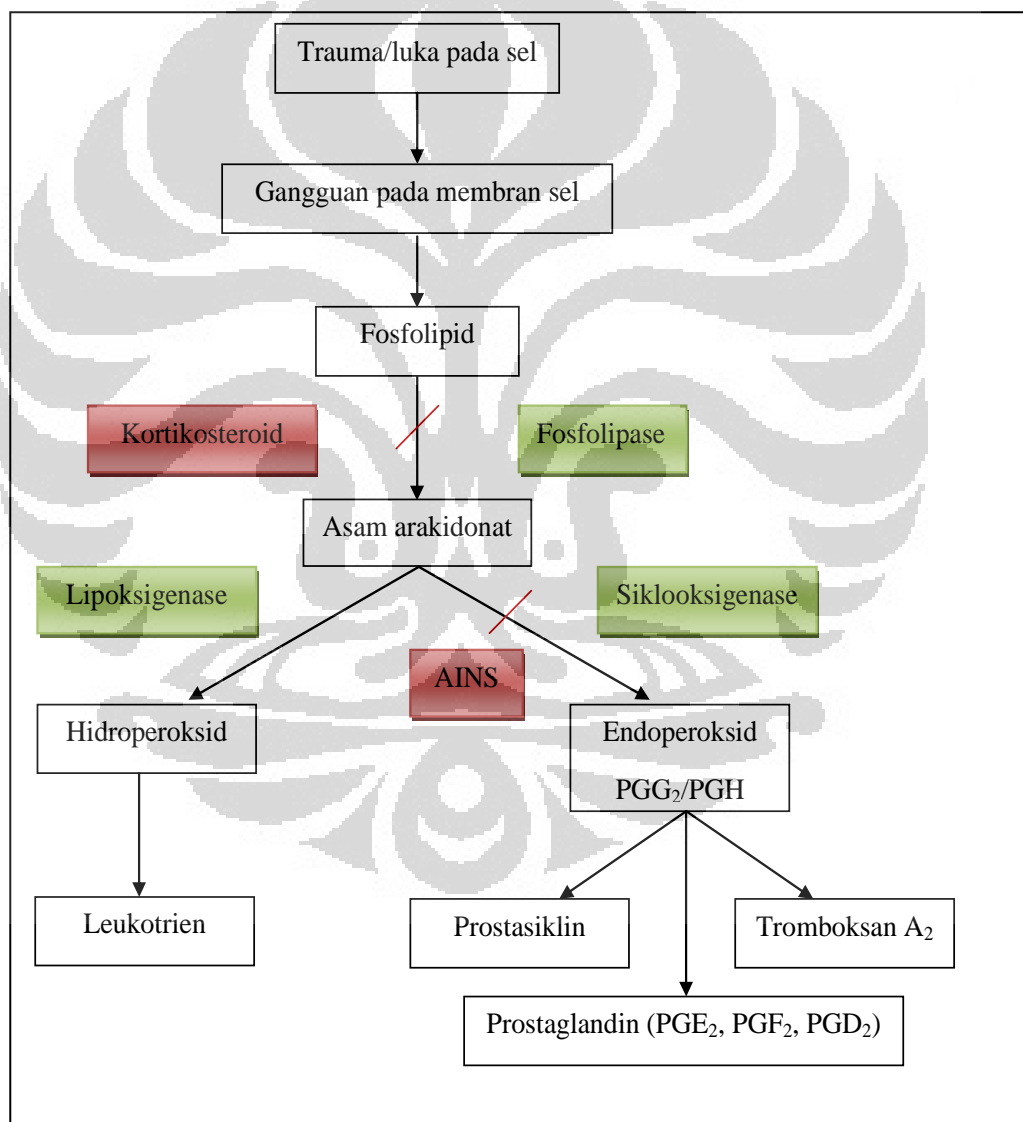
2.5 Pengobatan Nyeri

2.5.1 Analgesik nonopioid

Asetaminofen, asam asetil salisilat (aspirin), dan obat-obat antiinflamasi non-steroid (AINS) merupakan obat-obat nonopioid yang digunakan untuk pengobatan nyeri akut ringan sampai sedang (Baumann, 2005). Asetaminofen (parasetamol), agen analgesik dan antipiretik, merupakan terapi awal untuk

pengobatan nyeri ringan sampai sedang. Sebagai analgesik, asetaminofen menghambat sintesis prostaglandin di SSP dan memblok rangsang nyeri di perifer. Penggunaan asetaminofen secara berlebihan dapat menyebabkan hepatotoksik (O'Neil, 2008).

Aspirin dan AINS lainnya memiliki efek analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi. Aspirin efektif untuk pengobatan nyeri ringan sampai sedang, namun risiko iritasi dan perdarahan saluran cerna menyebabkan penggunaannya dibatasi (O'Neil, 2008). Gambar 2.2 di bawah ini menunjukkan mekanisme pembentukan prostaglandin yang menyebabkan timbulnya rasa nyeri.



Keterangan: — = menghambat
 — = memperantarai

Gambar 2.2 Biosintesis prostaglandin [Sumber: Wilmana & Gan, 2007]

Obat-obat AINS sangat efektif digunakan pada pengobatan nyeri inflamasi dan nyeri yang berhubungan dengan metastasis tulang. Obat ini bekerja sebagai analgesik dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga mencegah sintesis prostaglandin dan mengakibatkan penurunan sensitivitas nosiseptor serta peningkatan ambang nyeri.

Berdasarkan inhibisinya terhadap siklooksigenase (COX), AINS diklasifikasikan menjadi AINS non-selektif (menghambat COX-1 dan COX-2) dan AINS selektif (hanya menghambat COX-2). Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. Penghambatan terhadap COX-1 inilah yang menyebabkan timbulnya efek iritasi saluran cerna. Berbagai stimulus inflamatoar, termasuk sitokin, endotoksin, dan faktor pertumbuhan menginduksi COX-2 sehingga terjadi sintesis prostaglandin dan timbul inflamasi. Tromboksan A_2 yang disintesis trombosit oleh COX-1 menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi, dan proliferasi otot polos. Sebaliknya, prostasiklin (PGI_2) yang disintesis COX-2 di endotel makrovaskular melawan efek tersebut sehingga menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasokonstriksi, dan proliferasi otot polos (Wilmana & Gan, 2007).

2.5.2 Analgesik opioid

Kelompok obat analgesik yang memiliki sifat seperti opium disebut analgesik opioid. Opium yang berasal dari getah *Papaver somniferum* mengandung sekitar 20 jenis alkaloid, di antaranya morfin, kodein, tebain, dan papaverin (Dewoto, 2007).

Analgesik opioid merupakan terapi pilihan untuk nyeri akut berat dan nyeri sedang sampai berat yang berkaitan dengan kanker. Efek analgesik opioid disebabkan oleh stimulasi reseptor opioid (μ , κ , dan δ) di SSP (O'Neil, 2008). Agonis opioid melalui reseptor μ , κ , dan δ pada ujung prasinaps aferen primer nosiseptif mengurangi pelepasan neurotransmitter dan menghambat saraf yang mentransmisi nyeri di kornu dorsalis medula spinalis. Dengan demikian, opioid memiliki efek analgesik yang kuat melalui pengaruh terhadap medula spinalis. Selain itu, μ agonis juga menimbulkan efek inhibisi pascasinaps melalui reseptor μ di otak (Wilmana, 2007). Obat-obat opioid yang dapat digunakan untuk nyeri

sedang adalah kodein, hidrokodon, tramadol, dan agonis parsial, sedangkan untuk nyeri berat dapat digunakan morfin dan hidromorfon (O'Neil, 2008).

2.6 Asetosal

Asetosal (asam asetil salisilat atau aspirin) merupakan prototip obat AINS yang memiliki sifat analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi. Obat ini sangat luas digunakan dan digolongkan sebagai obat bebas (Wilmana & Gan, 2007). Obat ini terdekomposisi secara bertahap ketika mengalami kontak dengan udara lembab dan terdekomposisi dengan cepat dalam basa menjadi asam asetat dan asam salisilat. Suspensi asetosal bersifat stabil selama beberapa hari. Sebuah penelitian melaporkan bahwa 3,2% suspensi asetosal terdegradasi menjadi asam salisilat setelah tujuh hari pada temperatur ruangan (Reynold, 1982).

2.6.1 Farmakokinetik asetosal

Pada pemberian oral, asetosal dihidrolisis menjadi asam asetat dan salisilat terutama di hati sehingga hanya kira-kira 30 menit terdapat dalam plasma. Selanjutnya, sebagian salisilat diabsorpsi dengan cepat dalam bentuk utuh di lambung, tetapi sebagian besar di usus halus bagian atas. Suasana asam di dalam lambung menyebabkan sebagian besar dari salisilat terdapat dalam bentuk nonionisasi sehingga memudahkan absorpsi. Kadar puncak salisilat dalam plasma dicapai dalam waktu 1-2 jam. Asetosal memiliki onset 30 menit, durasi analgesik 3-6 jam, dan waktu paruh 15 menit. Obat ini mudah menembus sawar darah otak dan sawar uri (Wilmana & Gan, 2007; Payan & Katzung, 1998; Baumann, 2005).

2.6.2 Farmakodinamik asetosal

Asetosal sangat efektif dalam meredakan nyeri ringan sampai sedang. Asetosal bekerja terutama dengan cara menghambat enzim siklooksigenase yang mengkatalisis perubahan asam arakidonat menjadi senyawa endoperoksida sehingga mencegah sintesis prostaglandin. Sebagai analgesik, asetosal juga menyebabkan penurunan sensitivitas nosiseptor dan peningkatan ambang nyeri (O'Neil, 2008). Dosis umum asetosal adalah 325-650 mg setiap empat jam. Dosis maksimum adalah 4000 mg per hari (Baumann, 2005).

2.7 Metode Uji Efek Analgesik

Metode-metode pengujian efek analgesik dilakukan berdasarkan kemampuan bahan uji dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi pada hewan percobaan. Induksi dapat dilakukan secara mekanik, termik, elektrik, atau kimia. Metode pengujian dengan induksi nyeri secara mekanik atau termik lebih sesuai untuk menguji obat-obat analgesik kuat (analgesik narkotik). Pada umumnya, daya kerja analgesik dinilai pada hewan coba dengan mengukur besarnya peningkatan stimulus nyeri yang harus diberikan sampai ada respon nyeri, jangka waktu ketahanan hewan terhadap stimulus nyeri, atau peranan frekuensi respon nyeri (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993; Parmar & Prakash, 2006).

2.7.1 Metode induksi secara kimia (metode Sigmund)

2.7.1.1 Metode geliat

Pada metode ini, obat uji dinilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi secara kimia pada hewan percobaan, yaitu mencit. Rasa nyeri yang timbul ditunjukkan dalam bentuk respon gerakan geliatan. Tiap episode geliat dikarakterisasi dengan adanya perputaran internal pada kaki, menjilat perut, peregangan badan, punggung melengkung, berputar ke satu sisi kemudian diam, atau mengelilingi kandang. Frekuensi gerakan ini dalam waktu tertentu menyatakan derajat nyeri yang dirasakannya. Bahan kimia yang sering digunakan sebagai penginduksi adalah asam asetat dan fenil p-benzokuinon tetapi penggunaan fenilbenzokuinon memiliki masalah dalam hal kelarutan, fotosensitivitas, dan autooksidasi (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993; Parmar dan Prakash, 2006).

2.7.1.2 Metode Randall-Selitto

Prinsip pada metode ini adalah bahwa inflamasi dapat meningkatkan sensitivitas nyeri yang dapat dikurangi oleh obat analgesik. Bahan kimia yang digunakan untuk menghasilkan inflamasi yaitu *Brewer's yeast* yang diinjeksikan secara subkutan pada permukaan kaki/tangan tikus. Inflamasi yang terjadi diukur dengan suatu alat yang menggambarkan adanya peningkatan ambang nyeri (Parmar dan Prakash, 2006).

2.7.1.3 Metode formalin

Metode ini digunakan untuk mengetahui efek analgesik suatu obat terhadap nyeri kronis. Formalin digunakan sebagai penginduksi yang diinjeksikan secara subkutan pada permukaan tangan/kaki tikus yang akan menimbulkan respon tikus berupa menjinjit atau menjilat kaki. Respon ini dinilai dengan skala 0-3 (Parmar dan Prakash, 2006).

2.7.2 Metode induksi secara panas

Hewan percobaan yang ditempatkan di atas plat panas dengan suhu tetap sebagai stimulus nyeri akan memberikan respon dalam bentuk mengangkat atau menjilat telapak kaki depan atau meloncat. Selang waktu antara pemberian stimulus nyeri dan terjadinya respon, yang disebut waktu reaksi, dapat diperpanjang oleh pengaruh obat-obat analgetika. Perpanjangan waktu reaksi ini selanjutnya dapat dijadikan sebagai ukuran dalam mengevaluasi aktivitas analgesik (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993).

