

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN NYERI FASE I DAN FASE II
KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATANG-KATANG (*Ipomoea pes caprae*
(L.) R.Br.) DAN DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) DENGAN
METODE *LICKING TIME***

(Skripsi)

Oleh

ILYAS PRABAMUKTI

2118031009



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN NYERI FASE I DAN FASE II
KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATANG-KATANG (*Ipomoea pes caprae*
(L.) R.Br.) DAN DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) DENGAN
METODE *LICKING TIME***

**Oleh
ILYAS PRABAMUKTI**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

**Pada
Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN NYERI FASE I
DAN FASE II KOMBINASI EKSTRAK DAUN
KATANG-KATANG (*IPOMOEA PES CAPRAE* (L.)
R.BR.) DAN DAUN LEGUNDI (*VITEX TRIFOLIA* L.)
DENGAN METODE LICKING TIME**

Nama Mahasiswa

: Ilyas Prabamukti

No. Pokok Mahasiswa

: 2118031009

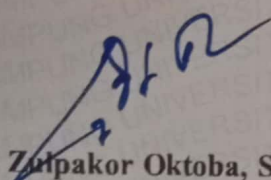
Program Studi

: Farmasi

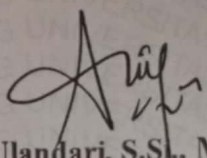
Fakultas

: Kedokteran



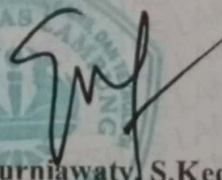

apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm.

NIP. 198710232024211001


Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm.

NIP. 199407022025062008

Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M. Sc.

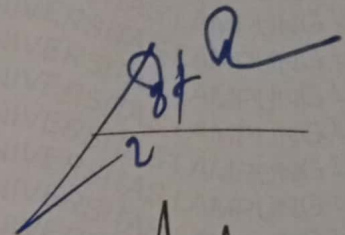
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

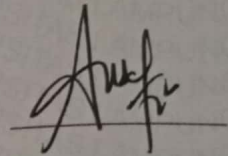
Ketua

: apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm.



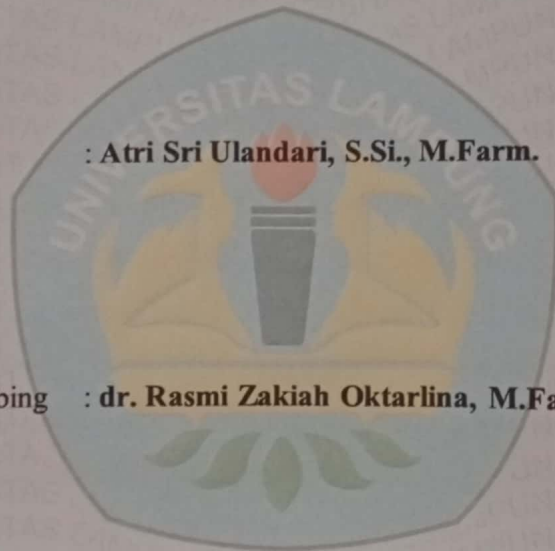
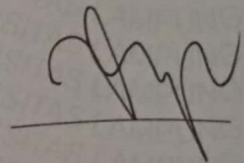
Sekretaris

: Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm.



Penguji

Bukan Pembimbing : dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M. Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 6 Agustus 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ilyas Prabamukti
Nomor Pokok Mahasiswa : 2118031009
Tempat Tanggal Lahir : Bandar Lampung, 27 Desember 2002
Alamat : Jl. Sakura, Gg. Cempaka, Rajabasa Jaya, Lampung

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN NYERI FASE 1 DAN FASE 2 KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATANG-KATANG (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) DAN DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) DENGAN METODE *LICKING TIME*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai etika ilmiah yang berlaku.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan kepada Universitas Lampung. atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidak benaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan.

