

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK TUNGGAL DAN KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN MANGROVE (*Avicennia alba* Blume.) DAN DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*
Linnaeus, 1758) DENGAN METODE *WRITHING TEST***

(Skripsi)

Oleh

IIN IRIANINGSIH

2067021001



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

2024

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANALGESIK TUNGGAL DAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN MANGROVE (*Avicennia alba* Blume.) DAN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus* Linneaus, 1758) DENGAN METODE WRITHING TEST

Oleh

IIN IRIANINGSIH

Obat analgesik digunakan untuk menghilangkan dan mengurangi rasa nyeri akibat kerusakan jaringan, inflamasi, atau disfungsi sistem saraf. Upaya yang dilakukan untuk mengurangi rasa nyeri salah satunya dengan menggunakan obat golongan *Non Steroid Anti Inflammatory Drug* (NSAID). Penggunaan obat NSAID jangka panjang memiliki efek samping seperti gangguan saluran pencernaan, kerusakan ginjal, hati dan alergi kulit, sehingga diperlukan alternatif obat herbal yang memiliki efek samping yang lebih rendah, salah satunya yaitu dengan menggunakan daun mangrove (*Avicennia alba* Blume.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.). Senyawa metabolit sekunder flavonoid dan tannin ekstrak daun mangrove (*Avicennia alba* Blume.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat berfungsi sebagai analgesik dengan menghambat mediator inflamasi sehingga pelepasan asam arakidonat dan memblokir kerja enzim siklooksigenase. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas analgesik ekstrak etanol daun mangrove dan daun sirsak terhadap mencit jantan dengan metode *writhing test*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen *posttest only control design* menggunakan metode *writhing test*. Sampel penelitian terdiri dari 25 mencit terbagi dalam lima kelompok yakni kelompok kontrol negatif Na-CMC 0,5 %, kelompok kontrol positif asam mefenamat, kelompok dosis tunggal ekstrak etanol daun mangrove 250mg/kgBB, kelompok dosis tunggal ekstrak daun sirsak 250mg/kgBB, dan kelompok kombinasi ekstrak etanol daun mangrove dan sirsak 1:1 dilanjutkan seluruh perlakuan diinduksi asam asetat 1%. Data dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA dengan uji lanjut *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf signifikansi 5%. Hasil uji LSD yang diperoleh menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol daun mangrove (P1), ekstrak etanol daun sirsak (P2), dan kombinasi ekstrak etanol daun mangrove dan sirsak (P3) terhadap kontrol negatif ($p = 0,000$). Namun P3 menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif (asam mefenamat), sehingga dapat dikatakan bahwa daya analgesik P3 setara dengan kontrol positif. Kesimpulan pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun mangrove memiliki aktivitas analgesik dengan persentase proteksi geliat sebesar 30,5% dan persentase efektivitas analgesik sebesar 64,2%, ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas analgesik dengan persentase proteksi geliat sebesar 23,99% dan persentase efektivitas analgesik sebesar 41,21%, serta kombinasi ekstrak etanol daun mangrove dan daun sirsak memiliki aktivitas analgesik dengan persentase proteksi geliat sebesar 40,75% dan persentase efektivitas analgesik sebesar 87,93% .

Kata kunci : Analgesik, *Annona muricata* L, *Avicennia alba*

ABSTRACT

SINGLE AND COMBINATION ANALGESIC ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF MANGROVE LEAVES (*Avicennia alba* Blume.) AND SOURSOP LEAVES (*Annona muricata* Linn.) IN MALE MICE (*Mus musculus* Linneaus, 1758) USING THE WRITHING TEST METHOD

By

IIN IRIANINGSIH

Analgesic drugs are used to eliminate and reduce pain due to tissue damage, inflammation, or nervous system dysfunction. Efforts are made to relieve pain by using non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Long-term use of NSAIDs has side effects such as digestive tract disorders, kidney and liver damage, and skin allergies, so alternative herbal medicines are needed that have lower side effects, one of which is using mangrove leaves (*Avicennia alba* Blume.) and soursop leaves (*Annona muricata* L.). Secondary metabolite compounds of flavonoids and tannins, a combination of mangrove (*Avicennia alba*) and soursop leaf (*Annona muricata* L.) leaf extracts, function as an analgesic by inhibiting inflammatory mediators so that the release of arachidonic acid and the action of the cyclooxygenase enzyme are blocked. This research aims to determine the analgesic activity of mangrove leaf and soursop leaf extracts on male mice using the writhing test method. This research is a posttest-only control design experimental research using the writing test method. The research sample consisted of 25 mice divided into five groups, namely the negative control group Na-CMC 0.5% (K-), the positive control group mefenamic acid (K+), the third group a single dose of ethanol extract of mangrove leaves 250mg/kgBB, the fourth group a single dose of single soursop leaf extract 250mg/kgBB, the fifth group was a combination of ethanol extract of mangrove and soursop leaves 1:1 followed by all treatments induced by 1% acetic acid. The data were analyzed statistically using the ANOVA test with the Least Significance Difference (LSD) test at a significance level of 5%. The LSD test results obtained showed that there was a significant difference between administering mangrove leaf ethanol extract (P1), soursop leaf ethanol extract (P2), and a combination of mangrove and soursop leaf ethanol extract (P3) to the negative control ($p = 0.000$). However, P3 shows that there is no significant difference with the positive control (mefenamic acid), so it can be said that the analgesic power of P3 is equivalent to the positive control. This research concludes that the ethanol extract of mangrove leaves has analgesic activity with a writhing protection percentage of 30.5% and an analgesic effectiveness percentage of 64.2%, the soursop leaf ethanol extract has analgesic activity with a writhing protection percentage of 23.99%, and an effectiveness percentage analgesia of 41.21%, and the combination of ethanol extract of mangrove leaves and soursop leaves has analgesic activity with a stretching protection percentage of 40.75% and an analgesic effectiveness percentage of 87.93%.

Key words: Analgesic, *Annona muricata* L, *Avicennia alba* Blume.

**UJI AKTIVITAS ANALGESIK TUNGGAL DAN KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN MANGROVE (*Avicennia alba* Blume.) DAN DAUN
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*
Linnaeus, 1758) DENGAN METODE *WRITHING TEST***

Oleh

IIN IRIANINGSIH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA BIOLOGI**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



S1 BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

2024

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANALGESIK TUNGGAL
DAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
MANGROVE (*Avicennia alba* Blume.) DAN
DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA
MENCIT JANTAN (*Mus musculus* Linneaus,
1758) DENGAN METODE *WRITHING TEST***

Nama Mahasiswa : **Iin Irianingsih**
NPM : 2067021001
Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP.196603051991032001

Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd, M.Sc.
NIP.199105212019032020

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
FMIPA Unila

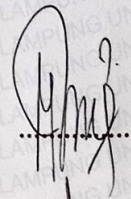
Dr. Jani Mastar, S.Si., M.Si
NIP.198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

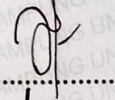
Ketua

: Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.



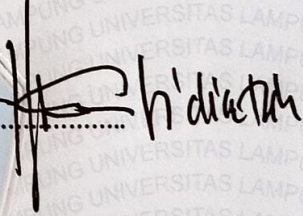
Sekretaris

: Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd, M.Sc.



Anggota

: Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Juli 2024

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Iin Irianingsih
NPM : 2067021001
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul :

“Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangrove (*Avicennia alba* Blume.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* Linneaus, 1758) Dengan Metode *Writhing Test*”

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Kemudian, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana ataupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung 26 Juli 2024
Yang Menyatakan,



Iin Irianingsih
2067021001

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandung Baru, 26 November 1999 sebagai anak pertama dari dua bersaudara oleh pasangan Ibu Sutasmi dan Bapak Subekan. Penulis menempuh pendidikan pertama di SDN 01 Bratasena Adiwarna pada tahun 2006-2012. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan tingkat menengah di SMP Negeri 01 Dente Teladas 2012- 2015.

Kemudian melanjutkan pendidikan tingkat atas Madrasah Aliyah Negeri (MAN) 1 Lampung Timur pada tahun 2015-2018. Setelah itu penulis melanjutkan di Pondok Pesantren Roudlotul Qur'an Metro 2018-2020. Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai salah satu mahasiswa di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur masuk prestasi non-akademik.

Penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) pada tahun 2021 – 2022 sebagai anggota bidang Ekspedisi. Penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung pada Bulan Januari- Februari 2023 dengan judul Penelitian **Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangrove (*Avicennia alba* Blume.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* Linneaus, 1758) Dengan Metode *Writhing Test*. Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari pada Juli-Agustus 2023 di Desa Sidoluhur, Kecamatan Bangunrejo, Kabupaten Lampung Tengah.**

MOTTO

Maka Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.

(QS Al-Insyirah, 94: 5-6)

Allah SWT akan mengangkat derajat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(QS Al Mujadalah:11)

Barang siapa yang bertaqwa kepada Allah, niscaya diberi-Nya kelapangan dan diberi – Nya rezeki yang tidak diduga-duga. Siapa yang bertawakal kepada Allah, niscaya dijamin- Nya, sesungguhnya Allah sangat tegas dalam perintah – Nya dan dialah yang mentakdirkan segala sesuatu.

(QS At-Thariq:2-3)

Ssesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, maka tidak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-sekali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia.

(QS Ar-Rad:11)

PERSEMBAHAN

Dengan segala rasa syukur kepada Allah SWT dan dengan kerendahan hati kupersembahkan karya ini kepada :

1. Kedua orang tuaku yang sudah sangat tulus memberikan semangat, doa, dan nasehat, dukungan dan materil yang sangat luar biasa selama ini.
2. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kepada kehadiran Allah SWT Tuhan yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia- Nya sehingga penulis dapat menempuh pendidikan strata satu dan berhasil menyelesaikan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung yaitu skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangrove (*Avicennia alba* Blume.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) Dengan Metode *Writhing Test*”. Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kendala dan kekurangan. Namun dengan ridho dari Allah SWT serta dari berbagai pihak yang terlibat kendala tersebut dapat teratasi dengan baik. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng, Heri Satria, S.Si., M.Si. Selaku Dekan FMIPA Unila.
2. Bapak Dr. Jani Master, M.Si, selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila.
3. Ibu Dr.Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA Unila.
4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan arahan, masukan dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Ibu Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II dan pembimbing akademik yang telah membimbing, memberikan arahan, masukan dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Dosen Pembahas yang telah membimbing, memberikan arahan, masukan dan kritik sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

7. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi, FMIPA Unila atas ilmu yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan Strata Satu (S1) di Jurusan Biologi FMIPA, Unila.
8. Seluruh Rekan Rumah Tahfidz Qur'an Mahasiswa yang selalu memberikan doa dan dukungan bagi penulis selama menempuh pendidikan Strata satu (S1).
9. Seluruh rekan angkatan 2020 Jurusan Biologi FMIPA Unila selama menempuh pendidikan S1.
10. Kedua orang tua penulis yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Julian Hanafi, selaku partner dan sahabat dalam suka duka, yang selalu menemani penulis menghadapi berbagai rintangan, berbagi pengalaman, memberikan ide, saran, dan bantuan, serta semangat selama penulis menempuh pendidikan S1 dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Bandar Lampung 17 Juli 2024