2.7.3 Metode analgesik untuk nyeri sendi

Analgesik tertentu dapat mengurangi atau meniadakan rasa nyeri artritis pada hewan percobaan yang ditimbulkan oleh suntikan intraartikular larutan AgNO_3 1%. Setelah diinduksi, terhadap tiap hewan coba dilakukan gerakan fleksi pada sendi sebanyak 3 kali dengan interval 10 detik. Sediaan uji dinyatakan bersifat analgesik untuk nyeri sendi apabila hewan tidak mencicit kesakitan oleh gerakan fleksi yang dipaksakan (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia pada bulan Februari-Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Bahan Uji

Pada penelitian ini, digunakan bahan uji daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) yang diambil dari lingkungan sekitar kampus FMIPA UI dan dideterminasi oleh pusat dan pengembangan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong. Hasil determinasi daun sisik naga terlampir pada Lampiran 7.

3.2.2 Bahan Kimia

Pada penelitian ini, digunakan etanol 96% (Brataco), asam asetat glasial (Mallinckrodt), asetosal (PT Bayer Cibubur), karboksimetil-selulosa, NaCl fisiologis (Otsuka), aquades, asam klorida (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Bouchardat, larutan besi (III) klorida P, serbuk magnesium (Merck), serbuk zink (Merck), larutan gelatin 10%, pereaksi Mollisch, eter (Merck), asam sulfat (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), asam galat (Merck), natrium karbonat (Merck), dan pereaksi Folin-Ciocalteu.

3.2.3 Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan hewan uji berupa 45 ekor mencit jantan galur *ddY* (Deutschland, Denken, Yoken) berumur 5-7 minggu dengan bobot 20-30 gram. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium II, Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). Sertifikat galur hewan uji terlampir pada Lampiran 10.

3.3 Alat

Pada penelitian ini digunakan *rotary vacuum evaporator* (Buchi), *shaker* (KS 501 D), penangas air, alkoholmeter, penyaring vakum, kertas saring, lemari pendingin, oven, desikator, spektrofotometer UV-Vis T 80+ (PG Instrument), mikropipet (Socorex), kandang mencit, stopwatch, sonde oral, jarum suntik 26G ½ (Terumo), spuit 1,0 mL (Terumo), lumpang dan alu, penangas air, timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan (Mettler, Teledo), dan alat-alat gelas (Pyrex).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Rancangan penelitian

Pada penelitian ini, hewan uji dibagi menjadi lima kelompok yang dilakukan dengan metode Rancangan Acak Sederhana. Lima kelompok tersebut adalah kelompok kontrol negatif (CMC 0,5%), kontrol positif (asetosal), bahan uji dosis I, bahan uji dosis II, dan bahan uji dosis III. Jumlah minimal mencit yang dibutuhkan tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer sebagai berikut (Jusman S. & Halim A., 2009):

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

dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, $t = 5$, maka $n \geq 5$ sehingga jumlah minimum mencit yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 5 ekor. Total jumlah mencit yang digunakan pada penelitian ini adalah 25 ekor untuk 5 kelompok perlakuan.

3.4.2 Persiapan hewan uji

Sebelum digunakan, mencit diaklimatisasi selama satu minggu di dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Indonesia agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Mencit diberi makan dan minum yang seragam dan dilakukan pengamatan rutin terhadap keadaan umum dan penimbangan berat badan mencit. Mencit yang sehat memiliki ciri-ciri bulu bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar, dan berat badan bertambah setiap hari.

3.4.3 Ekstraksi

Bahan uji ekstrak etanol daun sisik naga dibuat dengan proses ekstraksi cara dingin, yaitu maserasi berulang. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% yang telah didestilasi kemudian diencerkan dengan akuades hingga diperoleh etanol 80% dari pengukuran menggunakan alkoholmeter. Akan tetapi, maserasi pertama tidak menggunakan etanol 80% melainkan etanol 96% dengan asumsi bahwa etanol 96% akan menjadi etanol 80% melalui penambahan air yang berasal dari kandungan dalam daun sisik naga, yaitu sebesar $\pm 90\%$. Maserasi kedua hingga ketujuh dilanjutkan menggunakan pelarut etanol 80%.

Prosedur ekstraksi dimulai dengan memisahkan daun sisik naga dari akar-akarnya kemudian dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih dan diangin-anginkan selama sehari untuk menghilangkan tetesan air pada permukaan daun. Daun tersebut ditimbang ± 1500 gram dan diblender dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L. Serbuk basah yang telah diperoleh dipindahkan ke dalam botol coklat kemudian dimaserasi dengan cara dikocok menggunakan *shaker* selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam. Selanjutnya, serbuk basah disaring menggunakan penyaring vakum dan kertas saring rangkap dua sehingga diperoleh filtrat jernih dan ampas. Filtrat jernih diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Pelarut etanol ditampung kembali dan filtrat dipindahkan ke dalam cawan penguap kemudian diuapkan di atas penangas air dengan suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ampas sisa penyaringan dimaserasi kembali dengan etanol 80% secara berulang hingga total maserasi yang dilakukan sebanyak tujuh kali.

3.4.4 Standardisasi ekstrak

Setelah diperoleh ekstrak kental, dilakukan standardisasi terhadap ekstrak. Parameter standardisasi ekstrak terdiri dari dua jenis, yaitu parameter non spesifik dan parameter spesifik.

3.4.4.1 Parameter non spesifik

Parameter non spesifik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah susut pengeringan. Parameter ini bertujuan untuk memberikan batasan maksimal

(rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Uji susut pengeringan dilakukan dengan cara ekstrak ditimbang seksama sebanyak satu gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan di dalam botol timbang menggunakan batang pengaduk hingga merupakan lapisan setebal 5-10 mm. Botol timbang dimasukkan ke dalam oven dalam keadaan tidak tertutup lalu dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan mendingin di dalam desikator dalam keadaan tertutup hingga mencapai suhu ruangan. Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan, ditambahkan satu gram silika pengering yang telah ditimbang seksama setelah dikeringkan dan disimpan dalam desikator pada suhu ruangan. Silika tersebut dicampurkan secara merata dengan ekstrak pada saat panas kemudian dikeringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

3.4.4.2 Parameter spesifik

Parameter spesifik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah identitas ekstrak, organoleptis ekstrak, kandungan kimia ekstrak, dan penetapan kadar fenolat total.

a. Identitas ekstrak

Identitas ekstrak merupakan parameter spesifik yang bertujuan untuk memberikan identitas obyektif dari nama ekstrak dan identitas spesifik dari senyawa identitas. Parameter ini mencakup deskripsi nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan, nama Indonesia tumbuhan serta senyawa identitas bila telah diketahui (Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

b. Organoleptis ekstrak

Prinsip parameter ini adalah penggunaan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa ekstrak. Parameter ini bertujuan

untuk pengenalan awal seobyektif mungkin terhadap ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

c. Kandungan kimia ekstrak

Prinsip parameter ini adalah ekstrak ditimbang, diekstraksi dengan pelarut dan cara tertentu, kemudian dilakukan analisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang jelas. Parameter ini bertujuan memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (KLT, KCKT, dan KG) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000). Selain itu, kandungan kimia ekstrak dapat diketahui melalui penapisan fitokimia secara kualitatif melalui reaksi warna.

1) Identifikasi alkaloid

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg dilarutkan 10 mL dalam asam klorida 2 N dan disaring. Filtrat digunakan untuk identifikasi alkaloid dengan larutan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing sebanyak ± 3 mL. Tiap bagian ditambah dengan pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, dan pereaksi Bouchardat masing-masing 3-4 tetes. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan kuning ketika ekstrak direaksikan dengan pereaksi Mayer, endapan merah ketika ekstrak direaksikan dengan pereaksi Dragendorff, dan endapan cokelat merah ketika ekstrak direaksikan dengan pereaksi Bouchardat (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur & Kaur, 2011). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Cinchona Cortex* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

2) Identifikasi fenol

Filtrat ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 2 mL ditambahkan 2-3 tetes besi (III) klorida. Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur & Kaur, 2011). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Theae Folium* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

3) Identifikasi flavonoid

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 5 mL etanol 96% kemudian disaring. Sebanyak 2 mL filtrat ditambah 50 mg serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah keunguan. Kemudian, sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 50 mg serbuk zink dan 2 mL HCl 2 N kemudian didiamkan 1 menit. Setelah itu, filtrat ditambahkan 10 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah jingga (Mikail, 2010). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Orthosiphonis Folium* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

4) Identifikasi tanin

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 10 mL akuades, dipanaskan, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 2 mL ditambah dengan 1-2 tetes larutan gelatin 10% yang dibuat segar. Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya gumpalan berwarna putih (Kumar A., et al., 2009). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Psidii Folium* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

5) Identifikasi saponin

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg ditambahkan 5 mL akuades panas di dalam tabung reaksi, didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu larutan ditambah dengan 1 tetes HCl 2N. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setelah pengocokan yang yang tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N (Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H., 2011). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Orthosiphonis Folium* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

6) Identifikasi glikosida

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg ditambah dengan 10 mL HCl 2N lalu dipanaskan hingga tersisa setengah bagian kemudian disaring. Filtrat

yang diperoleh diidentifikasi kandungan glikosidanya menggunakan tes Mollisch. Sebanyak 2 mL filtrat dalam tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes pereaksi Mollisch kemudian dan dialiri 1 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Adanya glikosida ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu (Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H., 2011). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Centella Herba* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

7) Identifikasi steroid/triterpen

Ekstrak etanol daun sisik naga sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 5 mL eter. Filtrat dipindahkan ke dalam cawan penguap dan eter dibiarkan menguap. Sisa penguapan yang diperoleh ditambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat. Adanya steroid/triterpen ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehijauan (Kumar A., et al., 2009). Sebagai pembanding, dilakukan prosedur yang sama terhadap *Caryophylli Flos* dengan jumlah bahan dan pereaksi yang sama.

d. Penetapan kadar fenolat total (Andayani, Maimunah & Lisawati)

Selanjutnya, terhadap ekstrak etanol daun sisik naga dilakukan penetapan kadar fenolat total. Pertama-tama dibuat kurva kalibrasi yang diperoleh dari hasil pengukuran serapan larutan asam galat untuk memperoleh persamaan regresi linear. Setelah itu dilakukan penetapan kadar fenolat ekstrak.

Pembuatan larutan asam galat dilakukan dengan cara menimbang 125 mg asam galat lalu ditambahkan etanol 70% hingga 25 mL sehingga diperoleh larutan induk berkonsentrasi 5,000 mg/mL. Larutan induk dipipet 10 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 50 mL sehingga diperoleh larutan induk kedua berkonsentrasi 1,000 mg/mL. Larutan induk kedua dipipet 3, 4, 5 dan 7 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 10 mL. Larutan yang dihasilkan memiliki konsentrasi 300, 400, 500, dan 700 mg/L asam galat. Larutan berkonsentrasi 500 mg/L digunakan untuk membuat spektrum serapan lalu panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari spektrum serapan digunakan

sebagai panjang gelombang maksimum pada pembuatan kurva kalibrasi dan penetapan kadar fenolat total ekstrak.

Masing-masing larutan dipipet 0,2 mL lalu ditambahkan 15,8 mL akuades kemudian ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu, larutan dikocok hingga homogen. Larutan didiamkan selama 8 menit lalu ditambahkan 3 mL larutan Na_2CO_3 20% kemudian larutan dikocok hingga homogen. Larutan kembali didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

Penetapan kadar fenolat ekstrak dilakukan dengan cara menimbang 0,3 gram ekstrak kemudian dilarutkan sampai 10 ml dengan etanol:air (1:1). Dipipet 0,2 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 15,8 ml aquabidest dan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu kemudian dikocok. Larutan didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 ml Na_2CO_3 20 % ke dalam campuran. Larutan didiamkan kembali selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm yang akan memberikan kompleks biru. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali. Kadar fenol diperoleh sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel segar.

3.4.5 Penetapan dosis bahan uji

Dosis daun sisik naga yang digunakan oleh masyarakat secara empiris adalah 15-60 gram daun segar. Pada penelitian ini dosis yang akan diambil adalah 30 gram daun segar. Faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 (Laurence dan Bacharach, 1964) dan faktor koreksi farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (Williams, 1979). Maka dosis acuan untuk mencit adalah:

$$\text{Dosis} = 30 \times 0,0026 \times 10 = 0,78 \text{ g}$$

Dosis yang akan dibuat adalah $\frac{1}{2}x$, $1x$, dan $2x$ dosis uji, yaitu 0,39 gram, 0,78 gram, dan 1,56 gram berat basah. Mencit dengan berat badan 20 gram diberikan suspensi bahan uji dalam 0,5 mL CMC 0,5%. Dosis ekstrak yang akan diberikan dihitung setelah didapatkan rendemen. Perhitungan dosis bahan uji terlampir pada Lampiran 1.