Bandar Lampung, 6 Agustus 2025

Pembuat Pernyataan,



Ilyas Prabamukti

NPM. 2118031009

RIWAYAT HIDUP

Ilyas Prabamukti lahir di Bandar Lampung pada tanggal 27 Desember 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak alm. Pungut Widodo dan Ibu Rusminah, serta merupakan anak ke-dua dari lima bersaudara dengan kakak Bernama Anggi Thya Putri, adik-adik perempuan bernama Natasha Faradita, Saniya Arzu Jannati, dan Khayla Almira Maritza. Penulis memiliki riwayat Pendidikan di SDN 1 Sukarame Bandar Lampung, SMPN 1 Bandar Lampung, dan MAN 1 Bandar Lampung hingga lulus pada tahun 2021. Pada tahun yang sama, penulis diterima menjadi mahasiswa baru di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN.

Selama perkuliahan, penulis berkesempatan menjadi ketua Angkatan Farmasi 2021, dan menjadi ketua bidang Kajian dan Syiar organisasi mahasiswa intra fakultas FSI Ibnu Sina. Penulis berpartisipasi dalam mengikuti berbagai kegiatan penelitian dan pengabdian bersama dosen serta mahasiswa fakultas kedokteran Universitas Lampung. Penulis juga berkesempatan menjadi moderator dan MC di berbagai acara Seminar Fakultas Kedokteran. Beberapa kegiatan non-akademik maupun kemahasiswaan yang pernah diikuti oleh penulis, meliputi kepanitiaan Dies Natalis FK Unila ke-20, dan kepanitiaan Pharmalation tahun (2022-2023) dan (2023-2024).

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

Maka, Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan

[Q.S. Al-Insyirah: 5]

*Sebuah persembahan sederhana untuk,
Ibu, ayah, adik, dan orang-orang
yang aku sayangi.*

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamiin, puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “ **Uji Aktivitas Penghambatan Nyeri Fase I dan Fase II Kombinasi Ekstrak Daun Katang-Katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) dengan Metode *Licking time***”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad *Shalallahu 'Alaihi Wasallam*, dan semoga kita kelak mendapatkan syafaatnya di yaumul akhir kelak.

Penyusunan skripsi ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa adanya bimbingan, dukungan, masukan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada:

1. Orang tua tersayang, alm. Ayah Pungut Widodo, Ibu Rusminah S.Pd yang selalu hadir memberikan doa dan dukungan pada setiap proses yang penulis jalani. Semoga skripsi ini menjadi awal yang baik dalam proses mewujudkan segala impian keluarga di kemudian hari;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Oktafany, M.Pd.Ked., selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik dan Kerjasama;
5. dr. Roro Rukmi Windi Perdani, M.Kes., Sp.A(K)., selaku Wakil Dekan II Bidang Umum dan Keuangan;

6. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm., selaku Wakil dekan III Bidang Kemahasiswaan dan Alumni yang senantiasa memberikan dukungan dan kesempatan dalam mengikuti berbagai kegiatan pengembangan diri sebagai salah satu ide dalam penyusunan skripsi ini;
7. dr. Rani Himayani., Sp. M. Selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
8. apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm., selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih banyak atas, ilmu, kesabaran, dukungan, dan segala bentuk keyakinan yang telah diberikan kepada penulis;
9. Ibu Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm., selaku Pembimbing II atas kesediaannya yang telah meluangkan waktu, memberikan nasihat, bimbingan, dukungan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
10. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm., selaku pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, serta pikiran dalam memberikan masukan, kritik, dan saran yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
11. apt. Dwi Aulia Ramdini, M.Farm., selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan motivasi, dukungan dan bimbingan selama perkuliahan S1 di Fakultas Kedokteran;
12. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan baik di dalam maupun di luar kelas. Terima kasih atas pengalaman dan pembelajaran terbaik yang telah diberikan kepada penulis;
13. Seluruh tenaga kependidikan dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas waktu dan tenaganya yang telah membantu penulis selama menjalankan studi hingga proses penyelesaian penelitian;
14. Seluruh hewan uji yang telah menjadi objek penelitian dalam penelitian ini;
15. Adik-adik ku tersayang Natasha Faradita, Saniya Arzu Jannati, dan Khayla Almira Maritza, yang selalu hadir memberikan doa dan dukungan pada setiap proses yang penulis jalani. Semoga skripsi ini menjadi awal yang baik dalam proses mewujudkan segala impian keluarga di kemudian hari;