Iin Irianingsih
2067021001

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
RIWAYAT HIDUP	v
MOTTO	v
PERSEMBAHAN.....	v
SANWACANA	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
I. PENDAHULUAN.....	x
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat penelitian	4
1.4 Kerangka Pikir	5
1.5 Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Nyeri	8
2.1.1 Definisi Nyeri	9
2.1.2 Klasifikasi Nyeri	10
2.1.3 Mekanisme Nyeri	11
2.2 Analgesik	11
2.3 Uji Nyeri Akut Pada Hewan Coba	13
2.4 Metode <i>Writhing Test</i> (Geliat).....	16
2.5 Mencit (<i>Mus musculus</i> L).....	17

2.6 Mangrove (<i>Avicennia alba</i>).....	18
2.6.1 Klasifikasi Mangrove (<i>Avicennia alba</i>)	18
2.6.2 Morfologi Mangrove (<i>Avicennia alba</i>)	19
2.6.3 Potensial Bioaktif Mangrove (<i>Avicennia alba</i>)	20
2.7 Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	21
2.7.1 Klasifikasi Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	21
2.7.2 Morfologi Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	22
2.7.3 Kandungan Senyawa Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	23
III. METODE PENELITIAN	24
3.1 Waktu dan Tempat	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.3 Penentuan Populasi dan Sampel.....	25
3.3.1 Populasi.....	25
3.3.1 Sampel.....	25
3.4 Pelaksanaan Penelitian	27
3.4.1 Persiapan Hewan Uji.....	27
3.4.2 Persiapan Bahan Uji	28
3.4.3 Prosedur Pengujian Aktivitas Analgesik	31
3.4.4 Analisis Data.....	33
3.5 Diagram Alir Penelitian	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil Penelitian	35
4.1.1 Hasil Pengamatan Rata-Rata Jumlah Geliat	35
4.1.2 Hasil Analisis Data	36
4.2 Pembahasan	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok Penelitian.....	27
Tabel 2. Hasil Analisis Geliat Mencit yang Diberi Perlakuan	37
Tabel 3. Persentase Proteksi dan Efektivitas Analgesik Geliat Mencit	38
Tabel 4. Perhitungan Rata-rata Jumlah Geliat	61
Tabel 5. Hasil Normalitas Data	74
Tabel 6. Hasil Homogenitas Data	74
Tabel 7. Hasil Descriptives	75
Tabel 8. Hasil Uji Statistik ANNOVA.....	75
Tabel 9. Hasil Uji LSD.....	76
Tabel 10. Uji Duncan	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Nosisepsi	11
Gambar 2. Struktur Asam Mefenamat	12
Gambar 3. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	17
Gambar 4. Tanaman mangrove (<i>Avicennia alba</i>) dan morfologi daun,.....	19
Gambar 5. Tumbuhan sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) dan morfologi daun.....	23
Gambar 6. Diagram Alir Penelitian	34
Gambar 7. Perbandingan rata-rata geliat mencit tiap kelompok.....	36

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri didefinisikan sebagai sensasi yang tidak nyaman oleh perasaan emosional seseorang akibat terjadinya kerusakan aktual, potensial atau menggambarkan kondisi terjadinya kerusakan jaringan (Kurniawan, 2018). Rasa nyeri akan menyebabkan terbatasnya aktivitas yang dapat dilakukan oleh pasien dan berujung pada penurunan kualitas hidup. Telah terbukti tanpa pengelolaan nyeri yang optimal, penderita akan mengalami gangguan fisiologis maupun psikologis dan akhirnya akan meningkatkan angka morbiditas maupun mortalitas hidup seseorang (Chandra *et al.*, 2016).

Prevalensi nyeri kronis di dunia diperkirakan mencapai 20% dari populasi dunia, saat ini pasien yang mengalami keluhan nyeri di Eropa menjalani pengobatan ke rumah sakit sebanyak 55% (Darmadi *et al.*, 2020). Menurut Riskedasa tahun 2018, nyeri sendi berdasarkan tenaga kesehatan penduduk Indonesia umur ≥ 15 tahun tercatat sebesar 7,3% dengan prevalensi tertinggi di Provinsi Aceh sebesar 13,3% dan terendah di Provinsi Sulawesi Barat sebesar 3,2%. Prevalensi nyeri akibat cedera di Indonesia tercatat rata-rata sebesar 9,2%, mengalami peningkatan dari tahun 2007 hingga 2018, dengan prevalensi tertinggi pada Provinsi Sulawesi Tengah sebesar 13,8% dan terendah pada Provinsi Gorontalo sebesar 6,9% (Kemenkes RI, 2018).

Terapi yang digunakan untuk mengurangi rasa nyeri umumnya adalah obat golongan *Non Steroid Anti Inflammatory Drug* (NSAID) (WHO,

2012). NSAID merupakan obat yang bersifat antipiretik, analgesik, dan antiinflamasi, terkecuali asetaminofen yang merupakan antipiretik dan analgesik, tetapi tidak mempunyai aktivitas antiinflamasi. Penggunaan NSAID jangka panjang dapat menimbulkan efek samping lesi gastrointestinal, muntah darah (hematemesis) dan berak darah (melena) akibat pendarahan saluran pencernaan bagian atas (Soleha *et al.*, 2018). Berkaitan adanya efek samping jangka panjang yang timbul dari penggunaan NSAID, maka diperlukan upaya untuk meminimalisasikan dengan mengembangkan analgesik alternatif yang memiliki efek samping yang lebih rendah. Alternatif dengan pengobatan herbal telah dikenal sejak zaman dahulu di Indonesia dan banyak tanaman obat telah dilaporkan memiliki efek terapeutik terhadap penyakit (Auliyah *et al.*, 2019). Sebagai salah satu sumber tanaman obat, mangrove dipercaya masyarakat memiliki banyak khasiat seperti gatal-gatal gangguan pencernaan, rematik, gigitan hewan, sakit perut, penurun panas, dan lain-lain (Riwayanti, 2014). Beberapa jenis mangrove yang telah dimanfaatkan sebagai obat herbal adalah bakau (*Rhizophora apiculata*) sebagai obat bengkak, diare, dan muntah, api-api (*Avicennia alba*) sebagai obat luka koreng dan kontrasepsi, tancang merah (*Bruguiera exaristata*) dimanfaatkan sebagai anti tumor, pidada putih (*Sonneratia alba*) digunakan sebagai obat sakit perut (Henny *et al.*, 2017). *Avicennia alba* merupakan jenis spesies mangrove yang memiliki banyak manfaat dan sering digunakan oleh penduduk pesisir Indonesia (Mondal *et al.*, 2015). Selain itu, daun *Avicennia alba* digunakan sebagai obat malaria, anthelmintik, parasit, antimikroba, pencernaan dan tifoid di negara kamerun (Roger *et al.*, 2015).

Menurut penelitian Guntara *et al.*, (2019) daun mangrove kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid, dan tanin. Flavonoid dan saponin memiliki kemampuan analgesik dan antiinflamasi karena kedua senyawa tersebut menghambat enzim yang menginduksi terjadinya peradangan, terutama jalur metabolisme asam arakidonat, dan jalur sintesis prostaglandin. Pada penelitian dengan metode induksi asam asetat

didapat ekstrak metanolik daun *Avicennia alba* pada dosis 500 mg/kgBB secara signifikan ($p=0.01<0,05$) dapat menghambat nyeri pada mencit albino (Rahman *et al.*, 2011). Sedangkan, penelitian Purmata *et al.*, (2020) ekstrak mangrove *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki efek analgesik terhadap mencit jantan yang diinduksi nyeri asam asetat 0,7%.

Selain daun mangrove *Avicennia alba*, daun sirsak juga merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia yang memiliki banyak manfaat dan kegunaan. Daun sirsak mengandung senyawa steroid/terpenoid, flavonoid, kumarin, alkaloid, dan tanin (Puspitasari *et al.*, 2016). Senyawa golongan flavonoid dan alkaloid bertanggung jawab memberikan efek analgetik dengan menghambat biosintesis prostaglandin (Wemay, 2013). Berdasarkan penelitian Dju *et al.*, 2021 Dosis ekstrak tunggal etanol daun sirsak 250 mg/kgBB (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas analgesik pada tikus putih jantan yang diinduksi asam asetat dengan % proteksi geliat sebesar 48,16% dan efektivitas geliat sebesar 75,71%. Sedangkan pada penelitian Kuswinarti *et al.*, 2018 dengan menggunakan metode *hot plate* yang menunjukkan bahwa pada dosis 400mg/kgBB pada jam ke 4 induksi memberikan efek analgesik tertinggi. Pemberian ekstrak ini terbukti aman dan tidak menghasilkan efek toksik pada hewan dengan dosis rendah dan sedang tetapi dapat menyebabkan kerusakan ginjal yang mengarah pada gagal ginjal dengan dosis yang lebih tinggi. Oleh karena itu, fungsi ginjal harus dimonitor dengan baik untuk pemakaian jangka panjang, serta harus dihindari selama kehamilan (Arthur *et al.*, 2011).

Kandungan flavonoid dan alkaloid yang terdapat pada daun mangrove dan kandungan flavonoid dan saponin pada daun sirsak memiliki aktivitas sebagai analgesik yang dapat menghambat kerja enzim dalam biosintesis prostaglandin yaitu pada lintasan *siklooksigenase*. Enzim tersebut merubah asam arakidonat kedalam bentuk yang tidak stabil (hidroperoksid dan endroperoksid) yang selanjutnya dimetabolisis

menjadi leukotrien, prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan. Bagian prostaglandin dan leukotrin bertanggung jawab terhadap gejala-gejala peradangan (Katzung, 2012). Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui efek analgesik tunggal dan kombinasi dari ekstrak etanol daun mangrove api-api dan daun sirsak sebagai analgesik dengan metode geliat (*writhing test*). Kombinasi ekstrak daun tanaman ini dapat memberikan efek sinergisme dan menurunkan dosis masing-masing obat. Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian berjudul “Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangrove *Avicennia alba* dan Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*) dengan metode *writhing test*.”

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- (1) Mengetahui efektivitas analgesik tunggal ekstrak etanol daun mangrove api-api (*Avicennia alba*) terhadap mencit (*Mus musculus*) dengan metode *writhing test*.
- (2) Mengetahui efektivitas analgesik tunggal ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap mencit (*Mus musculus*) dengan metode *writhing test*.
- (3) Mengetahui efektifitas kombinasi ekstrak etanol daun mangrove api-api (*Avicennia alba*) daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap mencit (*Mus musculus*) sebagai analgesik.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan manfaat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai kemampuan analgesik kombinasi ekstrak etanol daun mangrove api-api (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap mencit (*Mus musculus*) dengan metode *writhing test* sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomis daun mangrove api-api (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* Linn.)