3.4.6 Penetapan dosis suspensi asetosal

Dosis lazim asetosal untuk manusia dewasa 325-650 mg (Baumann, 2005). Pada penelitian ini digunakan dosis 500 mg (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979) dengan faktor konversi dari manusia ke mencit adalah 0,0026 (Laurence dan Bacharach, 1964) dan faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 (Williams, 1979) sehingga dosis asetosal yang diberikan adalah 13 mg/20 g bb. Perhitungan dosis asetosal terlampir pada Lampiran 1.

3.4.7 Pembuatan larutan CMC 0,5%.

Sejumlah CMC ditimbang lalu dikembangkan dengan aquades hangat (60°C) sebanyak 20 kalinya. Setelah mengembang, CMC digerus dengan ditambahkan aquadest hingga volume tertentu.

3.4.8 Pembuatan asam asetat

Asam asetat glasial mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% b/b asam asetat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Asam asetat 0,4%, 0,6%, dan 0,8% dibuat dengan metode pengenceran menggunakan NaCl fisiologis. Bagan pengenceran asam asetat terlampir pada Gambar 3.1.

3.4.9 Pelaksanaan uji

Pada penelitian ini akan digunakan metode Sigmund, yaitu dengan induksi secara kimia menggunakan asam asetat. Sebelum uji sebenarnya, dilakukan uji pendahuluan dan uji kepekaan mencit terhadap induksi asam asetat untuk menyeleksi hewan uji yang akan diikutsertakan dalam percobaan.

3.4.9.1 Uji pendahuluan

Uji pendahuluan pertama dilakukan untuk menentukan konsentrasi asam asetat yang menghasilkan geliat terbanyak dan mudah diamati. Uji dilakukan pada satu kelompok mencit yang berjumlah 9 ekor mencit jantan. Kemudian mencit dibagi menjadi tiga kelompok sehingga masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit. Berdasarkan penelitian terdahulu, asam asetat 0,6% sebanyak 0,2 mL/20 g bb

sudah menimbulkan rasa nyeri yang ditunjukkan dengan adanya geliat. Oleh karena itu, dalam uji pendahuluan ini, tiga kelompok mencit dipuasakan ± 18 jam kemudian diberi injeksi asam asetat sebanyak 0,2 mL/20 g bb mencit dengan konsentrasi 0,4%; 0,6%; dan 0,8% secara intraperitoneal. Respon geliat mencit dihitung sepuluh menit setelah induksi hingga satu jam dengan interval lima menit. Pengelompokan dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Uji pendahuluan konsentrasi asam asetat

Kelompok	Jumlah mencit	Perlakuan
I	3	Diinduksi asam asetat 0,4%
II	3	Diinduksi asam asetat 0,6%
III	3	Diinduksi asam asetat 0,8%

Keterangan: tiap kelompok uji diberi injeksi asam asetat sebanyak 0,2 mL/20 g bb secara intraperitoneal.

Setelah didapatkan konsentrasi asam asetat yang sesuai, dilakukan uji kepekaan seluruh mencit terhadap induksi 0,2 mL/20 g bb asam asetat secara intraperitoneal. Berdasarkan literatur, mencit yang peka adalah mencit yang memberikan respon nyeri berupa geliatan kedua pasang kaki ke depan dan ke belakang serta perut menekan lantai yang muncul dalam waktu maksimal lima menit setelah diinduksi dengan fenil p-benzokuinon (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993). Dalam penelitian ini, sebagai penginduksi nyeri tidak digunakan fenil p-benzokuinon melainkan asam asetat. Asam asetat memiliki onset sekitar lima menit (Wahyuni & Sujono, 2004). Syarat uji kepekaan mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit memberikan respon nyeri dalam waktu 5-10 setelah diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal.

Uji kedua dilakukan untuk menentukan dosis suspensi asetosal yang tidak menimbulkan geliat. Uji ini dilakukan untuk mengurangi bias yang mungkin terjadi apabila suspensi asetosal dengan dosis yang telah ditentukan dapat menimbulkan geliat. Berdasarkan perhitungan, dosis suspensi asetosal yang diberikan adalah 13 mg/20 g bb mencit. Dua ekor mencit dipuasakan selama ± 18 jam kemudian suspensi asetosal dosis 13 mg/20 g bb diberikan dan diamati efek geliatnya selama dua jam. Apabila tidak timbul geliat pada mencit, maka dosis

suspensi asetosal yang digunakan adalah 13 mg/20 g BB mencit. Apabila timbul geliat pada mencit, dosis diturunkan sampai ditemukan dosis yang tidak menimbulkan geliat pada mencit. Dosis minimum asetosal sebagai analgesik pada manusia adalah 325 mg sehingga batas minimum dosis asetosal yang diberikan kepada mencit adalah $325 \text{ mg} \times 0,0026 \times 10 = 8,45 \text{ mg/20 bb}$.

Uji ketiga dilakukan untuk menentukan waktu pemberian ekstrak yang setara dengan dosis II (0,78 g daun segar/20 g bb). Uji dilakukan pada 9 ekor mencit jantan. Kemudian mencit dibagi menjadi tiga kelompok sehingga masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit. Tiga kelompok ini diberikan bahan uji dengan tiga variasi waktu pemberian, yaitu 60 menit, 30 menit dan sesaat sebelum diinduksi. Setelah tiba waktunya, mencit diinduksi dengan asam asetat sebanyak 0,2 mL/20 g bb secara intraperitoneal dan dihitung jumlah geliat mencit pada menit ke-10 sampai menit ke-60 dengan interval lima menit. Waktu yang dipilih untuk uji sebenarnya adalah waktu yang mana mencit memberikan respon geliat paling sedikit. Pengelompokan dan perlakuan uji pendahuluan ketiga dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Uji pendahuluan waktu pemberian ekstrak

Kelompok	Jumlah Mencit	Perlakuan	
		Diberi ekstrak dosis II	Waktu pemberian
I	3	✓	60 menit sebelum diinduksi asam asetat
II	3	✓	30 menit sebelum diinduksi asam asetat
III	3	✓	Sesaat sebelum diinduksi asam asetat

Keterangan: dosis II = ekstrak yang setara 0,78 g daun segar/20 g bb.

3.4.9.2 Uji efek analgesik

Pada uji ini, mencit jantan dikelompokkan secara acak masing-masing menjadi lima kelompok dan masing-masing kelompok berjumlah lima ekor

mencit. Tiap kelompok diberi perlakuan kemudian diinduksi dengan asam asetat 0,2 mL/20 g bb. Kelompok kontrol negatif diberi CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberi suspensi asetosal sebagai obat standar, kelompok bahan uji I, II, dan III diberi suspensi ekstrak dengan dosis yang divariasikan. Pengelompokan dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Kelompok perlakuan uji analgesik

Kelompok	Jumlah Mencit	Perlakuan	Induksi asam asetat 0,2 mL/20 g bb
I	5	Kontrol negatif	✓
II	5	Kontrol positif	✓
III	5	Bahan uji dosis I	✓
IV	5	Bahan uji dosis II	✓
V	5	Bahan uji dosis III	✓

Keterangan: kontrol negatif = CMC 0,5% sebanyak 0,5 mL/20 g bb; kontrol positif = suspensi asetosal 13 mg/20 g BB mencit dalam 0,5 mL suspensi CMC 0,5% secara oral; bahan uji dosis I = suspensi ekstrak setara 0,39 g daun segar/20 g bb dalam 0,5 mL suspensi CMC 0,5%; bahan uji dosis II = suspensi ekstrak setara 0,78 g daun segar/20 g bb dalam 0,5 mL suspensi CMC 0,5%; bahan uji dosis III = suspensi ekstrak setara 1,56 g daun segar/20 g bb dalam 0,5 mL suspensi CMC 0,5%. Semua bahan uji diberikan secara oral setelah mencit dipuaskan selama ± 18 jam.

3.5 Metode

3.5.1 Prinsip metode

Penelitian ini menggunakan metode Sigmund yang dimodifikasi berdasarkan uji pendahuluan. Induksi dilakukan secara intraperitoneal dengan cara menyuntikkan asam asetat 0,2 mL/20 g BB mencit. Konsentrasi asam asetat dan selang waktu antara pemberian bahan uji dengan induksi asam asetat disesuaikan dengan hasil dari uji pendahuluan. Nyeri ditandai dengan geliat, yaitu abdomen menyentuh dasar tempat berpijak dan kedua pasang kaki ditarik ke belakang. Setelah 10 menit, jumlah geliat yang terjadi dihitung dengan interval waktu 5 menit selama satu jam.

3.5.2 Prosedur uji analgesik (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993)

Uji analgesik ekstrak daun sisik naga terhadap hewan uji akan dilakukan dengan prosedur berikut ini.

- a. Mencit dipuasakan \pm 18 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan.
- b. Pada hari pengujian, mencit ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok.
- c. Pada kelompok kontrol negatif, mencit diberikan larutan CMC 0,5% sebanyak 0,5 mL/20 g bb dan diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal.
- d. Pada kelompok kontrol positif, setiap mencit diberi asetosal dengan dosis 13 mg/20 g bb dalam 0,5 mL larutan CMC 0,5% dan diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal.
- e. Pada kelompok uji dosis I, II, dan III, mencit diberi bahan uji sesuai dengan dosis yang ditetapkan dan diinduksi dengan asam asetat 0,2 mL/20 g bb secara intraperitoneal.
- f. Jumlah geliat mencit dihitung 10 menit setelah induksi sampai satu jam dengan interval waktu 5 menit.
- g. Jumlah geliat tiap kelompok dirata-ratakan kemudian dilakukan perbandingan data antara kelompok kontrol dengan kelompok uji. Adanya aktivitas analgesik ditunjukkan dengan jumlah geliat lebih sedikit (aktivitas \geq 50%) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.
- h. Semua data yang diperoleh dianalisis secara statistik.

Skema kerja uji efek analgesik dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Shapiro-Wilk untuk melihat distribusi data dan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui hubungan antara kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan signifikan antarkelompok, dilakukan analisis dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Jika data tidak normal dan homogen maka dilakukan uji non-parametrik

yaitu uji Kruskal-Wallis untuk melihat adanya perbedaan, jika terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney (Trihendradi C., 2011).

Penurunan jumlah geliat kelompok bahan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya efek analgesik yang digambarkan dengan persentase inhibisi geliat. Persentase inhibisi geliat dihitung dengan rumus (Chattopadhyay C., Chakrabarti N., Chatterjee M., Chatterjee S., Bhattacharjey D. & Ghosh D, 2012):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{rata-rata jumlah geliat (kelompok kontrol negatif-kelompok bahan uji)}}{\text{rata-rata jumlah geliat kelompok kontrol negatif}} \times 100\%$$

Untuk melihat persentase efektivitas analgesik bahan uji, dilakukan perbandingan persentase inhibisi kelompok bahan uji terhadap persentase inhibisi kelompok kontrol positif (obat standar) yang digambarkan oleh rumus di bawah ini:

$$\% \text{ efektivitas analgesik} = \frac{\% \text{ inhibisi kelompok bahan uji}}{\% \text{ inhibisi kelompok kontrol positif}} \times 100\%$$

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini menggunakan ekstrak yang dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Metode maserasi dipilih untuk mencegah terdegradasinya senyawa flavonoid karena pemanasan. Pelarut etanol dipilih karena etanol lebih efisien dibandingkan dengan air dalam mendegradasi dinding sel yang bersifat non polar dan menyebabkan polifenol dilepaskan dari dalam sel. Selain itu, penggunaan air murni sebagai pelarut dihindari karena air merupakan medium yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme (Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H., 2011). Bahan yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah daun sisik naga yang tidak dikeringkan karena daun sisik naga mengandung $\pm 90\%$ air dan memerlukan waktu yang cukup lama untuk mengeringkannya sehingga dikhawatirkan terjadi pembusukan. Setelah dicuci, daun sisik naga diangin-anginkan semalam. Proses ini mengurangi kandungan air dalam daun sisik naga sebanyak $\pm 1,8\%$. Bobot daun sisik naga sesudah diangin-anginkan semalam adalah 1648,8 gram sehingga bobot awal daun sisik naga adalah $\pm 1678,5$ gram. Gambar ekstrak yang diperoleh terlampir pada Gambar 4.1.