16. Nenek ku tersayang, Rukiyah (mamak), yang selalu mendoakan, mendukung, menghibur, dan membantu saya dalam mengurus motivator terbaik saya (Ayah) yang mengidap sakit keras hingga akhir hayatnya;
17. Binoo, adik bungsu ayah ku yang kerap menghibur penulis dengan setiap senyum dan tawanya selama proses penyusunan skripsi;
18. Partner penelitian saya, Tsania Zahra Taslima, yang telah bersama-sama menyusun rancangan penelitian, menjalankan penelitian, dan menjadi tempat berdiskusi yang baik selama penelitian ini berlangsung;
19. Teman-teman AMBIS Irpan, Agape, Ummi, Ghina, Zifa, Misel, yang telah memberikan semangat serta tempat berdiskusi bagi penulis dalam proses penyusunan skripsi;
20. Teman-teman angkatan PI21MIDIN dan PU21N atas kebersamaan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis;
21. Segenap dosen, tenaga kependidikan, dan rekan mahasiswa atas segala kenangan, pengalaman dan pembelajaran terbaik bagi penulis;
22. Seluruh kakak tingkat dan adik tingkat sejawat Fakultas Kedokteran atas dukungan dan bantuan yang diberikan kepada penulis selama menjalani proses perkuliahan;
23. Seluruh pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu yang telah bersedia membantu dan membimbing saya dalam proses penyusunan skripsi ini dari awal hingga akhir;

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan ilmu dan manfaat bagi setiap orang yang membacanya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak ruang untuk perbaikan dan masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak untuk perbaikan penulis kedepannya. Terima Kasih.

Bandar Lampung, 19 Agustus 2025

Penulis,

Ilyas Prabamukti

ABSTRACT

FIRST PHASE AND SECOND PHASE PAIN INHIBITION ACTIVITY TEST OF THE COMBINATION OF KATANG-KATANG LEAF (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) AND LEGUNDI LEAF (*Vitex trifolia* L.) EXTRACT WITH *LICKING TIME* METHOD

By

ILYAS PRABAMUKTI

Background: Pain is one of the most significant reasons why individuals seek medical treatment. The use of NSAIDs and opioids, which frequently cause undesirable side effects, encourages researchers to explore safe herbal treatment alternatives. Katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) and legundi (*Vitex trifolia* L.) leaves have the potential to be natural pain inhibitors; however, scientific research on this is still limited. This study aims to identify the pain inhibitory activity in first phase and second phase of the combined extracts of katang-katang and legundi leaves.

Methods: In this study, extraction was carried out using the maceration method, followed by standardization of the simplicia and extracts. Subsequently, pain inhibition testing in first phase and phase second was performed using the *licking time* method on male *balb/c* mice with combined concentrations of katang-katang and legundi leaves extracts with ratios 1:1, 2:1, and 1:2.

Result: The extracts of katang-katang and legundi leaves contains alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids, steroids, and saponins, with most standardization parameters including water content, loss on drying, density, and acid insoluble ash content complied the established standards. The results of the pain inhibition test data analysis for first phase and second phase showed a significantly difference among the three treatments when compared to the negative *control* ($p < 0.05$).

Conclusions: The combination of katang-katang and legundi leaves extracts with a ratio of 2:1 was the best extract combination formula in inhibiting pain in both first phase and second phase compared to the 1:1 and 1:2 ratios, with analgesic percentage values of 80.62% in phase first and 76.83% in second phase.

Keywords: Analgetic, *Ipomea pes caprae*, Licking time, *Vitex trifolia*.

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN NYERI FASE I DAN FASE II KOMBINASI EKSTRAK DAUN KATANG-KATANG (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) DAN DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) DENGAN METODE *LICKING TIME*

Oleh

ILYAS PRABAMUKTI

Latar Belakang: Nyeri merupakan salah satu penyebab terbesar seseorang mencari pengobatan. Penggunaan NSAID dan opioid kerap menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan mendorong peneliti untuk mencari alternatif pengobatan herbal yang aman. Daun katang-katang dan daun legundi berpotensi sebagai penghambat nyeri alami, namun penelitian secara ilmiah masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

Metode: Ekstraksi dengan metode maserasi, dilanjutkan dengan standardisasi simplisia dan ekstrak. Kemudian dilakukan pengujian penghambatan nyeri fase I dan fase II dengan metode *licking time* pada mencit jantan galur *balb/C* dengan perbandingan konsentrasi ekstrak daun katang-katang dan legundi 1:1, 2:1, dan 1:2.