1.4 Kerangka pikir

Nyeri didefinisikan sebagai pengalaman sensorik dan emosional yang berkaitan dengan kerusakan jaringan. Keadaan psikis sangat mempengaruhi nyeri, misalnya emosi dapat menimbulkan sakit kepala tetapi dapat juga menghindarkan sensasi rangsangan nyeri. Nyeri juga merupakan alarm untuk melindungi tubuh dari kerusakan jaringan yang parah. Rangsangan mekanis, kimiawi, atau fisik merupakan penyebab nyeri yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan melepaskan zat antara lain, histamin, leukotrin, dan prostaglandin. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh kelompok studi nyeri persatuan dokter spesialis syaraf Indonesia pada 14 rumah sakit pendidikan menunjukkan 25% dari total kunjungan menderita keluhan nyeri.

Salah satu alasan utama seseorang mencari pertolongan medis yaitu karena rasa nyeri. Untuk mengatasi rasa nyeri tersebut sebagian masyarakat menggunakan obat analgesik. Analgesik merupakan zat yang dapat mengurangi atau menghambat rasa nyeri tanpa kehilangan kesadaran. Nyeri ringan dapat diberikan analgesik perifer seperti parasetamol, asam mefanamat, asetosal, ibuprofen, ketoprofen dan sebagainya. Sedangkan nyeri sedang hingga berat dapat diberikan analgesik sentral yaitu obat analgesik golongan opioid seperti morfin, kodein, tramadol, methadone. Penggunaan obat analgesik menunjukkan angka yang tinggi, namun obat-obat tersebut memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti, gangguan saluran pencernaan, kerusakan ginjal, kerusakan hati, dan juga reaksi alergi pada kulit. Sehingga menjadi dorongan untuk mengembangkan analgesik alternatif dengan efektivitas yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah. Penelitian terhadap bahan alam telah banyak dilakukan untuk mengembangkan analgesik dengan aktivitas yang sama dengan efek samping yang lebih rendah. Salah satu bahan alam yang telah dilaporkan memiliki aktivitas analgesik adalah tanaman mangrove dan daun sirsak.

Mangrove *Avicennia* sp. memiliki berbagai manfaat sebagai obat bisul, penyakit kulit, kontrasepsi, gigitan ular, analgesik, antipiretik, anti fertilitas, anti inflamasi, anti ulkus, hepatoprotektif, anti diare, reumatik, anti bakteri, dan asma. Daun mangrove *Avicennia alba* terdapat banyak kandungan steroid, saponin, flavonoid, dan tanin. Kandungan senyawa yang terdapat pada daun mangrove *Avicennia alba* memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi dan analgesik yang dapat menghambat enzim yang menginduksi terjadinya peradangan, terutama jalur metabolisme asam arakidonat, dan jalur sintesis prostaglandin.

Daun sirsak merupakan produk alam yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang telah diketahui sebagai obat sakit pinggang, mengurangi rasa nyeri, gatal-gatal, reumatik, obat bisul, dan penurun panas.

Kandungan Senyawa bioaktif yang terdapat pada daun sirsak yaitu steroid/terpenoid, flavonoid, kumarin, alkaloid, dan tanin. Aktivitas senyawa flavonoid dan alkaloid mampu menghambat biosintesis prostaglandin yang memberikan efek analgesik. Sehingga kedua tanaman tersebut memiliki senyawa bioaktif berupa flavonoid yang dapat menghambat enzim biosintesis prostaglandin.

Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol mangrove *Avicennia alba* dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki efek analgesik terhadap mencit jantan yang diinduksi nyeri asam asetat 0,7%. Sedangkan pada penelitian dosis ekstrak etanol daun sirsak 250 mg/kgBB memiliki aktivitas analgesik pada tikus jantan yang diinduksi asam asetat dengan proteksi geliat sebesar 48,16 % dan efektivitas geliat sebesar 75,71%. Berdasarkan penelitian di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangrove *Avicennia alba* dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas analgesik sehingga pada penelitian ini menggunakan kombinasi ekstrak dua tanaman tersebut untuk mendapatkan

perbandingan dosis yang efektif sebagai analgesik sehingga dapat mengurangi efek samping dari penggunaan obat kimia.

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka berpikir di atas dibuat hipotesis sebagai berikut :

Pemberian ekstrak etanol daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) serta kombinasi ekstrak etanol daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat meningkatkan aktivitas analgesik pada mencit (*Mus musculus*) dengan metode *writhing test*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyeri

2.1.1 Definisi Nyeri

Menurut *International Association for the Study of Pain* (IASP) nyeri didefinisikan sebagai suatu pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan dan berhubungan dengan kerusakan jaringan aktual (O'Neil, 2008). Pada saat cedera, nyeri yang dirasakan diperantarai oleh serabut mielin A delta. Setelah cedera awal, sinyal tentang kerusakan jaringan akan berjalan lambat dengan diperantarai oleh serabut C tak bermielin (Sherwood, 2014). Nyeri erat berkaitan dengan produksi beberapa bahan kimia dalam tubuh yakni prostaglandin, histamin, bradikinin, serotonin, dan kalium ion (Guyton *et al.*, 2014). Semua mediator nyeri itu merangsang reseptor nyeri (nosiseptor) di ujung-ujung saraf bebas di kulit, mukosa serta jaringan lain dan demikian menimbulkan antara lain reaksi radang dan kejang-kejang. Nosiseptor ini juga terdapat di seluruh jaringan dan organ tubuh, terkecuali di sistem saraf pusat. Dari tempat ini rangsangan disalurkan ke otak melalui jaringan lebat dari tajuk-tajuk neuron dengan sangat banyak sinaps melalui sumsum tulang belakang, sumsum lanjutan dan otak tengah, dari impuls talamus kemudian diteruskan ke pusat nyeri di otak besar, sehingga impuls dirasakan sebagai nyeri (Tjay dan Rahardja, 2007). Cedera pada sel-sel tubuh akan menghasilkan pelepasan membran fosfolipid yang diubah oleh enzim fosfolipase ke asam arakidonat. Enzim *cyclooxygenase* II (COX-2) bekerja pada asam arakidonat untuk menghasilkan prostaglandin proinflamasi (Katzung, 2012).

2.1.2 Klasifikasi Nyeri

Berdasarkan patofisiologinya, nyeri terbagi menjadi :

1. Nyeri Akut

Nyeri akut adalah nyeri dengan durasi sensasi nyeri pendek dan bertahan kurang dari 3 hingga 6 bulan. Nyeri akut dideskripsikan sebagai nyeri yang terjadi setelah cedera akut, penyakit atau intervensi bedah, dan memiliki awitan yang cepat dengan intensitas yang bervariasi (ringan sampai berat) serta berlangsung kurang dari enam bulan (Mubarak *et al.*, 2015). Nyeri akut biasanya dapat diobati dengan baik menggunakan obat golongan analgesik, NSAID atau opioid (Khotib, 2006).

Nyeri akut pada perlukaan biasanya hilang seiring sembuhnya perlukaan. Nyeri akut meliputi nyeri nosiseptif, nyeri somatis atau visceral pramedikasi, nyeri pra dan pasca operasi, nyeri pasca traumatis, nyeri pasca melahirkan, sakit kepala akut, nyeri pada neuralgia terminal (*Tic Doloroux*), nyeri intervensional (akibat prosedur diagnostik dan terapeutik), pankreatitis dan nyeri kolik lainnya (Kumar dan Svaha, 2011).

2. Nyeri Kronis

Nyeri kronis bertahan lebih lama hingga tenggang waktu dari 6 bulan dan berkisar antara intensitas ringan hingga berat. Nyeri ini muncul karena adanya kerusakan atau perubahan patofisiologi pada sistem saraf, baik sentral maupun perifer. Nyeri kronis yang berkepanjangan dapat menimbulkan berbagai perubahan yang signifikan dalam hal perilaku, kemampuan dan gaya hidup. Nyeri kronis yang diasosiasikan dengan keganasan meliputi nyeri akibat kanker, AIDS, mutipel, sklerosis, anemia sel sabit, obstruksi paru yang parah, gagal jantung yang parah dan parkinson. Nyeri kronis yang disebabkan oleh inflamasi dapat berlanjut mejadi nyeri nueropati karena adanya lesi pada saraf

perifer maupun saraf pusat yang disebabkan oleh sensitisasi terus-menerus dari mediator inflamasi. Keadaan nyeri dapat bertambah parah seiring adanya stres, emosi, dan kondisi fisik namun dapat mereda oleh relaksasi (O'Neil, 2008).

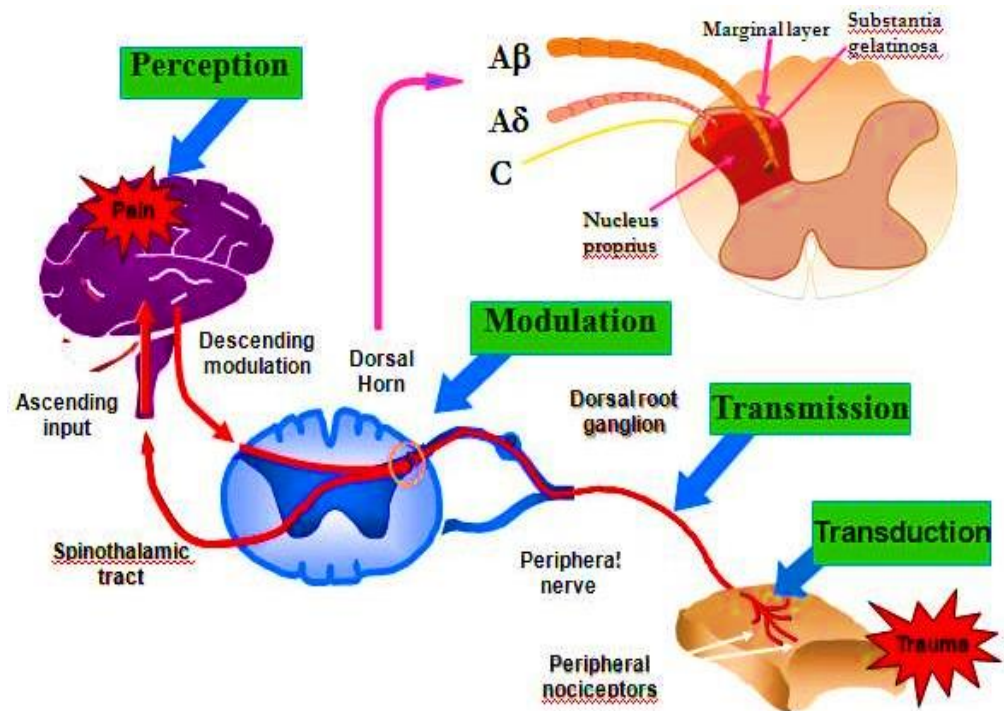
2) Mekanisme Nyeri

Tiga hal penting dalam mekanisme nyeri yakni: mekanisme nosisepsi, perilaku nyeri, dan plastisitas nyeri (Soenarjo dkk, 2013).