Sebanyak 1648,8 gram daun yang telah dicuci dan diangin-anginkan dimaserasi dengan 3,5 L etanol 96%. Maserasi selanjutnya menggunakan ± 3 L etanol 80%. Proses maserasi sebanyak tujuh kali menghasilkan 72,4 gram ekstrak sehingga didapat rendemen ekstrak sebesar 4,39%. Dengan begitu, diperoleh dosis I = 17,125 mg/20 g bb; dosis II = 34,25 mg/20 g bb; dan dosis III = 68,5 mg/20 g bb. Perhitungan dosis terlampir pada Lampiran 1.

4.2 Standardisasi Ekstrak

Setelah diperoleh ekstrak kental, dilakukan standardisasi ekstrak dengan parameter non spesifik berupa susut pengeringan dan parameter spesifik berupa identitas ekstrak, organoleptis ekstrak, kandungan senyawa kimia dan kadar fenol total. Hasil standardisasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.1 di bawah ini. Data selengkapnya terlampir pada Tabel 4.7, Tabel 4.8, dan Lampiran 2.

Tabel 4.1 Hasil standardisasi ekstrak etanol daun sisik naga

Parameter non spesifik		
Susut pengeringan	20,63% \pm 0,45%	
Parameter spesifik		
Identitas	nama ekstrak	ekstrak etanol daun sisik naga
	nama latin tumbuhan	<i>Pyrrrosia piloselloides</i> (L.) M.G. Price
	bagian tumbuhan yang digunakan	daun
	nama Indonesia tumbuhan	sisik naga
Organoleptis	bentuk	ekstrak kental
	warna	coklat tua kekuningan
	rasa	asin, asam kecut, sepat
	bau	khas
Kandungan senyawa kimia	fenol, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, dan triterpen	
Kadar fenol total	70,08 \pm 2,78 mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak	

4.3 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan pertama dilakukan untuk menentukan konsentrasi asam asetat yang menimbulkan geliat yang jelas, mudah diamati, dan tidak menimbulkan kematian. Asam asetat glasial dipilih sebagai penginduksi karena sifatnya yang larut dalam air, tidak teroksidasi, dan tidak fotosensitisasi (Parmar dan Prakash, 2006). Sertifikat analisis asam asetat dapat dilihat pada lampiran 8. Asam asetat 0,4%; 0,6%; dan 0,8% dibuat dengan metode pengenceran asam asetat glasial menggunakan NaCl fisiologis. Penggunaan NaCl fisiologis bertujuan meminimalisir adanya mikroorganisme dalam larutan asam asetat karena larutan ini akan diberikan secara injeksi intraperitoneal. Bagan pengenceran asam asetat terlampir pada Gambar 3.1.

Pada uji ini, terdapat tiga kelompok uji. Masing-masing kelompok dipuaskan selama \pm 18 jam kemudian diinduksi asam asetat secara intraperitoneal dengan konsentrasi 0,4%; 0,6%; dan 0,8% dengan volume 0,2 mL/20 g bb mencit. Sebagai penginduksi rasa nyeri, asam asetat memiliki durasi sekitar satu jam (Wahyuni & Sujono, 2004). Oleh karena itu, pengamatan dilakukan selama satu jam terhitung dari induksi dengan asam asetat. Nyeri ditandai dengan geliat, yaitu abdomen menyentuh dasar tempat berpijak dan kedua pasang kaki ditarik ke

belakang (Gambar 4.2). Berdasarkan hasil uji ini, asam asetat 0,4% belum cukup memberikan respon geliat yang jelas dan mudah diamati. Asam asetat 0,6% dan 0,8% memberikan efek geliat yang jelas pada mencit. Perbedaannya terletak pada jumlah geliat yang dihasilkan. Jumlah geliat mencit yang diinduksi asam asetat 0,6% lebih banyak daripada jumlah geliat mencit yang diinduksi asam asetat 0,8%, namun tidak memberikan perbedaan yang bermakna. Penyimpangan ini dapat disebabkan intensitas nyeri yang dirasakan oleh mencit kelompok asam asetat 0,8% terlalu besar sehingga mencit terlalu lama menekan abdomen ke dasar tempat berpijak dan menimbulkan bias dalam pengamatan atau disebabkan oleh variasi biologis dari mencit. Oleh karena itu, pada uji efek analgesik sebenarnya akan digunakan asam asetat 0,6% dengan volume 0,2 mL/20 g bb sebagai penginduksi rasa sakit pada mencit dan hal ini sesuai dengan penelitian-penelitian terdahulu. Rata-rata jumlah geliat mencit selama satu jam yang dihasilkan tiap kelompok perlakuan uji pendahuluan pertama dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan data selengkapnya terlampir pada Tabel 4.9.

Tabel 4.2 Rata-rata jumlah geliat mencit uji pendahuluan konsentrasi asam asetat

Kelompok	Rata-rata jumlah geliat menit ke-										Total geliat rata-rata
	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
I	10	11,5	8,5	3	2	2	0,5	2	7	3,5	53
II	11,5	14,5	9	5,5	9	17,5	13,5	15,5	23,5	18,5	147
III	11,5	7,5	8	9	11,5	16,5	13,5	16	15,5	15,5	138

Keterangan: kelompok I, II, dan III diberi asam asetat 0,4%; 0,6%; dan 0,8% berturut-turut secara intraperitoneal dengan volume 0,2 mL/20 g bb.

Setelah didapatkan konsentrasi asam asetat yang tepat, dilakukan uji kepekaan mencit terhadap induksi asam asetat. Berdasarkan literatur, mencit dikatakan memenuhi syarat uji kepekaan apabila mencit memberi respon nyeri berupa geliat dalam waktu maksimal lima menit setelah diinduksi secara intraperitoneal (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993). Namun, setelah dilakukan uji kepekaan mencit, hanya 9% yang memenuhi syarat. Sebanyak 45% memberi respon geliat dalam waktu 5-10 menit dan sisanya belum memberi respon geliat sampai 10 menit. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan modifikasi syarat

uji kepekaan mencit, yaitu mencit dikatakan peka dan dapat diikutsertakan pada uji selanjutnya apabila mencit memberi respon nyeri berupa geliat dalam waktu 5-10 menit setelah diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Modifikasi ini dilakukan mengingat bahwa onset asam asetat adalah sekitar lima menit. Variasi onset asam asetat yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh variasi biologis mencit. Modifikasi ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Coolier (1968) dalam jurnalnya yang berjudul *The Abdominal Constriction Response and Its Suppression by Analgesic Drugs in The Mouse* menunjukkan hasil bahwa pemberian asam asetat 50 mg/kg bb secara intraperitoneal menyebabkan respon geliat pada 12% mencit di dua menit pertama dan 75% mencit di sepuluh menit pertama.

Uji pendahuluan kedua dilakukan untuk menguji apakah dosis lazim asetosal yang akan digunakan sebagai kontrol positif akan memberikan bias melalui respon geliat pada mencit. Asetosal dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan prototip obat AINS dan obat pilihan pertama dalam mengatasi rasa nyeri ringan sampai sedang. Sertifikat analisis asetosal terlampir pada Lampiran 9. Dosis lazim asetosal setelah dikonversi ke dosis mencit adalah 13 mg/20 g BB. Suspensi asetosal diberikan secara oral kepada mencit setelah mencit dipuaskan selama ± 18 jam. Setelah dilakukan pengamatan selama dua jam, ternyata dosis tersebut tidak menimbulkan geliat pada dua ekor mencit percobaan. Oleh karena itu, suspensi asetosal dengan dosis 13 mg/20 g BB mencit akan digunakan sebagai kontrol positif pada uji sebenarnya.

Uji ketiga dilakukan untuk menentukan waktu pemberian ekstrak kepada mencit. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah jumlah geliat mencit selama satu jam. Berdasarkan hasil uji ini, data set ketiga tidak diperhitungkan karena mengalami penyimpangan yang cukup jauh dari dua set data sebelumnya. Dengan melihat data set pertama dan kedua, pemberian ekstrak pada waktu 60 menit sebelum induksi lebih baik daripada 30 menit maupun sesaat sebelum induksi. Oleh karena itu, pada uji sebenarnya ekstrak daun sisik naga akan diberikan satu jam sebelum induksi. Jumlah geliat mencit pada uji ketiga ini dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan data selengkapnya terlampir pada Tabel 4.10.

Tabel 4.3 Rata-rata jumlah geliat mencit uji pendahuluan waktu pemberian suspensi ekstrak 34,25 mg/20 g bb

Kelompok	Rata-rata jumlah geliat mencit menit ke-										Total geliat rata-rata
	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
I	0,5	0,5	0	0	1,5	3	7	6	2	2	22,5
II	8,5	11	5	7,5	4,5	5	4,5	11,5	8	14	89,5
III	19	17,5	15,5	16	20,5	21,5	23,5	24,5	23,5	20	201,5

Keterangan: Kelompok I, II, dan III diberi suspensi ekstrak 34,25 mg/20 g bb secara oral berturut-turut pada 60 menit, 30 menit, dan sesaat sebelum induksi

4.4 Uji Efek Analgesik

Berdasarkan uji pendahuluan, maka pada uji efek analgesik sebenarnya digunakan asam asetat 0,6% sebagai penginduksi rasa sakit, asetosal dengan dosis 13 mg/20 g bb sebagai kontrol positif, dan ekstrak diberikan satu jam sebelum induksi. Pada uji ini, terdapat lima kelompok uji yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi CMC 0,5%, kelompok kontrol positif yang diberi asetosal, dan kelompok bahan uji dosis I, II, dan III. Satu jam setelah diberi perlakuan, mencit disuntik asam asetat 0,6% dan sepuluh menit kemudian dihitung jumlah geliatnya sampai satu jam. Jumlah geliat rata-rata yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan data selengkapnya terlampir pada Tabel 4.11.

Tabel 4.4 Rata-rata jumlah geliat mencit kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok bahan uji

Kelompok uji	Perlakuan	Rata-rata jumlah geliat \pm SD
I	Kontrol negatif	202,4 \pm 50,9
II	Kontrol positif	18,6 \pm 18,5
III	Dosis I	11,6 \pm 12,9
IV	Dosis II	27,6 \pm 17,2
V	Dosis III	31,0 \pm 33,4

Keterangan: kontrol negatif = CMC 0,5% 0,5 mL/20 g bb; kontrol positif = asetosal 13 mg/20 g bb; dosis I = ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb; dosis II = ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb; dosis III = ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb.

Berdasarkan hasil yang tertera pada Tabel 4.4, pengujian efek analgesik menunjukkan bahwa jumlah geliat mencit kelompok bahan uji dosis I, II, dan III mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sisik naga dapat mengurangi timbulnya geliat mencit sebagai respon nyeri yang ditimbulkan oleh pemberian asam asetat secara intraperitoneal. Semakin sedikit jumlah geliat mencit, semakin baik fungsi analgesik bahan uji.

Pada Tabel 4.4 dapat dilihat rata-rata jumlah geliat mencit dan standar deviasinya. Kelompok kontrol positif, dosis I, dosis II, dan dosis III memiliki standar deviasi yang sangat besar. Hal ini menunjukkan jumlah geliat antarmencit dalam satu kelompok memiliki rentang yang cukup jauh. Besarnya standar deviasi ini dapat disebabkan oleh kesalahan dalam pengamatan geliat atau faktor variasi biologis mencit. Standar deviasi ini akan memberikan pengaruh dalam pengolahan secara statistik, namun umlah geliat dengan standar deviasi yang sangat besar dalam kelompok kontrol positif, dosis I, dosis II, dan dosis III masih memiliki perbedaan secara bermakna dengan kelompok kontrol negatif sehingga efek analgesik kelompok-kelompok tersebut masih dapat diolah secara statistik.