Hasil: Kedua ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan saponin, dengan sebagian besar parameter standardisasi, yaitu kadar air, susut pengeringan, bobot jenis, dan kadar abu tidak larut asam telah memenuhi standar. Hasil analisis data uji *licking time* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari ketiga perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak dengan perbandingan 2:1 merupakan formula kombinasi ekstrak terbaik dalam penghambatan nyeri fase I maupun fase II, dengan persentase nilai analgetik yaitu 80,62% pada fase I dan 76,83% pada fase II.

Kata kunci: Analgesik, *Ipomoea pes caprae*, *Licking time*, *Vitex trifolia*.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	i
DAFTAR GAMBAR	iii
 BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Peneliti Selanjutnya	4
1.4.3 Bagi Institusi Kesehatan.....	4
1.4.4 Institusi Pendidikan.....	4
1.4.5 Bagi Masyarakat	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Legundi	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Karakteristik.....	6
2.1.3 Kandungan Senyawa.....	6
2.1.4 Khasiat	6
2.1.5 Mekanisme Kerja Sebagai Analgesik	7
2.1.6 Efek Samping	7
2.2 Tanaman Katang-katang.....	8
2.2.1 Klasifikasi	8
2.2.2 Karakteristik.....	8
2.2.3 Kandungan Senyawa.....	9

2.2.4 Khasiat	9
2.2.5 Mekanisme Kerja Sebagai Analgesik	9
2.2.6 Efek Samping dan Toksisitas	10
2.2.7 Cara Pemakaian	10
2.3 Nyeri	11
2.3.1 Definisi	11
2.3.2 Mekanisme Aksi	11
2.3.3 Neuroregulator Nyeri	12
2.4 Analgesik	13
2.4.1 Definisi	13
2.4.2 Mekanisme aksi	13
2.4.3 Metode Uji Anti Nyeri	14
2.4.3.1 <i>Licking time</i>	14
2.4.3.2 <i>Writhing test</i>	14
2.4.3.3 <i>Tail Flick</i>	14
2.4.3.4 <i>Hot Plate</i>	15
2.5 Maserasi	15
2.5.1 Definisi	15
2.5.2 Mekanisme	15
2.5.3 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi	16
2.5.4 Keuntungan dan Kerugian	16
2.6 Standardisasi	17
2.6.1 Definisi	17
2.6.2 Parameter Spesifik	17
2.6.3 Parameter Non Spesifik	18
2.7 Kerangka Penelitian	20
2.8 Kerangka Konsep	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
3.1 Desain Penelitian	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2.1 Tempat Penelitian	22
3.2.2 Waktu Penelitian	23
3.3 Populasi dan Sampel	23
3.3.1 Populasi	23
3.3.2 Sampel	23
3.4 Identifikasi Variabel	25

3.4.1 Variabel Bebas.....	25
3.4.2 Variabel Terikat	25
3.5 Definisi Operasional.....	25
3.6 Prosedur Penelitian	26
3.6.1 Alat Penelitian.....	26
3.6.2 Bahan Penelitian	26
3.6.3 Determinasi Tanaman.....	27
3.6.4 Pembuatan Simplisia.....	27
3.6.5 Pembuatan Ekstrak.....	28
3.6.6 Standardisasi	28
3.6.7 Penapisan Fitokimia.....	32
3.6.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	34
3.6.9 Uji Aktivitas Analgetik	34
3.7 Alur Penelitian	35
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1 Hasil Penelitian.....	38
4.1.1 Persetujuan Etik	38
4.1.2 Determinasi Tanaman.....	38
4.1.3 Hasil Rendemen Ekstrak	38
4.1.4 Hasil Uji Standardisasi Simplisia dan Ekstrak.....	39
4.2 Pembahasan	52
4.2.1 Ekstraksi	52
4.2.2 Uji Organoleptik	53
4.2.3 Uji Makroskopis	53
4.2.4 Uji Mikroskopis	54
4.2.5 Uji Kadar Sari Larut Air dan Etanol.....	54
4.2.6 Penapisan Fitokimia	56
4.2.7 Uji Susut Pengeringan	58
4.2.8 Uji Kadar Air	59
4.2.9 Uji Kadar Abu Total	60
4.2.10 Uji Kadar Abu Tidak Larut Asam.....	61
4.2.11 Uji Bobot Jenis	61