1. Mekanisme nosisepsi
 - a) Proses transduksi adalah rangsang noksius dapat berasal dari bahan kimia, seperti yang terjadi pada proses inflamasi menimbulkan sensitisasi dan mengaktivasi reseptor nyeri. Bisa juga diartikan sebagai perubahan berbagai stimuli oleh reseptor menjadi impuls listrik yang mampu menimbulkan potensial aksi akhiran saraf.
 - b) Proses transmisi adalah penyaluran impuls saraf sensorik dilakukan oleh serabut A delta bermyelin dan serabut C tak bermyelin sebagai neuron pertama, kemudian dilanjutkan traktus spinothalamikus sebagai neuron kedua dan selanjutnya di daerah thalamus disalurkan sebagai neuron ketigasensorik pada area somatik primer di korteks serebri.
 - c) Proses modulasi terjadi pada sistem saraf sentral ketika aktivasi nyeridapat dihambat oleh analgesik endogen seperti *endorphine*, sistem inhibisi sentral serotonin dan noradrenalin, dan aktivitas serabut A beta.
 - d) Proses persepsi merupakan hasil akhir proses interaksi yang kompleks, dimulai dari proses transduksi, transmisi, dan modulasi sepanjang aktivasi sensorik yang sampai pada area primer sensorik korteks serebri dan masukan lain bagian otak yang pada gilirannya menghasilkan suatu perasaan subyektif yang dikenal sebagai persepsi nyeri atau disebut dengan kesadaran akan

adanya nyeri.

Mekanisme nosisepsi dalam tubuh ditampilkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Nosisepsi (Soenarjo dkk, 2013).

2.2 Analgesik

Analgesik atau obat penghilang rasa nyeri adalah zat-zat yang mengurangi atau menghalau rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (perbedaan dengan anestetika umum) (Tjay dan Rahardja, 2007).

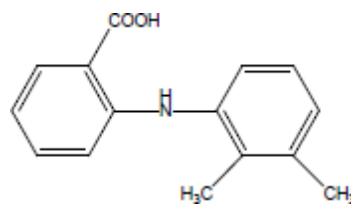
Atas dasar kerja farmalogisnya, analgesik dibagi dalam dua kelompok besar yaitu :

1) Analgesik Non-Narkotika

Analgesik non-narkotika adalah obat penghalang nyeri atau zat-zat yang mengurangi atau menghalau rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Obat-obat ini mampu meringankan atau menghilangkan rasa nyeri tanpa memengaruhi sistem saraf pusat atau menurunkan kesadaran, juga tidak menimbulkan ketagihan. Oleh karena itu tidak

hanya digunakan sebagai obat analgesik, melainkan juga pada demam dan peradangan seperti encok (Tjay dan Rahardja, 2007).

Asam mefenamat merupakan contoh analgesik non-narkotika dan termasuk golongan obat NSAID. Asam mefenamat merupakan turunan asam antranilat yang berkhasiat sebagai analgesik, antipiretik dan antiinflamasi yang cukup baik meskipun sifat anti-inflamasinya dianggap kecil. Asam mefenamat digunakan pada nyeri ringan sampai sedang termasuk sakit kepala, sakit gigi, nyeri pasca operasi dan *postpartum*, dismenorea, gangguan muskuloskeletal dan sendi seperti osteoarthritis dan rheumatoid arthritis, dan menorrhagia (Tjay dan Rahardja, 2007; Sweetman, 2009). Struktur asam mefenamat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Asam Mefenamat (Sweetman, 2009).

Asam mefenamat merupakan analgesik yang berkhasiat lemah sampai sedang yang diindikasikan pada nyeri ringan sampai sedang. Kerja analgesik lemah mempengaruhi proses sintesis prostaglandin dengan menghambat sistem siklooksigenase yang menyebabkan asam arakhidonat dan asam-asam C_{20} tak jenuh lain menjadi endoperoksida siklik. Endoperoksida siklik merupakan prazat dari prostaglandin serta prazat dari tromboksan A_2 dan prostasiklin. Prostaglandin terlibat dalam terjadinya nyeri dan demam serta reaksi radang. Sehingga dengan dihambatnya siklooksigenasi, sintesis prostaglandin menjadi terhambat (Mutschler, 2007).

Dosis oral asam mefenamat biasa adalah 500 mg tiga kali sehari. Untuk pemula dosis awal 500 mg oleh 250 mg setiap 6 jam sesuai kebutuhan. Asam mefenamat digunakan dalam pengobatan rasa sakit

ringan sampai rasa sakit sedang pada orang dewasa dan remaja berusia 14 tahun atau lebih, dan dianjurkan tidak diberikan lebih dari 7 hari (Sweetman, 2009).

2) Analgesik Narkotika

Analgesik narkotik disebut juga opioida adalah obat-obat yang daya kerjanya meniru opioid endogen dengan memperpanjang aktivasi dari reseptor- reseptor opioid. Zat-zat ini bekerja terhadap reseptor opioid khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respons emosional terhadap nyeri berubah (Tjay dan Rahardja, 2007). Berdasarkan kerjanya pada reseptor, obat golongan opioid dibagi menjadi agonis penuh (kuat) seperti morfin, agonis parsial (agonis lemah sampai sedang) seperti kodein, campuran agonis dan antagonis seperti buprenorfin, serta antagonis seperti nalorfin (Dewoto, 2012).

2.3 Uji Nyeri Akut pada Hewan Coba

Uji nyeri terhadap stimulus durasi pendek atau nyeri akut merupakan jenis uji yang paling sering dilakukan. Uji ini dinilai cukup mendekati keadaan alamiah sehingga stimulus yang diberikan berupa suhu, mekanik, dan kimiawi (Conn *et al.*, 2008). Stimulus *noxious* diberikan dalam jangka waktu pendek dan dapat dihindari oleh hewan coba, sehingga meminimalisasi kemungkinan pelanggaran etik. Prinsip umum uji nyeri akut pada hewan coba yakni pemberian stimulus, dan kuantifikasi respon behavioral berupa refleks menghindar maupun refleks rekuperatif (Fish *et al.*, 2011). Berikut berbagai metode uji nyeri akut yang dikelompokkan berdasarkan stimulus *noxious* yang diberikan:

1. Stimulus Suhu

- *Tail-flick*

Dilakukan fiksasi/*restrain* pada hewan coba dengan ekor terjulur pada bidang datar. Setengah distal ekor diberi stimulus termal

berasal dari kumparan logam atau *coil* yang dipanaskan dengan suhu dijaga konstan. Normalnya hewan coba merespon dengan refleks berupa gerakan hentakkan ekor. Durasi antara waktu dengan kontak ekor dengan stimulus dan waktu reflek menghindar dicatat sebagai periode latensi (Mogil, 2009).

- *Tail-immersion*

Metode ini mirip dengan *tail-flick*, hanya saja stimulasi termal yang diberikan pada 3-5 cm distal ekor berasal dari air panas (51° - 55°C) (Mogil, 2009).

- *Hot-plate*

Hewan coba ditempatkan di atas *hot-plate* atau permukaan panas dengan suhu dijaga antara 50°-56°C, dibiarkan bebas tanpa fiksasi. Tetapi area lokomosi dibatasi oleh dinding silinder *Plexiglas*. Target stimulus termal yakni telapak kaki belakang hewan coba. Reaksi terhadap nyeri dapat berupa gerakan menjilat telapak kaki, bergetar, atau meloncat. Periode latensi dicatat sebagai data (Mogil, 2009).

- *Cold Stimuli*

Termasuk metode yang jarang digunakan dibandingkan dengan metode uji nyeri stimulus termal. Pada uji ini, aseton diaplikasikan pada telapak kaki hewan coba. Ketika kontak dengan kulit aseton akan terpavorasi dan menimbulkan sensasi dingin. Reaksi hewan coba meliputi refleks menghindar, bergetar, dan menjilat telapak kaki (Fish *et al.*, 2011).

2. Stimulus Mekanik

- *Tail – Clip*

Hewan coba difiksasi dan bagian proksimal ekor dijepit erat terhadap suatu objek. Periode latensi terhadap reaksi hewan coba berupa

menjilat, menggigit maupun berusaha meraih ekor dicatat (Fish *et.al.*, 2011).

- *Von Frey Filamen*

Hewan coba diletakkan di dalam area berdinding *plexiglas*, dengan permukaan lantai berupa jaring-jaring kawat dan dibiarkan bebas tanpa fiksasi. Kemudian serat nilon diselipkan melalui celah jaring-jaring kawat dan ditempelkan pada plantar belakang hewan uji coba. Respon yang muncul dapat berupa refleks menghindari dari serat nilon dan menjilat plantar dihitung dan dicatat (Fish *et al.*, 2011).

3. Stimulus Kimiawi

- Formalin

Hewan coba diberi injeksi subkutan formalin 1-5% 20-50 µl di bagian dorsal, atau di bagian plantar kaki belakang. Formalin menyebabkan inflamasi, sehingga hewan coba bereaksi dengan menjilat, menggigit ataupun mengangkat telapak kaki. Pengamatan dilakukan hingga 40-90 menit pascainjeksi formalin. Pengamatan terhadap reaksi dibagi menjadi fase awal/akut yang merupakan respon dari injeksi formalin terhadap nosiseptor, dan fase akhir yakni respon terhadap sensitisasi sentral serta inflamasi perifer (Fish *et al.*, 2011).

- *Writhing Test* (Geliat)

Metode ini bertujuan menguji nyeri viseral. Hewan coba diberi injeksi intraperitoneal asam asetat glacial 0,1-0,9% dengan dosis 10 ml/kg. Adanya reaksi berupa geliat atau *writhing* (gerakan meregangkan torso dengan punggung membentuk lekukan ke arah ventral) dihitung (Fish *et al.*, 2011).

2.4 Metode *Writhing Test* (Geliat)

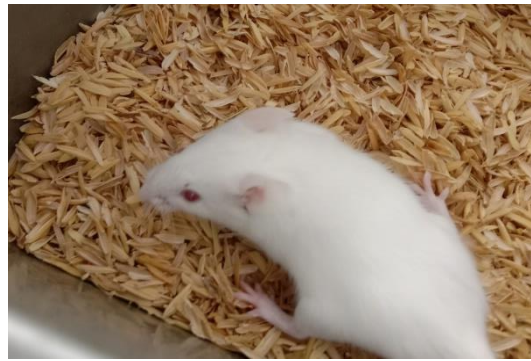
Metode geliat adalah metode kimia yang digunakan untuk menginduksi nyeri dari perifer dengan menyuntikan zat iritan seperti fenilquinon, asam asetat pada hewan uji (Gawade, 2012). Uji geliat dipilih karena merupakan uji yang paling banyak digunakan untuk mengukur respon aktivitas analgesik pada saraf perifer dengan menggunakan rangsangan kimiawi berupa injeksi asam asetat intraperitoneal. Asam asetat digunakan karena dapat menyebabkan kerusakan jaringan sekitar untuk sementara waktu, sehingga rangsangan akan dibawa ke otak dan diinterpretasikan sebagai rasa nyeri perifer oleh serabut saraf tipe C (Guyton dan Hall, 2011).