Berdasarkan data uji efek analgesik, dihitung persentase inhibisi geliat yaitu kemampuan bahan uji dalam menginhibisi respon geliat mencit. persentase ini menggambarkan daya analgesik bahan uji. Persentase inhibisi diperoleh dengan membandingkan jumlah geliat kelompok bahan uji terhadap kelompok kontrol negatif. Persentase inhibisi geliat dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Persentase inhibisi geliat mencit

Kelompok uji	Perlakuan	% Inhibisi
II	Kontrol positif	90,81
III	Dosis I	94,27
IV	Dosis II	86,36
V	Dosis III	84,68

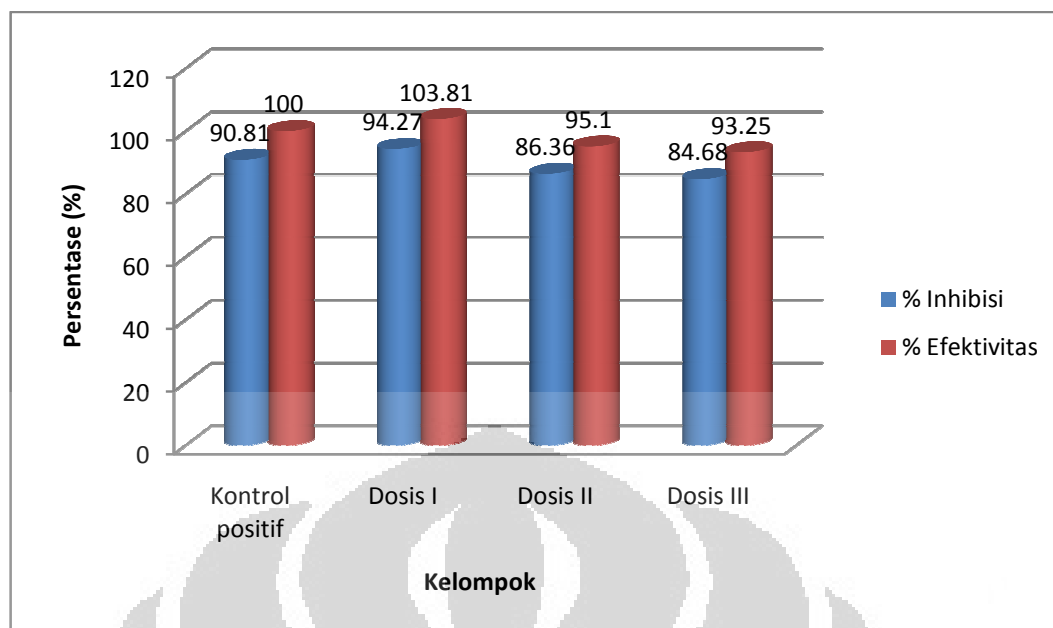
Keterangan: kontrol positif = asetosal 13 mg/20 g bb; dosis I = ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb; dosis II = ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb; dosis III = ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb.

Pada Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa berdasarkan persentase inhibisi geliat, kelompok bahan uji dosis I menunjukkan daya analgesik terbesar pada mencit. Secara berurutan dari persentase terbesar, daya analgesik oleh bahan uji dosis I, dosis II, dan dosis III. Untuk melihat persentase efektivitas analgesik, dilakukan perbandingan persentase inhibisi kelompok bahan uji terhadap kelompok kontrol positif. Pada Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa bahan uji dosis terendah, yakni dosis I memberikan efek analgesik lebih baik daripada asetosal sedangkan bahan uji dosis yang lebih tinggi, yakni dosis II dan dosis III memiliki efektivitas yang lebih rendah daripada dosis I dan kontrol positif. Grafik efektivitas analgesik ini dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan grafik yang menggambarkan jumlah rata-rata geliat mencit pada uji sebenarnya selama satu jam terlampir pada Gambar 4.4.

Tabel 4.6 Persentase efektivitas analgesik

Kelompok uji	Perlakuan	% Efektivitas
II	Kontrol positif	100,00
III	Dosis I	103,81
IV	Dosis II	95,10
V	Dosis III	93,25

Keterangan: Kontrol positif = asetosal 13 mg/20 g bb; dosis I = ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb; dosis II = ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb; dosis III = ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb.



Keterangan: Kontrol positif = asetosal 13 mg/20 g bb; dosis I = ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb; dosis II = ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb; dosis III = ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb.

Gambar 4.3 Diagram batang persentase inhibisi dan efektivitas asetosal dan ekstrak etanol daun sisik naga

Persentase analgesik bahan uji dosis I lebih besar daripada kontrol positif dapat disebabkan oleh perbedaan dosis. Pada penelitian ini digunakan asetosal dengan dosis satu kali minum dan bahan uji ekstrak etanol daun sisik naga dengan dosis satu hari. Idealnya, dosis yang diberikan untuk pengujian efek analgesik adalah dosis sehari, yaitu 3x500 mg asetosal. Namun, pemberian asetosal pada dosis tersebut dikhawatirkan akan menimbulkan efek samping saluran cerna berupa geliat. Efek samping ini terjadi karena penghambatan terhadap siklooksigenase-1 menyebabkan penurunan sintesis prostasiklin yang berfungsi melindungi mukosa lambung sehingga justru menimbulkan rasa sakit. Disarankan pada penelitian efek analgesik selanjutnya dilakukan optimasi dosis asetosal terlebih dahulu dengan batas maksimum pemakaian satu hari, yaitu 3x500 mg dan kriteria bahwa dosis tersebut tidak menimbulkan efek samping yang dapat membuat bias dalam pengamatan.

Untuk mengetahui efek analgesik bahan uji secara statistik, dilakukan pengolahan data menggunakan program SPSS 19. Normalitas distribusi data

dianalisis dengan uji Saphiro-Wilk. Hasil dari uji ini adalah data terdistribusi secara normal. Uji dilanjutkan ke tahap berikutnya, yaitu uji Levene untuk melihat homogenitas varians data. Hasilnya, data yang diperoleh tidak homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan secara non parametrik. Untuk melihat adanya perbedaan bermakna efek analgesik antarkelompok, dilakukan uji Kruskal-Wallis. Berdasarkan uji ini, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna antarkelompok uji. Oleh karena itu, uji dilanjutkan ke tahap berikutnya, yaitu uji Mann-Whitney untuk melihat adanya perbedaan bermakna tiap kelompok. Berdasarkan uji Mann-Whitney, dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol positif, bahan uji dosis I, II, dan III menghasilkan efek analgesik yang berbeda bermakna ($\alpha < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok bahan uji dosis I, II, dan III menghasilkan efek analgesik yang tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Berdasarkan persentase efektivitas, efek analgesik ekstrak menurun dengan bertambahnya dosis tetapi penurunan ini tidak bermakna secara statistik. Hasil pengolahan data secara statistik ini dapat dilihat pada Lampiran 3-6.

Metode geliat yang diinduksi oleh asam asetat merupakan metode yang digunakan untuk menguji efek analgesik perifer suatu senyawa baru (Ren, Shi, Han, Liu & Guo, 2012). Geliat yang dihasilkan oleh mencit berasal dari reaksi inflamasi akut lokal karena pelepasan asam arakidonat dari jaringan fosfolipid melalui jalur siklooksigenase dan menghasilkan prostaglandin, terutama PGE₂ dan PGF_{2 α} dalam cairan peritoneal. Prostaglandin menyebabkan rasa nyeri karena peningkatan permeabilitas kapiler. Oleh karena itu, suatu senyawa yang dapat menghambat geliat mencit memiliki efek analgesik yang cenderung disebabkan oleh inhibisi sintesis prostaglandin, suatu mekanisme perifer dari inhibisi nyeri (Muhammad, Muhammad & Khan, 2012).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak etanol daun sisik naga (*Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price) pada mencit dengan dosis 17,125 mg/20 g bb memiliki efek analgesik ditinjau dari penurunan jumlah geliat mencit jantan yang diinduksi oleh asam asetat. Efek analgesik bahan uji dosis 17,125, 34,25, dan 68,5 mg/20 g bb serta asetosal 13 mg/20 g bb tidak berbeda secara bermakna ($\alpha > 0,05$).

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji efek analgesik daun sisik naga dengan variasi dosis di bawah 17,125 mg/20 g bb untuk melihat hubungan antara dosis dengan respon serta penelitian untuk mengetahui senyawa aktif daun sisik naga yang berperan sebagai analgesik.

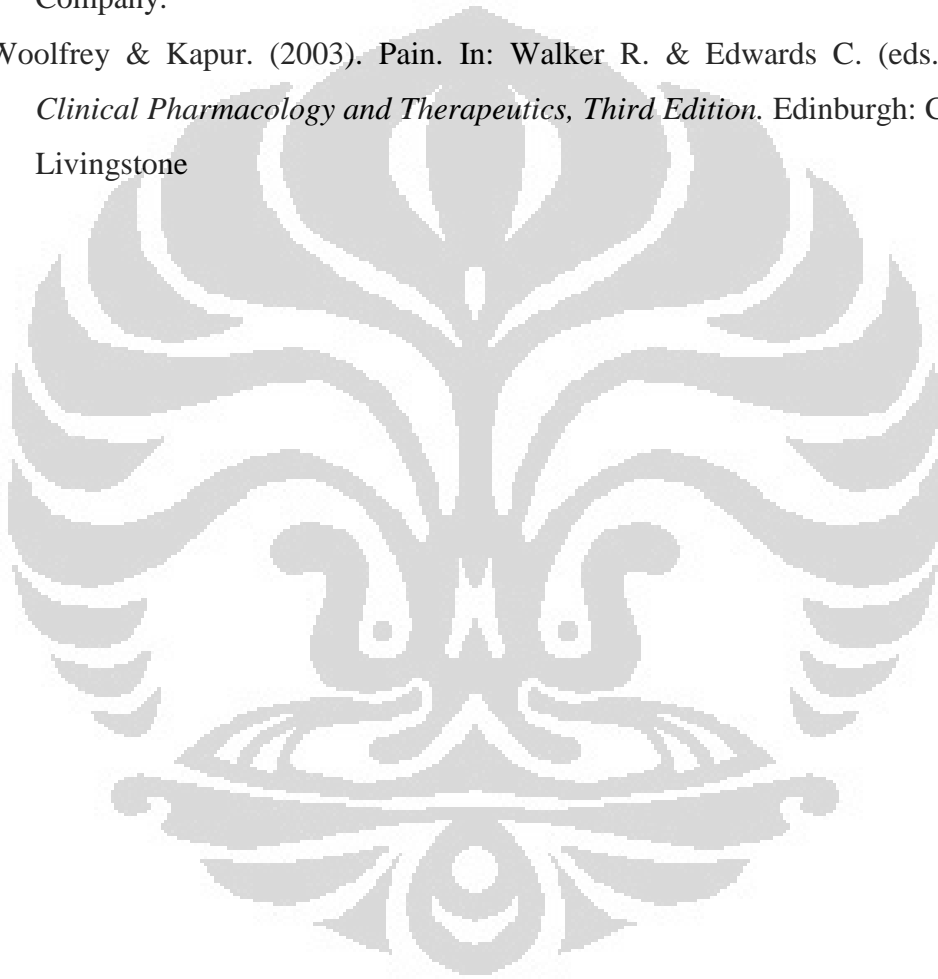
DAFTAR ACUAN

- Andayani R., Maimunah & Lisawati Y. (2008). Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersium*). *J. Sains Tek. Far.* 13(1), 31-37.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2005). Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. *InfoPOM*. Vol. 6 (4), 1-12.
- Baumann, Terry J. (2005). Pain Management. In: Dipiro, Joseph T. et al. (Eds.) 2005. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach Sixth Edition*. USA: McGraw Hill, 1089-1104.
- Burzynski, J. & Strassels, S. (2009). Persistent Pain. In: Linn W.D., Wofford, M.R., O'Keefe, M.E., dan Posey, L.M. *Pharmacotherapy in Primary Care*. New York: McGraw-Hill.
- Chattopadhyay C., Chakrabarti N., Chatterjee M., Chatterjee S., Bhattacharjey D. & Ghosh D. (2012). Evaluation of Acute Antiinflammatory and Analgesic Activities of Green Tea Decoction on Experimental Animal Models. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis* Vol. 2 (1), 20-25.
- Coolier, H.O.J., Dinneen, L.C., Johnson, C.A., Scheineider, C. (1968). The Abdominal Constriction Response And Its Suppression by Analgesic Drugs In The Mouse. *Br. J. Pharmac. Chemother.* Vol 32, 295-310
- Corwin, Elizabeth J. (2008). *Handbook of Pathophysiology 3rd Edition*. Columbus: Lippincott Williams & Wilkins, 345-346.
- Dalimartha, S. (1999). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 959.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 46.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 184-188.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Bakti Husada, 5-38.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 5.
- Dewoto, Hedi R. (2007). Analgesik Opioid dan Antagonis. Dalam: Gan S. (ed). 2007. *Farmakologi dan terapi, ed. 5*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 210-229.
- Hariana, H.A. (2006). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*. Depok: Penebar Swadaya.
- Hartini, Sri (2002). Kajian tentang Kegunaan Sisik Naga sebagai Obat Tradisional dan Eksistensinya di Kebun Raya Bogor. *Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Bogor*, 169-173.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia I*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Jusman S. & Halim A. (2009). Oxidative Stress in Liver Tissue of Rat Induced by Chronic Systemic Hypoxia. *Makara Kesehatan*. Vol. 13 (1), 34-38.
- Kelompok Kerja Ilmiah. (1993). *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia, dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Pyhto Medica, 3-6.
- Kumar A., et al. (2009). Phytochemical Investigation on A Tropical Plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District Tamil Nadu, South India. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (1), 83-85.
- Laurence, A.L., Bacharach. (1964). *Evaluation of Drug Activities: Pharmacokinetic Volume I*. London: Academic Press.
- Mikail, H.G. (2010). Phytochemical screening, elemental analysis and acute toxicity of aqueous extract of *Allium sativum* L. bulbs in experimental rabbits. *J. Med. Plant. Res.* Vol 4 (4).
- Muhammad, N., Muhammad, S., & Khan, H. (2012). Antipyretic, Analgesic and Anti-inflammatory Activity of *Viola betonicifolia* Whole Plant. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 12 (59).