4.2.12 Uji Kromatografi Lapis Tipis	61
4.2.13 Uji Penghambatan Nyeri Fase I dan Fase II	63
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	69
5.1 Simpulan	69
5.2 Saran	69
DAFTAR PUSTAKA.....	71

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional	25
Tabel 2. Perlakuan Uji Analgesik	35
Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak.....	39
Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis simplisia dan ekstrak.....	39
Tabel 5. Pengujian Makroskopis Daun Legundi.....	40
Tabel 6. Pengujian Makroskopis Daun Katang-katang	40
Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Daun Katang-Katang	41
Tabel 8. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Daun Legundi	42
Tabel 9. Hasil Uji Kadar Senyawa Terlarut Air dan Etanol.....	43
Tabel 10. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Daun Katang-Katang	43
Tabel 11. Hasil Pengujian Susut Pengeringan	45
Tabel 12. Hasil Pengujian Bobot Jenis Ekstrak Katang-Katang dan Legundi	46
Tabel 13. Hasil Uji Kadar Air	46
Tabel 14. Hasil Uji Kadar Abu Simplisia Dan Ekstrak	47
Tabel 15. Spesifikasi Perbandingan Konsentrasi Ekstrak.....	47

Tabel 16. Persentase Daya Analgetik Fase I dan Fase II	48
Tabel 17. Uji <i>One Way ANOVA</i> Fase I.....	50
Tabel 18. Uji Jarak <i>Duncan</i> Fase I.....	50
Tabel 19. Uji <i>One Way ANOVA</i> Fase II	51
Tabel 20. Uji Jarak <i>Duncan</i> Fase II	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Legundi.....	5
Gambar 2. Tumbuhan Katang-katang	8
Gambar 3. Mekanisme Nyeri.....	13
Gambar 4. Kerangka Penelitian	20
Gambar 5. Kerangka Konsep	21
Gambar 6. Alur Penelitian	36
Gambar 7. Hasil pengujian Kromatografi Lapis Tipis	44
Gambar 8. Grafik Persentase Daya Analgetik	49

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri didefinisikan oleh *International Association For The Study of Pain* (IASP) sebagai perasaan yang tidak nyaman dan merupakan gejala dari emosi, sensori, dan kognitif yang berpotensi menyebabkan kerusakan jaringan. Nyeri berfungsi sebagai suatu respon tubuh terhadap rangsangan dengan memberikan rasa yang tidak nyaman seperti berkeringat, mual, palpitasi, dan ketakutan (Puspitasari *et al.*, 2021). Dalam bidang kesehatan, nyeri juga merupakan salah satu aspek penting dan menjadi penyebab terbesar seseorang untuk mencari pengobatan (Andayani & Hardiyanti, 2018).

Dalam penanganan nyeri, obat yang umum digunakan adalah obat golongan analgetik atau biasa disebut obat anti nyeri. NSAID (*non steroid anti-inflammatory drugs*) merupakan golongan obat yang paling banyak dan paling sering diresepkan di Indonesia maupun negara lain (Meylani *et al.*, 2023). Disamping itu, penggunaan obat golongan analgesik memiliki keterbatasan berupa efek samping, contohnya pada penggunaan ibuprofen, asam mefenamat, dan natrium diklofenak yang memiliki efek samping dapat mengiritasi saluran cerna, memiliki efek samping pada ginjal dan hati, gangguan fungsi trombosit serta penggunaan opioid yang dapat mengakibatkan ketergantungan (Sari *et al.*, 2018).