Menggeliat merupakan respons terang-terangan terhadap nyeri hebat yang disebabkan oleh prinsip iritan melalui nosiseptor yang ditandai episode retraksi perut dan peregangan tungkai belakang. Sinyal yang dikirimkan ke sistem saraf pusat sebagai respons terhadap nyeri akibat iritasi menyebabkan pelepasan mediator seperti prostaglandin yang berkontribusi terhadap peningkatan sensitivitas terhadap nosiseptor (Gawade, 2012). Metode ini dilakukan dengan memberikan suspensi uji asam asetat pada setiap hewan coba secara intraperitoneal dan akan menimbulkan rasa nyeri disebabkan karena rasa sakit akibat iritasi yang berat pada mukosa membran rongga perut sehingga kedua kaki tertarik ke belakang, meregang, dan perut menyentuh dasar permukaan lantai (Syamsul *et al.*, 2016). Pengamatan geliat ini dilakukan selama 60 menit setiap 5 menit (Nurhidayati *et al.*, 2022).

2.5 Mencit (*Mus musculus* L.)

Menurut Lane-Petter, (1976) dan Ungerer, (1985) klasifikasi mencit sebagai berikut :

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Cordata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: <i>Mus</i>
Jenis	: <i>Mus musculus</i> Linneaus



Gambar 3. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Pada Gambar 3. mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan khususnya dalam penelitian biologi yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Hasanah dkk, 2017). Mencit jantan secara umum digunakan sebagai hewan uji karena mencit jantan memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil dibanding mencit betina. Mencit jantan dengan usia 2-3 bulan merupakan mencit dewasa muda yang memiliki keadaan fisiologis yang optimum (Indarwati *et al.*, 2015). Mencit mempunyai berat badan 18-20 gram pada umur 4 minggu dan 30-40 gram pada umur 6 minggu atau lebih (Mutiarahmi *et al.*, 2021).

2.6 Mangrove (*Avicennia alba*)

2.6.1 Klasifikasi Mangrove (*Avicennia alba*)

Mangrove dengan spesies *Avicennia alba* ini memiliki nama lokal mangrove api-api, mangi-mangi putih, boak, koak, dan sia-sia (Gambar 4). Mangrove ini dapat ditemukan di seluruh Indonesia, dari India sampai Indo Cina, Malaysia hingga ke Filipina, dan Australia tropis (Noor *et al.*, 2006). Salah satu ciri khas dari spesies *Avicennia alba* ini adalah pada bagian belakang daun bewarna pucat atau keputihan, sehingga memiliki nama lokal mangrove api-api putih. Pemanfaatan *Avicennia alba* ini selain buahnya bisa dimakan biasanya sebagai kayu bakar dan bahan bangunan bermutu rendah. Sedangkan getahnya digunakan untuk mencegah kehamilan. Keberadaan *Avicennia alba* yang melimpah ini tentu sangat potensial (Noor *et al.*, 2006).

Adapun klasifikasi mangrove api-api menurut Worms (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Asteranae
Order	: Lamiales
Family	: Acanthaceae
Genus	: <i>Avicennia</i>
Spesies	: <i>Avicennia alba</i> Blume.



Gambar 4. Tanaman mangrove (*Avicennia alba*) dan morfologi daun,

2.6.2 Morfologi Mangrove (*Avicennia alba*)

Mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) memiliki anatomi belukar atau pohon yang tumbuh menyebar dengan ketinggiannya mencapai 25 meter. Komunitas pohon membentuk sistem perakaran horizontal dan akar nafas yang rumit. Umumnya akar nafas tersebut tipis, berbentuk jari (atau bentuknya seperti asparagus) yang ditutupi oleh lentisel. Kulit kayu luar berwarna keabuan atau gelap kecoklatan, beberapa ditumbuhi tonjolan kecil, namun sebagian yang lain memiliki permukaan yang halus. Bagian batang mangrove yang tua terkadang ditemukan serbuk tipis.

Avicennia alba memiliki daun dengan permukaan halus, berwarna hijau mengkilat pada bagian atas sedangkan bagian bawah daun pucat. Unit daunnya sederhana dimana letaknya berlawanan. Daun berbentuk lanset yakni seperti daun akasia namun terkadang elips dengan ujung meruncing (Gambar 4). Ukuran daun rata-rata yakni 16 x 5 cm (Noor *et al.*, 2006). Menurut Tomlinson (1994), bahwasanya morfologi daun sebagian besar tanaman bakau dapat diperhatikan dari perkembangan biasa jaringan “tidak bewarna” atau dari segi penyimpanan airnya, serta ketiadaan selubung vena sklerotik yang

nyata. Meskipun demikian daun dari genus bakau yang berbeda dapat dengan mudah dibedakan berdasarkan fitur anatomisnya.

Bunganya berbentuk trisula dan bergerombol berwarna kuning hampir di sepanjang ruas tandan yang terletak diujung atau pada tangkai bunga. Bunga ini memiliki formasi bulir berkisar antara 10-30 bunga pertandan. Daun mahkota daun berjumlah 4 buah berwarna kuning cerah dengan ukuran berkisar antara 3 – 4 mm. Bunga ini memiliki 5 buah kelopak bunga dan 4 buah benang sari. Buahnya berbentuk kerucut seperti cabai atau kacang mente berwarna hijau muda kekuningan dan terdapat semacam bulu halus pada permukaan buah. Buah *Avicennia alba* memiliki ukuran 4 x 2 cm (Noor *et al.*, 2006).

Akar tanaman ini memiliki sistem akar lateral yang luas dan membentang beberapa meter tepat di bawah permukaan tanah sehingga akar pernapasan tersebut berbentuk seperti pensil atau pneumatophores yang menonjol secara vertikal keluar dari lumpur. Akar ini membantu pohon untuk mendapatkan oksigen yang cukup. Hal ini dikarenakan spesies *Avicennia alba* memiliki kecenderungan untuk hidup di substrat lumpur dimana lumpur merupakan substrat yang miskin oksigen. Spesies ini juga mampu mengeluarkan garam melalui kelenjar garam di daunnya. Sekresi garam terjadi pada sebuah celah kecil antara kutikula kelenjar dan daun *Avicennia alba* (Noor, *et al.*, 2006).

2.6.3 Potensial Bioaktif Mangrove (*Avicennia alba*)

Pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan mangrove (terutama jenis pohon dari jenis marga *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia* dan *Sonneratia*) secara tradisional oleh masyarakat pesisir di Indonesia telah lama berlangsung sejak tumbuhan mangrove tersebut merupakan pemanfaatan tingkat awal dari sumberdaya manusia berdasarkan pengetahuan lokal masyarakat yang sampai saat ini tidak

terdokumentasikan secara baik. Khusus untuk jenis api-api (*Avicennia* sp.), masyarakat pesisir di Indonesia sudah sejak lama memanfaatkannya secara tradisional untuk memenuhi kebutuhan pangan seperti obat-obatan, kayu bakar, dan konstruksi bangunan rumah dan pakan ternak (Kusmana *et al.*, 2009).

Komponen fitokimia utama yang terkandung pada daun *Avicennia alba* antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, steroid, tannin, dan fenol. Banyak bahan kimia polifenol yang ditemukan pada tanaman mangrove termasuk tannin dan flavonoid, terbukti memiliki beragam sifat antidiare dan analgesik. Senyawa flavonoid dan triterpen pentasiklik dapat bertindak sebagai analgesik pada tikus (Roome *et al.*, 2008). Menurut penelitian Saikat *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa daun *Avicennia alba* dapat menyebabkan aktivitas analgesik, antidiare, antiinflamasi, dan antidiabetik pada dosis hingga 500mg/kg BB.

2.7 Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.7.1 Klasifikasi Sirsak (*Annona muricata* L.)

Adapun klasifikasi tanaman sirsak menurut Sunarjono, (2005) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Sub divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledone
 Ordo : Polycarpiceae
 Famili : Annonaceae
 Genus : *Annona*
 Spesies : *Annona muricata* Linn (Sirsak)

Sirsak (*Annona muricata*) adalah tumbuhan yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Di berbagai daerah Indonesia dikenal sebagai *nangka sebrang*, *nangka landa* (Jawa), *nangka walanda*, *sirsak* (Sunda), *nangka buris* (Madura), *srikaya jawa* (Bali), *deureuyan* belanda (Aceh), *durio ulondro* (Nias), *durian betawi* (Minangkabau), serta *jambu landa* (di Lampung). Penyebutan "belanda" dan variasinya menunjukkan bahwa sirsak (dari bahasa Belanda: *zuurzak*, berarti kantung asam) didatangkan oleh pemerintah kolonial Hindia-Belanda ke Nusantara, yaitu pada abad ke-19. Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai pohon sirsak yang banyak (Adjie, 2011).

2.7.2 Morfologi Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sirsak merupakan tanaman pohon setinggi 5-6 m, berdaun hijau, dan menghasilkan buah berbentuk hati yang dapat dikonsumsi. Di Indonesia tanaman sirsak menyebar dan tumbuh baik di dataran rendah beriklim kering dan daerah basah dengan ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Daun sirsak berwarna hijau berukuran panjang 6-18 cm dan lebar 3-7 cm, bertekstur kasar, berbentuk bulat telur, ujung daun lancip dengan tangkai daun 3-10 mm, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun kusam (Gambar 5). Bunga tanaman sirsak merupakan bunga tunggal yang muncul dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon, buah sirsak berasal dari satu bunga dengan bakal buah yang membentuk satu buah, memiliki buah sisik halus, daging buah berwarna putih dan berserat dengan banyak biji berwarna coklat kehitaman, dan permukaan yang mengkilap. Akar berwarna coklat muda, bulat dengan perakaran tunggang (Taylor, 2005).