- Reynolds, James E.F. (1982). *Martindale The Extra Pharmacopeia Twentieth Edition*. London: The Pharmaceutical Press, 235.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R., & Krishna, D.R. (2001). Bioflavonoid Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33, 2-16.
- Nugroho, Ignatius Adi. (2010). Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia. *APFORGEN NewsLetter*, 1-4.
- O'Neil, C.K. (2008). Pain Management. In: Chisholm-Burns, M.A., et al. (Eds.). *Pharmacotherapy Principles & Practice*. New York: McGraw-Hill.
- Parmar, N.S. & Prakash, S. (2006). *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: Alpha Science International, 225-235.
- Payan, Donald G. & Katzung, Bertram G. (1998). Obat Anti-inflamasi Nonsteroid; Analgesik Nonopoid; Obat yang Digunakan pada Gout. In: Katzung, Bertram G. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: EGC.
- Sari, Lusiana O. R. K. (2006). Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. III (1), 1-7.
- Somchit, M.N., Hassan, H., Zuraini, A., Chong, L.C., Mohamed, Z., and Zakaria, Z.A. (2011). In vitro anti-fungal and anti-bacterial activity of *Pyrrrosia piloselloides* L. Presl. against several fungi responsible for Athlete's foot and common pathogenic bacteria. *Afr. J. Microbiol. Res.* Vol.5 (21), 3537-3541.
- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G. & Kaur H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol.1 (1), 98-106.
- Trihendradi, C. (2011). *Langkah Mudah Melakukan Analisis Statistik Menggunakan SPSS 19*. Jakarta: Penerbit Andi.
- United States Department of Agriculture. (2005, 10 February). Taxon: *Pyrrrosia piloselloides* (L.) M.G. Price. *Germplasm Resources Information Network*. 2012, 17 January. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?447799>
- Wahyuni, A.S. & Sujono, T.A. (2004). Studi Aktivitas Daya Analgetik Jamu Pegel Linu. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 5 (1), 21-32.

- Wilmana, P.F., & Gan S. (2007). Analgesik-antipiretik analgesik anti-inflamasi nonsteroid dan obat gangguan sendi lainnya. Dalam: Gan S. (ed). 2007. *Farmakologi dan Terapi, ed. 5*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 230-246.
- Williams, R.T. (1979). Species Variation in Drug Biotransformation. In: La Du, B.N., Mandel, H.G., and Way El (Eds.). *Fundamental of Drug Metabolism and Drug Disposition*. Huntington, New York: The Williams and Wilkins Company.
- Woolfrey & Kapur. (2003). Pain. In: Walker R. & Edwards C. (eds.). 2003. *Clinical Pharmacology and Therapeutics, Third Edition*. Edinburgh: Churchill Livingstone

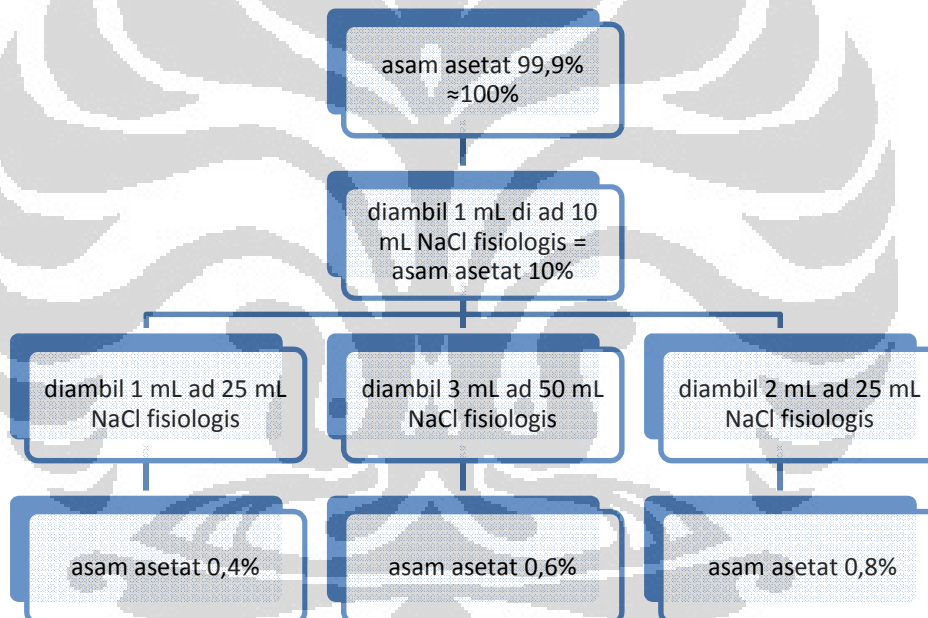




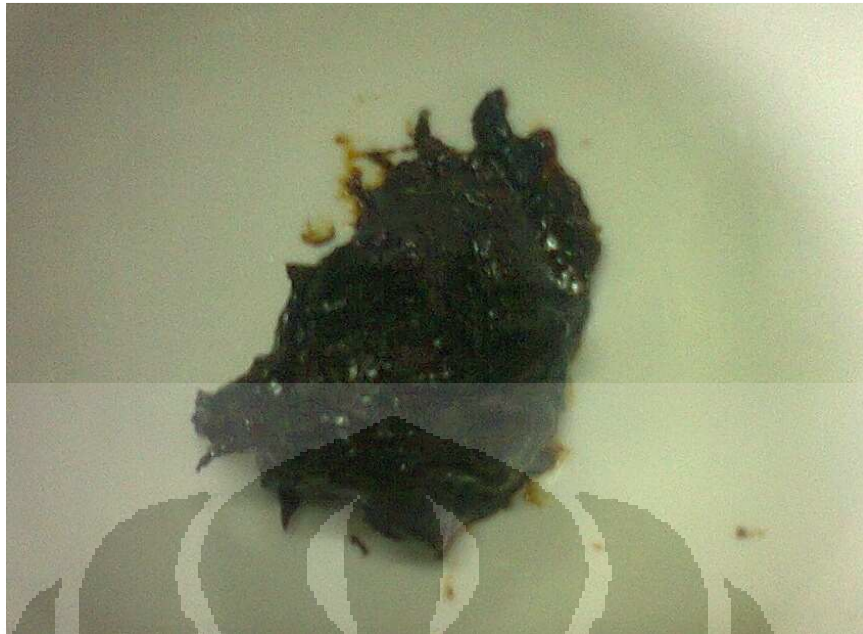
GAMBAR



Gambar 2.1 Daun sisik naga



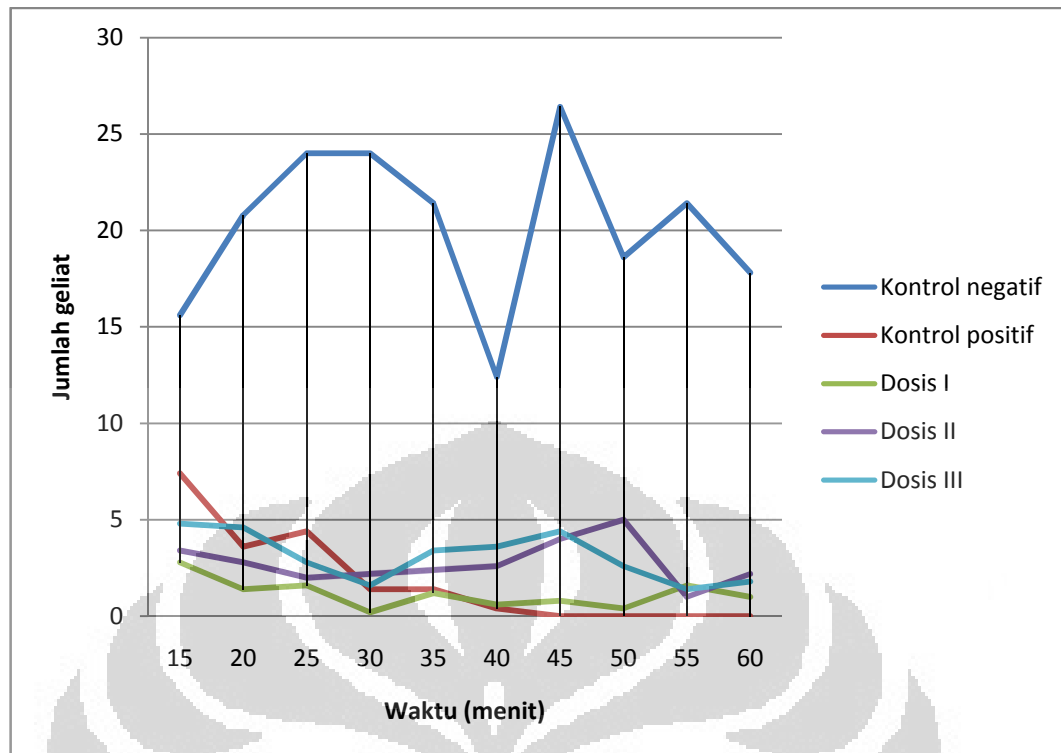
Gambar 3.1 Bagan pengenceran asam asetat 0,4%; 0,6%; dan 0,8%