Menurut Nandini *et al.* (2024), *obat anti inflamasi non steroid* (OAINS) atau NSAID merupakan salah satu penyebab terbesar mortalitas dan morbiditas penyakit gastrointestinal. Berkaitan dengan efek samping penggunaan OAINS, diperlukan upaya untuk meminimalisirnya. Masyarakat menggunakan alternatif pengobatan dengan obat tradisional yang memanfaatkan bahan alam berupa tanaman herbal. Seperti masyarakat yang tinggal di pesisir pantai, mereka banyak menggunakan daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae L.*) untuk

mengobati peradangan. Sebagian masyarakat menggunakannya dengan cara direbus dan digiling Andayani & Hardiyanti (2018). Selain itu, masyarakat juga bisa menggunakan daun legundi (*Vitex trifolia L.*) untuk mengobati peradangan (Ankalikar & Viswanathswamy, 2017).

Pemanfaatan daun katang-katang dan daun legundi secara empiris sudah banyak digunakan oleh masyarakat suku Lampung di Kecamatan Cukuh Balak, Tanggamus untuk mengobati penyakit dan menjaga kesehatan (Oktoba *et al.*, 2024). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi aktivitas analgesik ekstrak tunggal daun katang-katang. Menurut (Andayani & Hardiyanti, 2018), ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae L.*) dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan nyeri pada fase I dan fase II, dengan mekanisme kerja menghambat depolarisasi sel saraf pada fase I, dan menghambat sintesis prostaglandin pada fase II. Ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae L.*) mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin. Kandungan flavonoid dalam ekstrak menghambat degranulasi neutrofil sehingga mengurangi jumlah sitokin, radikal bebas dan enzim yang berperan dalam proses inflamasi. Menurut Vieira *et al.* (2013), enzim yang memiliki peran dalam proses inflamasi adalah siklooksigenase. Secara *in vitro*, ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae L.*) dapat menghambat siklooksigenase sehingga prostaglandin tidak terbentuk.

Ankalikaar dan Viswanathswamy (2017) melaporkan bahwa ekstrak daun legundi memiliki aktivitas anti inflamasi yang baik. Menurutnya, efek antiinflamasi dari daun legundi dapat ditimbulkan karena adanya senyawa-senyawa golongan flavonoid seperti persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, dan *vitexicarpin*. Namun dalam penelitian tersebut dilaporkan bahwa penggunaan ekstrak organik daun legundi (*Vitex trifolia L.*) sebanyak lebih dari 100 mg/kgBB dapat menimbulkan efek toksik terhadap beberapa garis sel. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dilakukan kombinasi antara daun legundi (*Vitex trifolia L.*) dengan daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae L.*) untuk menguji apakah kombinasi dari ekstrak daun legundi dan katang-katang memiliki aktivitas yang lebih baik untuk melihat apakah ada efek sinergitas

positif yang terjadi. Berdasarkan kajian literatur tersebut, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak daun katang-katang dan daun legundi sebagai agen penghambatan nyeri fase I dan fase II.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah kandungan senyawa aktif yang terdapat pada kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.)?
2. Berapakah nilai *Rf* kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.)?
3. Bagaimanakah aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II pada kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui potensi aktivitas penghambatan nyeri fase 1 dan fase 2 kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui senyawa yang terkandung dalam kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).
2. Mengetahui nilai *Rf* ekstrak kombinasi daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).
3. Mengetahui perbandingan aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dengan konsentrasasi 1:1, 1:2, dan 2:1.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan peneliti mengenai aktivitas penghambatan nyeri fase 1 dan fase 2 dari kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

1.4.2 Bagi Peneliti Selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada peneliti selanjutnya tentang bagaimana perbedaan aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II dari ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.). Data potensi dari tiap-tiap konsentrasi tersebut diharapkan dapat membantu peneliti selanjutnya dalam formulasi sediaan.

1.4.3 Bagi Institusi Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi kombinasi ekstrak daun katang-katang dan daun legundi dalam penanganan nyeri dan menjadi alternatif lain dari obat-obat golongan NSAID yang berpotensi menimbulkan efek samping merugikan.