Gambar 5. Tumbuhan sirsak (*Annona muricata* L.) dan morfologi daun

2.7.3 Kandungan Senyawa Sirsak (*Annona muricata* L.)

Menurut hasil uji fitokimia, infusa daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Disebutkan bahwa kandungan daun sirsak adalah senyawa quercetin 3-O- α -rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 6 $\rightarrow$)- β sophoro, kaempferol dengan bioaktivitas sebagai antioksidan⁶ dan juga mengandung quercetin (George *et.al.*, 2012). Senyawa flavonoid berperan sebagai analgetik, yang mekanisme kerjanya adalah menghambat kerja enzim siklooksigenase, dengan demikian akan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat sehingga mengurangi rasa nyeri. Tanin berperan dalam mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh bakteri dan jamur serta saponin berperan sebagai pemacu pembentukan pembuluh darah baru dan kolagen pada saat penyembuhan luka (Wulandari dan Aznam, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 – Januari 2024. Dimulai dengan tahap aklimatisasi hewan uji yang dilaksanakan di Unit Pemeliharaan Hewan Uji di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selanjutnya untuk determinasi daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) serta membuat ekstrak etanol kombinasi daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Tahapan berikutnya yaitu perlakuan dan pengamatan dari hewan mencit dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu satu set kandang mencit (berukuran 20 cm x 30 cm, penutup berbahan kawat, wadah pakan dan wadah minum sebanyak 25 buah), timbangan analitik untuk menimbang berat badan mencit, suntik sonde 5 ml

sebanyak 5 buah, spuit injeksi 1 ml, corong *buncher*, blender, oven, *rotary evaporator*, gelas ukur, erlenmayer, botol sampel, *waterbath*, pinset, gunting, stopwatch, spatula, spidol, kertas saring, tampah, sarung tangan dan masker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hewan uji berupa mencit jantan sebanyak 25 ekor, asam asetat 1%, etanol 70%, asam mefenamat dalam Natrium karbosimetil selulosa (Na – CMC) 0,5%, larutan Na – CMC 0,5%, ekstrak kombinasi daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata*) serta aquades.

3.3 Penentuan Populasi dan sampel

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan untuk penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*) berjumlah 25 ekor dengan kriteria sehat, berumur 3-4 bulan dengan berat badan $\pm 20-30$ g. Mencit diperoleh dari Gang Patriot No.52, Penengahan, Kecamatan Kedaton, Bandar Lampung.

3.3.2 Sampel

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan 25 ekor mencit sebagai hewan uji, metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Jumlah ulangan dilakukan berdasarkan rumus federer (1963) yaitu :

$$(t-1)(n-1) > 15$$

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyak kelompok

Besar sampel yang dilakukan :

$$(5-1)(n-1) > 15$$

$$4(n-1) > 15$$

$$4n-4 > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 4,75-5$$

$$n > 5 \text{ tiap kelompok}$$

Jadi sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor. Oleh karena itu, penelitian kali ini menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. kelompok pertama adalah kelompok kontrol negatif. Kelompok kedua adalah kelompok kontrol positif. Kelompok ketiga, keempat dan kelima adalah kelompok perlakuan. Dosis ekstrak mangrove digunakan mengacu pada penelitian Rahman *et al.*, (2011) yaitu dosis 250 mg/kgBB untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dosis ekstrak daun sirsak mengacu pada penelitian Dju *et al.*, (2021) yaitu dosis 250 mg/kgBB untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*). selanjutnya seluruh dosis tersebut dikonversikan ke mencit. Kelompok perlakuan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Penelitian

No	Perlakuan (P)	Uraian	Keterangan
1	K-	Mencit diberi induksi Na- CMC 0,5%	Kontrol negatif
2	K+	Mencit diberi suspensi asam mefanamat 1 %	Kontrol positif
3	P1	Mencit diberi ekstrak daun mangrove dengan dosis 250 mg/kgBB	Perlakuan
4	P2	Mencit diberi ekstrak daun sirsak dengan dosis 250 mg/kgBB	Perlakuan
5	P3	Mencit diberi kombinasi daun mangrove dan sirsak dengan dosis 250 mg/kgBB : 250 mg/kgBB	Perlakuan

Setiap ekor disuntikkan 0,5 ml/20gBB mencit asam asetat 1 %
secara intraperitoneal (i.p) (Wahyudi dan Gunardi, 2008)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Uji

Sebelum diberi perlakuan, seluruh mencit diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi pakan secara teratur pada bak berbahan plastik berukuran 20x30 cm dengan penutup berbahan kawat yang dilengkapi wadah pakan dan wadah air minum. Aklimatisasi ini dilakukan dengan tujuan agar mencit terbiasa dengan tempat tinggal yang baru dan tidak mengalami stres. Kemudian sebelum perlakuan dipuaskan selama 18 jam dan tetap diberi minum (Sasongko *et al.*, 2016).

3.4.2 Persiapan Bahan Uji

1. Pengambilan sampel

Sampel bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L). Kriteria inklusi dari daun mangrove dan daun sirsak yang digunakan adalah daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, diambil pada tangkai ke 3-4 dari pucuk daun, berwarna hijau, segar, tidak berlubang, dan bebas dari hama. Sementara kriteria eksklusi yaitu, daun yang layu, tidak segar, berwarna kuning atau coklat, berlubang dan berjamur. Sehingga dalam penelitian ini menggunakan sampel yang memenuhi kriteria inklusi. Sampel Daun mangrove (*Avicennia alba*) diperoleh dari Hutan Mangrove Peterongan Desa Gebang, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten pesawaran, Bandar Lampung sebanyak 1 kg. Sedangkan daun sirsak (*Annona muricata*) diperoleh dari Kecamatan Teluk Betung Barat, Bandar Lampung sebanyak 1 kg.

2. Determinasi Tanaman

Determinasi daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L) dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dengan tujuan untuk membuktikan kebenaran bahan daun mangrove dan daun sirsak. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa hasil uji yang digunakan adalah tanaman mangrove (*Avicennia alba*) dan sirsak (*Annona muricata* Linn.). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

3. Pengolahan Sampel

Daun mangrove (*Avicennia alba*) dan daun sirsak (*Annona muricata* L) disortasi basah untuk membersihkan daun dari bagian daun yang sudah tua bersama tangkainya. Selanjutnya daun dilakukan pencucian dan dikeringkan selama 2 hari. Setelah kering dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50⁰ C selama 3 jam. Simplisia disortasi kembali dari pengotor yang tidak memenuhi syarat seperti bagian daun yang hangus atau belum cukup kering. Kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Indriani *et al.*, 2020).

4. Pembuatan Ekstrak

Sampel serbuk ditimbang masing – masing 150 g , kemudian sampel serbuk daun mangrove dan daun sirsak dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70 % selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari kemudian disaring. Residu dimaserasi ulang dengan 500 ml etanol 70 % dengan pengadukan setiap hari selama 2 hari, kemudian filtrat disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50⁰ C hingga diperoleh ekstrak kental. Untuk pengujian, ekstrak kental disuspensikan dalam larutan CMC- Na 0,5% (Bajuber *et al.*, 2020).

5. Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Mangrove dan Daun Sirsak

Penentuan dosis ekstrak daun mangrove mengacu pada penelitian Rahman *et al.*, (2011) yaitu dosis 250 mg/kgBB memiliki aktivitas analgesik pada tikus putih jantan yang diinduksi asam asetat 0,7%. Sedangkan dosis ekstrak daun sirsak mengacu pada penelitian Dju *et al.*, (2021) yaitu dosis 250 mg/kgBB memiliki aktivitas analgesik pada tikus putih jantan yang diinduksi asam asetat. Sehingga untuk pemberian dosis ekstrak daun mangrove yang digunakan mencit perlu dilakukan konversi tikus ke mencit. Perhitungan konversi tikus ke

mencit menurut penelitian Wahyuni (2017). Pada penelitian tersebut perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut :

- Perhitungan dosis ekstrak daun mangrove dan daun sirsak yaitu 250 mg/kgBB pada tikus

$$\frac{250 \text{ mg}}{x} = \frac{1000 \text{ g}}{30 \text{ g (rata-rata berat mencit)}}$$

$$1000x \text{ g} = 250 \text{ mg} \times 30 \text{ g}$$

$$x = \frac{250 \text{ mg} \times 30 \text{ g}}{1000 \text{ g}}$$

$$x = 7,5 \text{ mg/30gBB mencit}$$

Selanjutnya dosis dibuat berdasarkan perbandingan ekstrak daun mangrove dan daun sirsak sebagai berikut :

- Kelompok perbandingan 1:1 (7,5 mg/30gBB : 7,5 mg/30gBB mencit)

Pemberian ekstrak daun mangrove dan sirsak pada mencit dibuat dengan menggunakan larutan Na CMC 0,5% sebagai pelarut dan sebagai kontrol negatif. Na CMC berperan sebagai *suspending agent* yaitu suatu zat yang dapat mendispersikan ekstrak etanol daun mangrove dan daun sirsak ke dalam air sehingga ekstrak dapat tersebar dengan sempurna (Singh *et al.*, 2008).

6. Pembuatan suspensi Na-CMC 0,5 %

Na-CMC 0,5% dibuat dengan memasukkan 0,5 gram Na-CMC kemudian dilarutkan ke dalam 50 ml aquadest panas sambil diaduk hingga semuanya terlarut dan terbentuk massa yang kental. Larutan lalu dituang ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest hingga volume 100 ml sehingga didapatkan Na- CMC 0,5%.

Sediaan larutan dimasukkan ke dalam botol (Nurfitri dkk., 2021).

7. Pembuatan Suspensi Asam Mefenamat

Suspensi asam mefenamat dibuat dengan cara menimbang serbuk asam mefenamat dan ditambahkan Na-CMC sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume 100 ml sampai terbentuk larutan suspensi. Dosis asam mefenamat ditentukan berdasarkan faktor konversi dosis manusia. Dosis lazim asam mefenamat adalah 500 mg sekali pakai. Konversi dosis manusia dengan berat badan mencit 70 kg ke mencit adalah 0,0026 (Lara *et al.*, 2021).

Konversi dosis asam mefenamat pada mencit

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

$$= 1,3 \text{ mg/ 20gbb mencit}$$

8. Pembuatan Asam Asetat 1%

Larutan uji asam asetat dibuat dengan mengencerkan asam asetat glasial 1ml dalam 100 ml aquades pada labu ukur. Volume asam asetat yang akan diberikan 0,5ml /20gbb mencit dan diinjeksikan secara peritoneal ke hewan coba sesuai dengan berat badan mencit (Wahyudi dan Gunardi, 2008).

Penginduksian asam asetat glasial 1 % dengan cara penyuntikan intraperitoneal, hewan dipegang punggungnya sehingga kulit abdomennya menjadi tegang. Pada saat penyuntikan posisi kepala mencit lebih rendah dari abdomennya. Cara penyuntikan dengan memiringkan jarum di bagian tepi abdomen dari garis tengah untuk menghindari kandung kemih dan jangan terlalu tinggi agar tidak mengenai hati (Sinata dan Lutfi, 2020).

3.4.3 Prosedur Pengujian Aktivitas Analgesik

Hewan coba mencit jantan berumur 3 bulan dengan berat badan 25-30 gram sebanyak 25 ekor. Diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium dengan sekitar ± 2 minggu dengan tujuan membiasakan hidup dalam lingkungan. Selanjutnya, mencit dikelompokkan secara acak ke dalam 5 kelompok yang terdiri dari 6 ekor mencit. Ekor mencit ditandai dengan spidol untuk memudahkan pengamatan. Hewan percobaan dipuasakan $\pm 18-24$ jam, namun tetap diberi minum. Masing-masing mencit ditimbang menggunakan timbangan dan dicatat hasilnya.