Gambar 4.1 Ekstrak etanol daun sisik naga

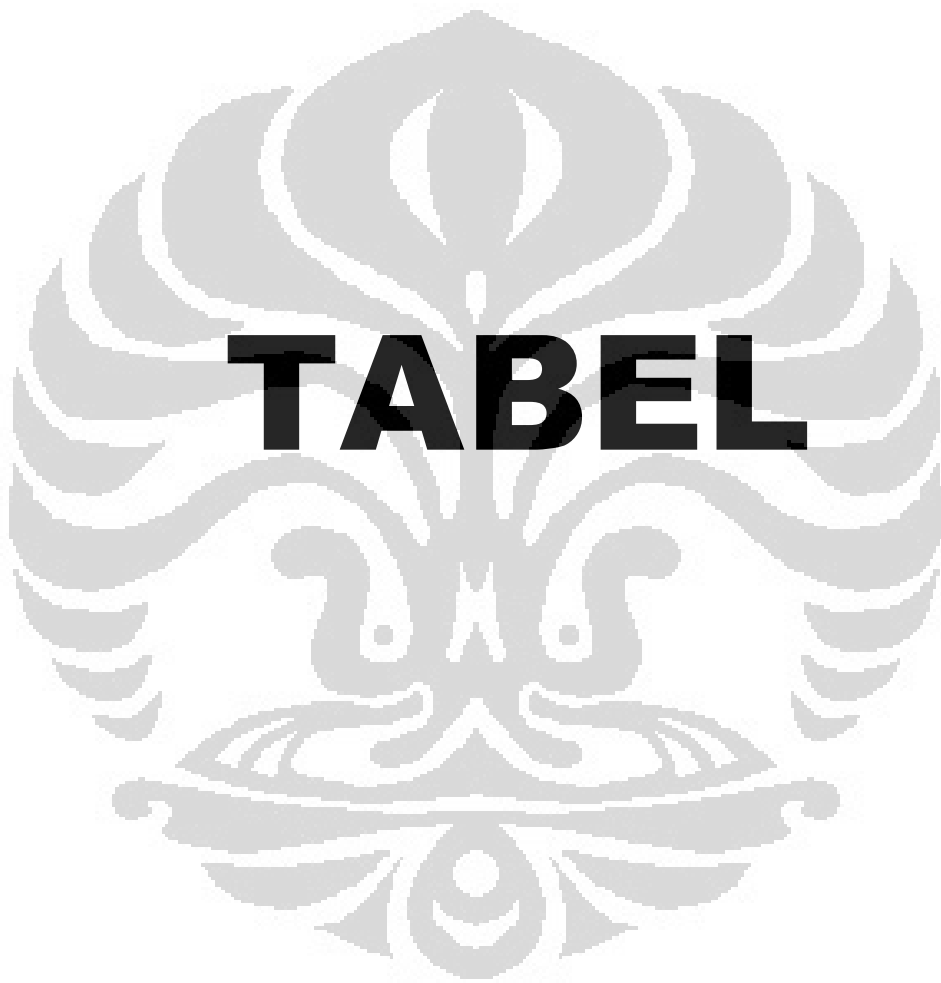


Gambar 4.2 Geliat mencit yang diinduksi oleh asam asetat 0,6%



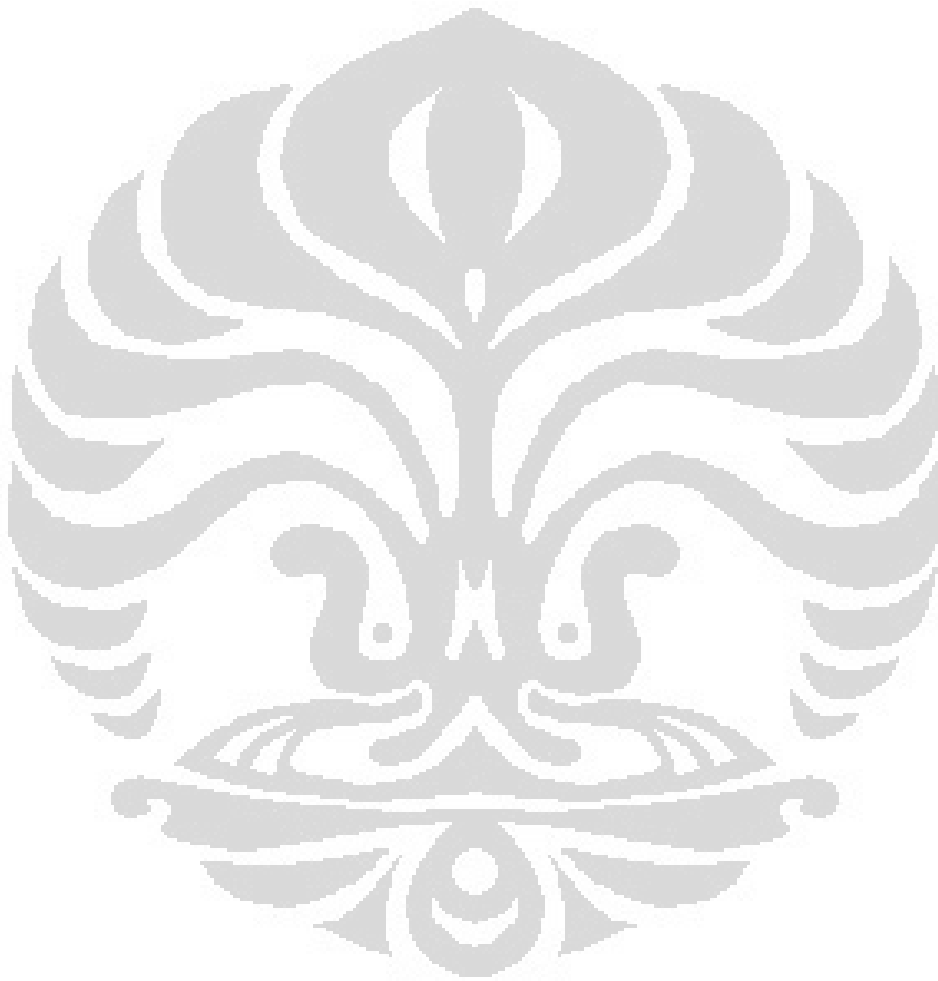
Keterangan: Kontrol positif = asetosal 13 mg/20 g bb; dosis I = ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb; dosis II = ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb; dosis III = ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb.

Gambar 4.4 Grafik rata-rata geliat mencit pada uji efek analgesik sebenarnya selama satu jam



Tabel 4.7 Susut pengeringan ekstrak

Uji ke-	Bobot awal	Bobot akhir	% Susut pengeringan
I	1,7128 g	1,3651 g	20,30%
II	1,0664 g	0,8483 g	20,45%
III	1,0190 g	0,8036 g	21,14%



Tabel 4.8 Penapisan fitokimia

Tes	Pengamatan	Kesimpulan
Identifikasi alkaloid		
a. Mayer	Tidak terbentuk endapan kuning	Negatif alkaloid
b. Dragendorf	Tidak terbentuk endapan merah jingga	
c. Bouchardat	Tidak terbentuk endapan coklat hitam	
Identifikasi fenol		
Larutan FeCl ₃	Terbentuk warna hitam	Positif fenol
Identifikasi flavonoid		
a. Reduksi Zn	Terbentuk warna merah lemah	Positif flavonoid
b. Reduksi Mg	Terbentuk warna merah lemah	
Identifikasi tanin		
Larutan gelatin	Terbentuk gumpalan putih	Positif tanin
Identifikasi saponin		
Tes busa	Terbentuk busa yang tidak hilang dengan penambahan HCl 2N	Positif saponin
Identifikasi glikosida		
Tes Mollisch	Terbentuk cincin ungu	Positif glikosida
Identifikasi steroid/triterpen		
Tes Liebermann-Burchard	Terbentuk warna biru-hijau toska	Positif steroid/triterpen

Tabel 4.9 Jumlah geliat mencit uji pendahuluan konsentrasi asam asetat

Uji ke-	Mencit	Konsentrasi asam asetat	Jumlah geliat menit ke-										Total geliat
			15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
I	1	0,4%	17	12	15	3	2	1	1	4	5	4	64
	2	0,6%	17	18	12	6	16	26	21	25	29	22	192
	3	0,8%	14	9	6	0	3	19	17	17	13	23	121
II	4	0,4%	3	11	2	3	2	3	0	0	9	3	36
	5	0,6%	6	11	6	5	2	9	6	6	18	15	84
	6	0,8%	9	6	10	18	20	14	10	15	18	9	129

Keterangan: tiap mencit disuntik asam asetat dengan volume 0,2 mL/20 g bb secara intraperitoneal dengan variasi konsentrasi 0,4%; 0,6%; dan 0,8%.

Tabel 4.10 Jumlah geliat mencit uji pendahuluan waktu pemberian ekstrak

Uji ke-	Mencit	Perlakuan	Jumlah geliat menit ke-												Total geliat
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
I	1	Waktu I	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	3
	2	Waktu II	2	4	7	8	1	0	0	0	2	4	8	8	38
	3	Waktu III	3	21	18	13	12	12	13	13	17	17	17	12	144
II	4	Waktu I	0	4	1	0	0	0	3	6	14	12	4	2	42
	5	Waktu II	3	17	10	14	9	15	9	10	7	19	8	20	121
	6	Waktu III	4	19	20	22	19	20	28	30	30	32	30	28	259
III	7	Waktu I	7	34	25	18	18	3	9	6	7	6	8	7	107
	8	Waktu II	4	28	26	17	17	16	11	15	12	9	6	6	135
	9	Waktu III	1	11	15	21	17	10	10	11	7	7	8	9	115

Keterangan: tiap mencit diberi suspensi ekstrak dengan dosis 34,5 mg/20 g bb (dosis II) dengan variasi waktu pemberian yaitu waktu I = 60 menit sebelum induksi, waktu II = 30 menit sebelum induksi, dan waktu III = sesaat sebelum induksi.

Tabel 4.11 Jumlah geliat mencit uji efek analgesik

Kelompok	Ulangan	Jumlah geliat menit ke-										Total
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	
I	1	26	22	28	32	29	10	12	32	30	22	243
	2	13	27	29	19	14	19	41	4	29	26	221
	3	19	27	23	29	23	9	25	13	11	7	186
	4	15	20	23	13	12	8	12	4	7	7	121
	5	5	8	17	27	29	16	42	40	30	27	241
II	1	12	1	0	0	0	1	0	0	0	0	14
	2	6	9	14	5	5	1	0	0	0	0	40
	3	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	19	8	6	1	2	0	0	0	0	0	36
III	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	9	4	3	0	0	0	0	0	0	0	16
	4	1	0	0	0	2	0	0	1	5	2	11
	5	4	3	5	1	4	3	4	1	3	3	31
IV	1	0	0	2	4	0	0	0	8	2	9	25
	2	1	0	0	0	0	4	4	7	0	0	16
	3	8	12	8	6	5	4	5	3	1	2	54
	4	0	0	0	1	7	5	11	7	2	0	33
	5	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	10
V	1	7	3	2	5	9	13	9	5	2	5	60
	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	3	8	6	3	0	0	0	1	2	1	1	22
	4	9	14	9	3	8	5	12	5	4	3	72
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan: kelompok I = kontrol negatif (CMC 0,5% 0,5 mL/20 g bb); kelompok II = kontrol positif (aspirin 13 mg/20 g bb); kelompok III = dosis I (ekstrak daun sisik naga 17,125 mg/20 g bb); kelompok IV = dosis II (ekstrak daun sisik naga 34,25 mg/20 g bb); kelompok V = dosis III (ekstrak daun sisik naga 68,5 mg/20 g bb).



LAMPIRAN

Lampiran 1. Penetapan dosis dan cara pembuatan suspensi bahan uji

A. Ekstrak daun sisik naga

Dosis empiris daun sisik naga adalah 30 gram. Dari 1648,8 gram daun basah diperoleh 72,4 gram ekstrak kental sehingga dosis yang diberikan kepada mencit dengan berat 20 gram adalah:

dosis manusia x faktor konversi x faktor farmakokinetik x rendemen

$$\text{Dosis I} = 15 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 \times \frac{72,4 \text{ g}}{1648,8 \text{ g}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 17,125 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis II} = 30 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 \times \frac{72,4 \text{ g}}{1648,8 \text{ g}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 34,25 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis III} = 60 \text{ g} \times 0,0026 \times 10 \times \frac{72,4 \text{ g}}{1648,8 \text{ g}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 68,5 \text{ mg}$$

B. Asetosal

Dosis lazim asetosal adalah 500 mg sehingga dosis yang diberikan kepada mencit dengan berat 20 gram adalah:

dosis manusia x faktor konversi x faktor farmakokinetik

$$= 500 \text{ mg} \times 0,0026 \times 10 = 13 \text{ mg}$$

C. Pembuatan suspensi bahan uji

Mencit dengan berat 20,0 gram diberikan suspensi uji sebanyak 0,5 mL tiap perlakuan. Suspensi uji dibuat dengan menimbang ekstrak daun sisik naga sesuai dengan dosis yang digunakan kemudian disuspensikan dalam CMC 0,5%.

1. Pembuatan bahan uji dosis III

Persediaan yang ingin dibuat adalah 4 mL, yaitu 2 mL untuk uji dosis III dan 2 mL untuk diencerkan menjadi dosis II, maka jumlah ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$4 \text{ mL} \times \frac{68,5 \text{ mg}}{0,5 \text{ mL}} = 548 \text{ mg}$$

Jadi, timbang 548 mg ekstrak daun sisik naga kemudian tambahkan CMC 0,5% hingga 4 mL.

(lanjutan)

2. Pembuatan bahan uji dosis II

Persediaan yang ingin dibuat adalah 4 mL, yaitu 2 mL untuk uji dosis II dan 2 mL untuk diencerkan menjadi dosis I, maka diambil 2 mL bahan uji dosis III kemudian ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 4 mL.

3. Pembuatan bahan uji dosis I

Diambil 2 mL bahan uji dosis II kemudian ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 4 mL.

4. Pembuatan suspensi asetosal

Ditimbang 39 mg asetosal kemudian ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 1,5 mL.

Kelompok kontrol negatif diberikan larutan CMC 0,5% sebanyak 0,5 mL untuk tiap mencit dengan berat badan 20 gram. Volume larutan CMC 0,5% yang dibutuhkan tiap hari adalah:

1. Kontrol negatif : 0,5 mL
2. Kontrol positif : 1,5 mL
3. Dosis III : 4 mL
4. Pengenceran untuk dosis I : 2 mL
5. Pengenceran untuk dosis II : 2 mL

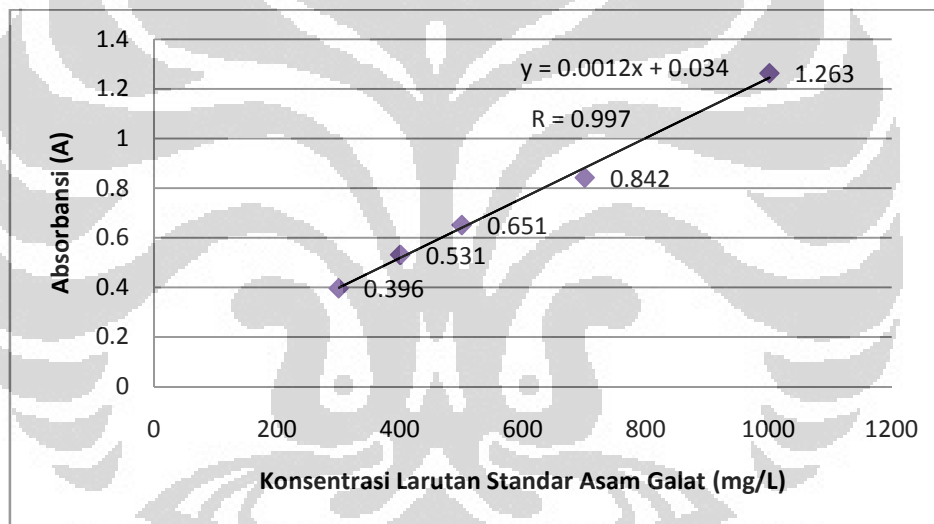
Larutan CMC 0,5% yang dibuat perhari = 10 mL. Karena berat badan mencit berkisar 20-30 gram dan sebagai cadangan, maka pembuatan CMC 0,5% ditingkatkan 2x menjadi 20 mL.