1.4.4 Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi terkait dengan aktivitas penghambatan nyeri fase 1 dan fase 2 dari kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* (*Ipomoea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

1.4.5 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat terkait potensi dari daun katang-katang dan daun legundi sebagai penghambat nyeri fase I dan fase II.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Legundi

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Lamiales
 Family : Lamiaceae
 Genus : *Vitex*
 Spesies : *Vitex trifolia* L.
 Sinonim : *Vitex benthamiana* Domin, *Vitex bicolor* Willd., *Vitex indica* Mill., *Vitex integerrima* Mill., *Vitex iriotensis* Ohwi, *Vitex langundi* W.G. Maxwell, *Vitex negundo* var. *bicolor* (Willd.) H.J. Lam, *Vitex neocaledonica* Gand., *Vitex paniculate* Lam., *Vitex petiolaris* Domin, *Vitex rotundifolia* var. *heterophylla* Makinko ex H. Harra, *Vitex triphylla* Royle, *Vitex variifolia* Salisb.

(Wahyuni, *et al.* 2016)



Gambar 1. Tanaman Legundi (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Karakteristik

Merupakan tanaman perdu dengan pertumbuhan tinggi mencapai 5-8 m. Memiliki akar jenis tunggang dengan warna kecokelatan. Pada umumnya berbatang bulat, dan memiliki ranting berambut berwarna abu-abu. Memiliki jenis daun majemuk dengan 3 anak daun, duduk daun bersilang berhadapan, anak daun berbentuk bulat telur dengan ujung dan pangkal meruncing. Tepi rata, pertulangan menyirip dan berwarna hijau. Memiliki susunan bunga majemuk, berbentuk malai, pada umumnya terletak pada ujung cabang atau ketiak daun. Memiliki 5 daun kelopak membentuk tabung, berwarna hijau. Memiliki 5 daun mahkota membentuk tabung, dengan dua daun mahkota sangat menonjol (besar dan menarik) berwarna ungu, dengan permukaan berbulu. Memiliki empat benang sari, tangkai sari berwarna putih dengan kepala sari berwarna kuning. Jenis buah batu, berbentuk bulat atau bulat telur, diameter 2-5 mm, dengan warna hijau saat masih muda dan berwarna coklat ketika matang. Berbiji kecil dengan warna coklat (Wahyuni *et al.*, 2016).

2.1.3 Kandungan Senyawa

Ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia L*) dilaporkan memiliki berbagai macam bioaktif dari senyawa metabolit yang memiliki aktivitas terhadap pengobatan seperti katisin, rotundifuran, artemetin, metil-p-hidroksibenzoat, vitepyrrolid A, vitextrifloksida, viteksilakton, (-)-0-metilcubebin, viteksikarpin, 9-hidroksi-13(14)-labden-15,16-olide, diaproksanton D, dan miscellaneous (Mottaghipisheh *et al.*, 2024).

2.1.4 Khasiat

Tanaman legundi biasa digunakan sebagai obat batuk, diolah dengan cara direbus sebanyak 5 g daun legundi, dicampur dengan beberapa rimpang seperti kunyit sebanyak 6 g, dan kencur 6 g, dengan air sebanyak 115 ml air. Rebusan tersebut diminum sebanyak 100 ml satu kali sehari. Selain itu, daun legundi juga dapat digunakan untuk

mengobati nyeri limpa (analgesik) dengan cara menempelkan pipisan dari satu genggam daun legundi pada bagian perut sebelah kiri (Wahyuni *et al.*, 2016).

2.1.5 Mekanisme Kerja Sebagai Analgesik

Ekstrak air daun *Vitex trifolia* L. telah dievaluasi pengaruhnya terhadap gen inflamasi yang diinduksi lipopolysaccharide. Ekstrak tersebut telah menunjukkan efek pengaturan pada *Nuclear Factor Kappa B (NF-kB)* dan pengaruhnya pada mediator peradangan. Aktivitas penghambatan nyeri tergantung waktu pada sintesis IL-6, IL-10 tetapi sedikit berpengaruh pada TNF- α , yang kesemuanya memainkan peran penting dalam peradangan. Tinjauan literatur menunjukkan ekstrak etanol daun *Vitex trifolia* telah dievaluasi aktivitasnya terhadap edema kaki akibat karagenan dan efeknya terhadap potensi antiinflamasi dari ekstrak etanol daun *Vitex trifolia*. *Vitex trifolia* telah menunjukkan aktivitas penghambatan inflamasi yang bergantung pada dosis dan waktu yang signifikan terhadap interleukin dan TNF- α . Efek penghambatan tersebut mungkin disebabkan oleh adanya flavanoid seperti persicogenin, artemetin, luteolin, penduletin, dan vitexicarpin (Ankalikar & Viswanathswamy, 2017).