Pengujian aktivitas analgesik pada kelompok kontrol negatif K(-) dilakukan pemberian Na-CMC 0,5% secara peroral. Pada kelompok kontrol positif K(+) mencit diberikan asam mefenamat secara peroral. Kelompok perlakuan 1 (P1) mendapatkan perlakuan pemberian ekstrak daun mangrove dengan dosis 250 mg/kgBB. Kelompok perlakuan 2 (P2) mencit mendapat perlakuan ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 250 mg/kgBB mencit. Selanjutnya mencit diberikan perlakuan 3(P3) dengan perbandingan 1:1 yaitu 250 mg/kgBB : 250 mg/kgBB mencit. Seluruh mencit diberikan suspensi ekstrak secara peroral dengan berurutan.

Setelah 30 menit, pemberian zat uji diinjeksikan secara intraperitoneal (I.P) larutan asam asetat 1% dengan 0,5 ml/20gbb. Mencit yang diinduksi asam asetat 1% ditempatkan pada platform pengamatan. Geliat Mencit dihitung yang terjadi tiap selang waktu 5 menit selama 1 jam ditandai dengan timbulnya geliat yaitu kedua kaki tertarik ke belakang, meregang, dan perut menyentuh dasar permukaan lantai (Syamsul *et al.*, 2016). Mencit dihitung persentase proteksi geliat dan persentase efektivitas analgesik pada masing-masing kelompok dosis dengan menggunakan rumus (Winarti dan Wantiyah, 2011) :

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

Persentase efektivitas analgesik dihitung menggunakan rumus berikut (Winarti dan Wantiyah, 2011):

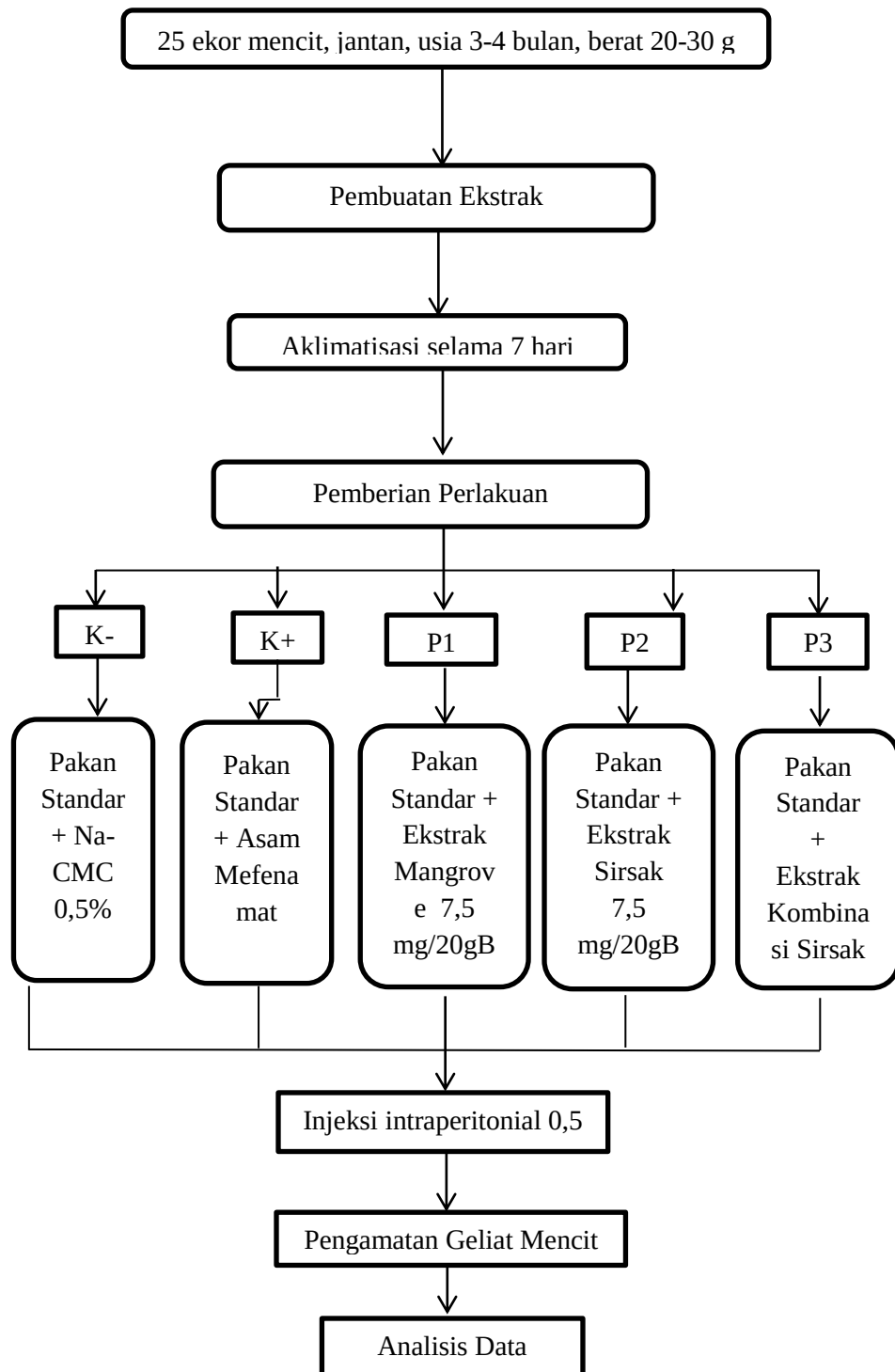
$$\%Efektivitas = \frac{\%proteksi \text{ bahan uji}}{\%proteksi \text{ kontrol positif}} \times 100\%$$

3.4.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian tersebut adalah jumlah geliat mencit dalam interval waktu tertentu. Data jumlah geliat mencit dihitung persentase proteksi geliat dan persentase efektivitas analgesik untuk mengetahui serta membandingkan aktivitas analgesik pada masing-masing perlakuan dengan kelompok kontrol. Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan dianalisis secara statistik dengan *one way ANOVA* dengan uji lanjut *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar setiap kelompok perlakuan.

3.5 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Alir Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Adjie, S., 2011. *Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Amiyati I., 2015. Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinsts* Lam.) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur Swiss. *Naskah Publikasi*. Fakultas Kedokteran Tanjungpura Pontianak. Hal : 1-18.
- Anshory, N., Rinidar, Hasan, M., Zuhrawati, Hennivanda, dan Rozlizawaty, 2018. Kemampuan Analgesik Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Pada Mencit (*Mus musculus*) yang diberi rangsangan panas pada telapak kaki. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(3), 396-401.
- Arthur, F.K.N., Woode E., Terlabi E.O., and Larbie, C. 2011. Evaluation of Acute and Subchronic Toxicity of *Annona muricata* Linn. Aqueous Extract in Animals. *Euro Jurnal exp.Bio*, 1(4): 115-124.
- Auliyah, N., Latuconsina, A.A. dan Thalib, M. 2019. Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Asam Asetat. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(2): 103-113.
- Bajuber Q., Indiasuti D.N., dan Kusuma E., 2020. Efek Analgesik Ekstrak Etanol *Zingiber cassumunar roxb.* Pada Mencit dengan Metode *Writhing Test*. *Jurnal Medik Veteriner*. Vol 3(1): 45-50.
- Baumann, T. J., 2009. *Pain Management*. in. DiPiro, Joseph T .(6th Ed). Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. United States of Amerika: The McGraw-Hill Companies. 1089-1091.

- Chandra, C., Tjitrosantoso, H., & Lolo, W. A. 2016. Studi penggunaan obat analgesik pada pasien cedera kepala di RSUP Prof . Dr . R . D . Kandou. *Pharmacon jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 5(2), p. 197–204.
- Darmadi, M.N.F., Hafid A., Fatimah., Risnah., 2020. Efektifitas Imajinasi Terbimbing (*Guided imageri*) Terhadap Penurunan Nyeri Pasien Post Operasi. *Alaudin Sci Jurnal Nurs*. Vol 1(1): 42-54.
- Dewoto, H. R., 2012. *Analgesik Opioid dan Antagonis*. Dalam: Farmakologi dan Terapi, Sulistia Gan Gunawan. (5th Ed.). Jakarta: Balai Penerbit FKUI.B., & Ranti, A.S., Penerjemah.). (5th Ed.). Bandung: Penerbit ITB.
- Dju, F., Klau, M.E., Mbulang, K.A., 2021. Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Esktrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L). dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Asam Asetat. *Pharmaceutical Scientific Journal*. Volume 4(1):228-235.
- Federer, W.Y., 1963. *Experimental design, theory and application*. New York, Mac. Millan, p. 544.
- Fish, R., Danneman, P.J., Brown, M., Karas, A., 2011. Anesthesia and analgesia in laboratory animals. 2 ed. *Academic Press*; 549-53.
- Gawade, S.P., 2012. Acetic Acid Induced Painful Endogenous Infliction in Writhing Test on Mice. *Jurnal of Pharmacology andPharmacotherapeutics*, 3(4), 348.
- George, V.C., Kumar, D.R., Rajkumar., V., Suresh, P.K., Ashok, K., 2012. Quantitative Assesement of The Relative Antineoplastic Potential of The N-Butanolic Leaf Extract of *Annona muricata* Linn. In Normal and Immortalized Human Cell Lines. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 13, 699-704.
- Guntara, S.S., Maritim U., dan Ali, R., 2019. Analisis Kandungan Senyawa Daun Mangrove Yang Ada Di Kampung. *Jurnal Dinamika Maritim*, 0-10.

- Guyton, A.C., dan Hall, J.E., 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* Edisi 12. Elsevier : Singapura.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2011. Guyton dan Hall Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 12th ed. Singapore. *Elsevier Saunders*, p583-585
- Hasanah, U., Rusny, Mashuri, M., 2015. Analisis Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus* L.) ICR Dari Hasil Perkawinan Inbreeding Dengan Pemberian Pakan AD1 dan AD2. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*. Makassar.
- Henny., Diba, F., dan Anwari, S., 2017. Tumbuhan Mangrove Yang Berpotensi Sebagai Obat di Kawasan PT. Kandelial Alam Kecamatan Kubu Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Hutan Lestari*, 5(4): 1100-1110.
- Hesturini, R., J., Herowati R., dan Widodo, G., P., 2017. Uji Aktivitas Analgetika Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F) dengan Metode Tail flick. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1): 13-17.
- Hesturini, R., J, Pertiwi, K., K., Astari, M., N., Febriana, A., A., 2022. Uji Analgesik Dan Toksisitas Fraksi n- Heksana Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.) Pada mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 8(1): 26-36
- Indarwati, I., Uki, R.B., H dan Yulia, L.R.D., 2017. Analysis of Factors Influencing Female Infertility. *Journal of Maternal and Child Health*.vol 2.150- 161.
- Indriani, L., Almashuri., Pratama, A.R., 2020. Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Tikus *Sprague-dawley*. *Jurnal Imiah Farmasi*. Vol 10(2): 178-187.
- Katzung, B. G., 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*. Terjemahan Nugroho Widhi A dkk dari Basic and Clinical Pharmacology. Jakarta : EGC.