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan menimbang 100 mg CMC kemudian ditaburkan pada air hangat ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) sebanyak kurang lebih 2 mL di dalam mortir dan didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya, CMC yang telah mengembang digerus hingga terbentuk suspensi yang homogen dan cukupkan volumenya hingga 20 mL.

Lampiran 2. Penetapan kadar fenolat total

Pembuatan larutan induk dan spektrum serapan

Sebanyak 125,1 mg asam galat ditimbang lalu ditambahkan etanol 70% hingga 25 mL sehingga diperoleh larutan induk berkonsentrasi 5,004 mg/mL. Larutan induk dipipet 10 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 50 mL sehingga diperoleh larutan induk kedua berkonsentrasi 1,008 mg/mL. Larutan induk kedua dipipet 3, 4, 5 dan 7 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 10 mL. Larutan yang dihasilkan memiliki konsentrasi 300,24; 400,32; 500,40; dan 700,56 mg/L asam galat yang kemudian diukur serapannya dan dibuat kurva kalibrasi dari lima konsentrasi asam galat. Persamaan kurva kalibrasi diperoleh $y = 0,0012x + 0,0343$.



Larutan sampel (ekstrak daun sisik naga) kemudian diukur serapannya (y) dan dihitung konsentrasinya (x) berdasarkan persamaan kurva kalibrasi. Kadar fenolat total dihitung sebagai berikut: $\frac{\text{konsentrasi sampel (ppm)} \times \text{volume pengenceran (mL)}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000}$

dengan hasil tertera pada tabel di bawah ini:

Uji ke-	Berat ekstrak	Serapan	Kadar fenolat (mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak)
I	300,4 mg	0,771*	68,12
II	301,0 mg	0,815*	72,05

Keterangan: * = pengenceran 30%

Lampiran 3. Uji normalitas terhadap jumlah geliat mencit

Tujuan : mengetahui distribusi data jumlah geliat mencit

Hipotesa : H_0 = data jumlah geliat mencit jantan antarkelompok terdistribusi normal

H_a = data jumlah geliat mencit jantan antarkelompok tidak terdistribusi normal

Statistik uji : Uji Shapiro-Wilk

$\alpha = 0,05$

Pengambilan keputusan:

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq \alpha$

Kelompok		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Jumlah geliat	Kontrol negatif	0.858	5	0.221
	Kontrol positif	0.871	5	0.269
	Dosis I	0.9	5	0.409
	Dosis II	0.945	5	0.699
	Dosis III	0.864	5	0.242

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data terdistribusi normal

Lampiran 4. Uji homogenitas varians terhadap jumlah geliat mencit

Tujuan : mengetahui homogenitas data jumlah geliat mencit.

Hipotesa : H_0 = data jumlah geliat mencit jantan tiap kelompok bervariasi homogen.

H_a = data jumlah geliat mencit jantan tiap kelompok tidak bervariasi homogen.

Statistik uji : Uji Levene

$\alpha = 0,05$

Pengambilan keputusan:

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq \alpha$

Test of Homogeneity of Variances			
JumlahGeliat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.781	4	20	.019

Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga data bervariasi tidak homogen.

Lampiran 5. Uji Kruskal-Wallis terhadap jumlah geliat mencit

Tujuan : mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna jumlah geliat mencit antarkelompok perlakuan

Hipotesa : H_0 = data jumlah geliat mencit jantan tiap kelompok tidak ada perbedaan bermakna.

H_a = data jumlah geliat mencit jantan tiap kelompok ada perbedaan bermakna.

Stastistik uji : Uji Kruskal Wallis

$\alpha = 0,05$

Pengambilan keputusan:

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq \alpha$

	JumlahGeliat
Chi-Square	13.019
df	4
Asymp. Sig.	.011

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Kelompok

Kesimpulan : H_0 ditolak sehingga terdapat perbedaan bermakna antarkelompok perlakuan

Lampiran 6. Uji Mann-Whitney terhadap jumlah geliat mencit antarkelompok

Tujuan : mengetahui perbedaan bermakna jumlah geliat mencit.

Hipotesa : H_0 = data jumlah geliat mencit jantan antarkelompok tidak ada perbedaan bermakna.

H_a = data jumlah geliat mencit jantan antarkelompok ada perbedaan bermakna.

Statistik uji : Uji Mann-Whitney

$\alpha = 0,05$

Pengambilan keputusan:

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< \alpha$

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq \alpha$

Kelompok	Kelompok	Asymp. Sig. (2-tailed)
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,009*
	Dosis I	0,009*
	Dosis II	0,009*
	Dosis III	0,009*
Kontrol positif	Kontrol negatif	0,009*
	Dosis I	0,459
	Dosis II	0,465
	Dosis III	0,675
Dosis I	Kontrol negatif	0,009*
	Kontrol positif	0,459
	Dosis II	0,141
	Dosis III	0,341
Dosis II	Kontrol negatif	0,009*
	Kontrol positif	0,465
	Dosis I	0,141
	Dosis III	0,917
Dosis III	Kontrol negatif	0,009*
	Kontrol positif	0,675
	Dosis I	0,341
	Dosis II	0,917

Keterangan: tanda * menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ artinya data jumlah geliat pada dua kelompok tersebut memiliki perbedaan secara bermakna

Lampiran 7. Surat determinasi tumbuhan sisik naga



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 27 Februari 2012

Nomor : 249/IPH.1.02/II.8/II/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Grace Natalia
 Mhs. Univ. Indonesia
 Jakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sisik Naga	<i>Pyrrhosia piloselloides</i> (L.) M.G.Price	Polypodiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joemi Setijoe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

Lampiran 8. Sertifikat analisis asam asetat glasial

J.T.Baker

Acetic Acid, Glacial

BAKER ANALYZED[®] HPLC Reagent
For Use in High Performance Liquid Chromatography

Product No. 9515
Lot No. G33A16
Release Date 08/14/2008

Certificate of Analysis

TEST	SPECIFICATION	RESULT
Assay (by GC, corrected for water)	99.7 % min.	99.9 %
Ultraviolet Absorbance (1.00-cm cell vs. water):		
280 nm	0.05 max.	0.01
350 nm	0.01 max.	0.01
Residue after Evaporation	0.0005 % max.	< 0.0005 %
Water (by Karl Fischer titrn)	0.1 % max.	0.07 %
Physical Data (not specifications):		
Elutropic Value (on Al ₂ O ₃), e ¹	1.0	
Density, g/ml at 20°C	1.049	
Polarity Index (1)	6.2	
Solvent Group (1)	4	
(1) Snyder, L.R., J. Chromatography, 92,223-230 (1974)		
For Laboratory, Research or Manufacturing Use		
IMPORTANT: Material will freeze if stored below 17°C (63°F).		
Country of Origin:	USA	

ISO Phillipsburg, NJ 9001:2000 & 14001:2004
Palo Alto, CA 9001:2000
Mexico City, Mexico 9001:2000
Deventer, Holland 9001:2000 & 14001:1991
Selangor, Malaysia 9001:2000

Marcy M. Matlock
Mary M. Matlock
Vice President & Regional Director

For questions on this Certificate of Analysis please contact Technical Services at 1-800-582-2537 or 908-859-2151
Mallinckrodt Baker, Inc. • 222 Red School Lane • Phillipsburg, NJ 08865 • Phone: 908.859.2151 • Fax: 908.859.6905

Lampiran 9. Sertifikat analisis asetosal

Bayer HealthCare
Consumer Care

ASLI



Bayer Hispania S.L. Sabino Alonso Fuyo 77 33934 La Felguera (Spain) Tel: +34 985678015		Certificate of Analysis		Page: 1 of 3 Date: 2011-10-21
Material: 00687891 Your Material:		ASS 180/840 KG Acetylsalicylic Acid crystal 180/840 (ASA 180/840)		
Batch:	FXN03RS	Country: Indonesia		
Date of manufacture:	2011-09-28	Delivery number: 82378606		
Date for retest:	2013-03-25	Order number: 784864		
Inspection lot:	040000903934	Insp. instruction: T.03.03 - 5 Specification: T.03.01 - 6		
Inspection	Acceptance criterion	UoM.	Result	
Material	crystalline substance		crystalline substance	
Colour	white		white	
Identity (IR)	must comply		complies	
Identity (react with sodium hydroxide)	must comply		complies	
Identity (react with ferric chloride)	must comply		complies	
Particle size >850 µm	max. 0.5	%	0.1	
Particle size <150 µm	max. 20	%	9	
Appearance of solution clarity (Ethanol)	clear		clear	
Appearance of solution colour (Ethanol)	colourless		colorless	
Appear.of solution clarity (Na ₂ CO ₃ -sol.)	clear		clear	
Appear.of solution colour (Na ₂ CO ₃ -sol.)	colourless		colorless	
Chloride	max. 140 ppm		<140	
Sulphate	max. 400 ppm		<400	
Sulphated ash	max. 0.05	%	0.00	

(lanjutan)

Bayer HealthCare
Consumer Care



Bayer Hispania S.L. Sabino Alonso Fueyo 77 33934 La Felguera (Spain) Tel: +34 985678015		Certificate of Analysis		Page: 2 of 3 Date: 2011-10-21
Material: 00687891 Your Material:		ASS 180/840 KG Acetylsalicylic Acid crystal 180/840 (ASA 180/840)		
Batch:	FXN03RS	Country: Indonesia		
Date of manufacture:	2011-09-28	Delivery number: 82378606		
Date for retest:	2013-03-25	Order number: 784664		
Inspection lot: 040000903934		Insp. Instruction: T.03.03 - 5 Specification: T.03.01 - 6		
Inspection	Acceptance criterion	UoM.	Result	
Heavy metals	max.10 ppm		<10	
Loss on drying	max. 0.1	%	0.0	
Impurity A	max. 1000	ppm	< 250	
Impurity B	max. 1000	ppm	< 250	
Impurity C	max. 1000	ppm	< 250	
Impurity D	max. 1000	ppm	< 250	
Impurity E	max. 1000	ppm	< 250	
Impurity F	max. 1000	ppm	< 250	
Any unspecified impurity	max. 500	ppm	< 250	
Related substances sum	max. 2500	ppm	< 250	
Free salicylic acid	max.500 ppm		<150	
Organic volatile impurities (USP)	must comply		*)	
Readily carbonizable substances	must comply		complies	
Assay i.d.s.	99.5 - 100.5	%	99.8	
Total aerobic microbial count (TAMC)	max. 1000	CFU/g	*)	

(lanjutan)

Bayer HealthCare
Consumer Care



Bayer Hispania S.L. Sabino Alonso Fueyo 77 33934 La Felguera (Spain) Tel: +34 985678015		Certificate of Analysis		Page: 3 of 3 Date: 2011-10-21	
Material: 00687891 Your Material:		ASS 180/840 KG Acetylsalicylic Acid crystal 180/840 (ASA 180/840)			
Batch: FXN03RS Date of manufacture: 2011-09-28 Date for retest: 2013-03-25		Country: Indonesia Delivery number: 82378606 Order number: 784664			
Inspection lot: 040000903934		Insp. instruction: T.03.03 - 5 Specification: T.03.01 - 6			
Inspection	Acceptance criterion	UoM	Result		
Total combined yeast/mould count (TYMC)	max. 100	CFU/g	*)		
Escherichia coli	Absence in 1 g		*)		
Bile-tolerant Gram-negative bacilli	Absence in 1 g		*)		
Release date (YYYYMMDD)	min. 0		20111005		

*) Test is carried out on spot-check basis. However we confirm compliance with the inspection and requirements also for this batch.

The batch complies with specification.


The batch complies with following specification:

Ph. Eur. Acetylsalicylic acid
Ph. Jap. Aspirin
USP Aspirin

Quality Assurance

Dr. Jorge J. Alvarez

Lampiran 10. Sertifikat galur hewan uji



Japan SLC, Inc.
3371-8 KOTOH-CHO, HAMAMATSU, SHIZUOKA, 431-11 JAPAN

CERTIFICATE OF STRAIN

We hereby certify the strain of the animals and their background as follows

Place of birth	Japan SLC, Inc. Inasa Production Facility
Purchaser:	
Shipping date	April 24, 2007
Monitoring result	

Details:

	Outbred Mouse Slc:ddY
Origin & History	NIH (Japan) ⇒ 1963, SLC

Japan SLC, Inc.

Shouhei Takagi, D.V.M
Director, Department of
Laboratory Animal Medicine
Shouhei Takagi

Lampiran 11. Skema kerja pelaksanaan uji analgesik