- Kemenkes RI., 2018. *Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018*. Jakarta. Vol 53(9): 1689-99.
- Khotib, J., 2006. Mekanisme Molekuler Toleransi Obat Anti Nyeri Opioid. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol.3 No.1, hal.2.
- Kurniawan, S. N., 2018. Vertigo dan Nyeri. *In Continuing Neurologica Education* 4 (4th ed., Issue 4). Universitas Brawijaya Press.
- Kumar, S. P., dan S., Svaha., 2011. Mechanism- based Classification of Pain for Physical Therapy Management in Palliative care: A Clinical Commentary. *Indian Journal Palliative Care*. 17(1): 80- 86.
- Kusmana, C., A., Suryani, Y., Hartati, dan Oktadiyani, P., 2009. Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove api-api (*Avicennia sp.*) Sebagai bahan pangan dan Obat-obatan. IPB.
- Kuswinarti, Savira K., Rudiman R., 2018. The Analgesic Effect of Ethanol Extract Soursop (*Annona muricata* L.) Leaves in Wistar Rats. *Althea Medical Journal*. 5(4): 196-200
- Lane-Petter., 1976. *The Laboratory Animals-Principals and Practise*. Academic Press London . New York.
- Legoh, D. I., Runtuwene, M. R. J., dan Yamlean, P. V. Y., 2021. Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* Dc.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Pharmacon*. 10(2).
- Lara, A.,D., Elisma., Sani K.,F., 2021. Uji Aktifitas Analgesik Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Indonesian Journal of Pharma Science*. Volume 3(2):71-80.
- Marlyne R., 2012. *Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Bunga Mawar (Rosa chinensis Jacq.) Pada Mencit Jantan yang Diinduksi Asam Asetat*. Skripsi. Depok: Universitas Indonesia. Hal 22.

- Mita S.R., Husni P., 2017. Pemberian Pemahaman Mengenai Penggunaan Obat Analgesik Secara Rasional Pada Masyarakat di Arjasari Kabupaten Bandung. *Jurnal Aplikasi Ipteks Untuk Masyarakat*. 6(3): 193-195.
- Mondal, R.D., Benerjee, A., Bala., A., Sengupta, A., 2015. *Avicennia alba The New Phytochemical Weapon to Flight Against Acute Inflammation* 6-12.
- Mogil, J.S., 2009. Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci* [Internet];10(4):283–94. Tersedia pada: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrn2606>
- Mubarak, W. I., Lilis I., dan Joko S., 2015. Buku Ilmu Keperawatan Dasar. Jakarta: Salemba Medika.
- Mutschler, E., 2007. *Dinamika Obat: Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*.
- Mutiarahmi, C.N., Hartady, T., Lesmana., 2017. Kajian Pustaka Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium Yang Mengacu Pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. Vol 10(1): 134-135.
- Nazifah N., Sani F. K., Muhaimin., 2022. Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 9(1).
- Noor, Y. R., Khazali, M. & Suryadiputra, I. N. N., 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove Di Indonesia*. 2nd penyunt. Bogor: Wetlands International-Indonesia Programme.
- Nurfitri, M.M., Qoeljoe E.D., Datu S.O., 2021. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume Miq.) Terhadap Tikus Putih Jantan. *Jurnal Pharmacon*. Vol 10(4):1155-1161.

- Nurhalimah F., Lestari F., Suwendar., 2023. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Buah Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) Terhadap Mencit Jantan dengan Metode Geliat. *Jurnal Pharmacy*. Vol 3(2):153-159.
- Nurhidayati, G.L., Listina O., Cahyanta A.N., Purwati E., 2022. Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn .) dan Daun Lamtoro (*Laucaena leucocephalab* Lmk.) sebagai Analgetik pada Mencit Putih Jantan dengan Metode Geliat. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol 4. No 6.
- Octavianus, S., dan Lolo, W. A. 2014, Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Pharmacon*. Vol 3(2):87-92.
- O'Neil, C. L., 2008. Pain Management. Dalam : Marie A. Chisholms-Burns, Barbara G. Wells, Terry Schwinghammer, Patrick M. Malone, Jill M.Kolesar, John C.Rotschafer, Joseph T. Di Piro (Eds).Pharmacotherapy Principels & Practice, Edisi ke-7, New York. *McGraw-Hill Medical Publishing Division*, hal.1089-104.
- Purmata, A.T.W.C., Dewi L., Effendi C., 2020. Efek Analgesik Ekstrak Etanolik Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia alba*) Terhadap Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan yang Diinduksi Asam Asetat 0,7%. *Journal Medical Hangtuah*. Vol 18(1): 68-78.
- Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., Maligan, J. M. dan Nugrahini, N. I. P., 2016. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) : Kajian Pustaka. *J. Pangan dan Agroindustri* 4, 283– 290.
- Rahman, M.A., Biswas, S., Bala, V., Shill, A.K., Bose, U., 2011. Antidiarrhoel and Antinociceptive Activities of Leaf *Avicennia alba*. *Pharmacology online*. Vol 1: 492-500.

- Rejeki, P. S., Eka A. C. P., dan Rizka E. P., 2018. *Ovariektomi pada Tikus dan Mencit*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Riwayanti, 2014. Manfaat dan Fungsi Hutan Mangrove Bagi Kehidupan. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*. 12(24): 17-23.
- Roger, T., Pierre-marie, M., Igor, V. K. & Patrick, V. D., 2015. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Medicinal Plants Used to Treat Typhoid Fever in Bamboutos Division , West Cameroon. *J. Appl. Pharm. Sci.* 5, 34–49.
- Roome T., Dar A., Ali S., Naqvi S., Choudhary M., 2008. Sebuah Studi Tentang Antioksidan, Pembersihan Radikal Bebas, Tindakan Anti-Inflamasi dan Hepatoprotektif Dari Ekstrak *Aegiceras corniculatum*. *Jurnal Etnofarmalogi*.
- Saikat M., Islam F., Das R., Urmee H., Akter A., Idris A., M., Khandaker U., M., Almikhlaifi., Sharma R., Emran T.E., 2022. Potensi Farmakologis Ekstrak Daun *Avicennia alba*: Analisis Eksperimental yang Berfokus Pada Aktivitas Antidiabetik, Antiinflamasi, Analgesik, dan Antidiare. *Jurnal Biomed Research Internasional*. Vol 2: 1-8.
- Sasongko H., Sugiyarto, Farida Y., Efendi N.R., Pratiwi D., Setyawan A.D., Widiyanti T., 2016. Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica pubescens*) Secara In Vivo. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01, 83 – 89.
- Sentat, T., Soemarie, Y.B dan Hakim, L., N., Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Sereh Wangi (*Chimopogon nardus* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode Induksi Cara Kimia. *AL Ulum Sains dan Teknologi*, 4(1): 26-31.
- Sinata, N. dan Luthfi, A., 2020. Uji Efek Analgetik Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan yang Diinduksi Asam Asetat 1 %. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, Vol 9(1):12-20.

- Singh, A., Malhotra, S., dan Subban, R., 2015. Anti-inflammatory and analgesic agents from Indian Medicinal Plants International. *Journal of Intregative Biology*. 3(1):57-52.
- Sherwood, L., 2014. *Fisologi Manusia dari Sel ke Tubuh Edisi 8th*. EGC : Jakarta.
- Stanos, S., 2020. Tropical Analgesic in Physical Medicine and Rehabillitation Clinics of North America. *Pys Med Rehabil Clin*. 31(2): 233-244.
- Sunarjono, H., 2005. *Sirsak dan Srikaya*. Cetakan pertama. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal: 14-15.22-25.
- Suryanto E., 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Surabaya: Putra Media Nusantara.
- Soleha, Isnawati, Fitri A., Adelina, Soblia, H.T., dan Winarsih, 2018. Profil Penggunaan Obat Antiinflamasi Nonsteroid di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol 8(2).
- Soenarjo, Marwoto, Witjaksono, Hariyo S, Uripno B, Abdul L., 2013. *Anesthesiologi*. Semarang: Perhimpunan Dokter Spesialis Anestesi dan Terapi Intensif Cabang Jawa Tengah.
- Sweetman, S. C., 2009. *Martindale the Complete Drug Reference*. (36th Ed.) London: The Pharmaceutical Press.
- Syamsul, Eka S., Andani, Fitriya., dan Soemarie, Yulistia B., 2016. Analgesic activity study of ethanolic extract of *Callicarpa longifolia* Lamkin Mice. *Traditional Medicine Journal*, 21(2), 102.
- Syahrir, N. H. A., Afendi, F. M. dan Susetyo, B., 2016. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia*, 1(1): 36-46.
- Taylor L., 2005. *Technical Data Report For Graviola (Annona muricata)*. Sage Press, Austin.

- Teodhora, Farniscus, Slanturi S., Efektivitas Ekstrak Bakung (*Crinum asiaticum* L.), 2021. Sebagai Analgesik Pada Mencit Yang Diinduksi Asam Asetat. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. Vol 7(2): 26-134.
- Tjay, Tan., Rahardja, Kirana., 2007. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. (6th Ed.). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tomlinson, P. B., 1994. *The Botany of Mangroves*. Cambridge: Cambridge University Press
- Ungerer, T., 1985. *Biology Reproduksi Hewan Percobaan Laboratorium dalam Rangka Pengadaan dan Pengembangan Sarana Penelitian Serta Pendayagunaan Scanning Electron Microscope*. Depertemen Pendidikan dan Kebudayaan RI. Jakarta.
- Utar, Z., Majid, M. I. A. Adenan, M. I., Jamil, M. F. A., 2011. Mitragynine Inhibits the COX-2 Mrna Expression anda Prostaglandin E2 Production induced by Lipopolysaccaride in RAW264.7. Macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 136(1).
- Wahyuni, T., 2017. *Pengaruh Pemberian Simplisia Daun Simpup (Dillenia philippinensis) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit (Mus musculus L.) Jantan Pasca Induksi Aloksan*. Doctoral Dissertation Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Wahyudi V. D., dan Gunardi, 2008. Daya Analgetik Ekstrak Daun Alpukat (*Persea gratissima*, Gaerin F) terhadap Mencit Balb /C dengan Metode Induksi Nyeri Secara Kimia. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. Vol 11(1): 6-10.
- Wemay, M.A., Fatimawali dan F., Wehantaow, 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Tanaman Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) Pada Tikus Putih Betina Galus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(3):1-8.

Wulandari, A.S., dan Aznam, N., 2018. Uji Efek Analgetik Infusa Daun (*Annona muricata* L.) Dengan Metode Geliat. *Thesis*. Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY.

World Health Organization, 2012. *WHO Guidelines on Pharmacological Treatment of Persisting Pain in Children with Medical*. Anggadiredja, J.T. 2006. Rumpit Laut. Jakarta: Penebar Swadaya.

Winarti, L., dan Wantiyah., 2011. Uji Efek Analgetik Ekstrak Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* roxb.) Schlechter Pada Mencit Jantan Galur Swiss. *Majalah Obat Tradisional*, 16(1), 26–33.