2.1.6 Efek Samping

Beberapa penelitian melaporkan bahwa *Vitex trifolia* L. memiliki senyawa vitexicarpin dan vitexin (flavonoid) yang memiliki efek samping, yaitu gangguan gastrointestinal, mual, mulut kering, lelah, gangguan menstruasi, gatal-gatal, pruritis, dan jerawat (Wahyuni, *et al.* 2016).

2.2 Tanaman Katang-katang

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Asteridae
 Family : Convolvulaceae
 Genus : Ipomea L.
 Spesies : *Ipomea pes caprae*
 Sinonim : *Ipomea biloba*, Forsk., *I. brasiliensis*, (Linn.), Tapak Kuda, *Convolvus brasiliensis*, Linn., *C. pes caprae*, Linn., Dalere, Katang-Katang, Daun Katang, Tang-Katang, Leleri, Alere, Batata Pantai, Warata Ruruan, Ma An Teng, Andah Arana, Dolodoi, Daredei, Bulalingo,

(Widyaningrum, 2019)



Gambar 2. Tumbuhan Katang-katang (dokumentasi pribadi)

2.2.2 Karakteristik

Katang-katang tumbuh liar pada daerah pinggir pantai, atau pada daerah yang memiliki tanah berbatu dan mengandung pasir, merambat atau menjalar di tanah. Tumbuhan berbatang basah dan licin, berwarna hijau kecoklatan. Daun tunggal berbentuk bulat, tebal, bertekstur licin dan tidak berambut. Bentuk daun terbagi menjadi dua pada ujung daun, berwarna hijau, dengan panjang dan lebar lebih dari 3 cm. Tangkai daun memiliki panjang 2-3 cm. Memiliki getah berwarna putih. Bunga berbentuk seperti terompet, berwarna ungu (Widyaningrum, 2019).

2.2.3 Kandungan Senyawa

Penapisan fitokimia ekstrak *I. pes-caprae* juga mengungkapkan adanya metabolit sekunder, seperti alkaloid, triterpen, flavonoid, tanin, kumarin, karbohidrat, fenol, saponin, phlobatanin, dan steroid. Kegunaan tanaman ini yang diketahui dalam pengobatan tradisional dapat dikaitkan dengan metabolit sekunder ini (Akinniyi *et al.*, 2022).

Metabolit lebih lanjut yang dilaporkan untuk spesies ini adalah 2-hidroksi-4,4,7-trimetil-1(4H)-naftalenon, (-)-mellein, eugenol, 4-vinylguaiacol, glikosida dari 2-metilpropanoat, (2S)-metilbutirat, n-heksanoat, n-dekanoat, dan asam n-dodekanoat, serta pentasakarida jalapinolik asam, pescaproside A, pescapreins I-IV, stoloniferin III, dan actinidol 1a dan 1b, trans-damascenone, E-fitol-glochidone, asam betulinic, -dan -amyrin asetat, isoquercitrin (ISQ) Asam 3,5-di-O-caffeoyl-quinic (asam isoklorogenat a, dalam mata uang ISA), asam 3,4-di-O-caffeoyl-quinic (asam isoklorogenat b, denominasi ISB), asam 4,5-di-O-caffeoyl-quinic (asam isoklorogenat c, denominasi ISC, Eugenol, D-Limonene, Eicosane, Isoborneol, Camphane. Pescaprein dan pescaproside merupakan senyawa khas dari tanaman ini (Barth *et al.*, 2019; Paul *et al.*, 2024).

2.2.4 Khasiat

Memiliki aktivitas analgesik, dapat mengobati rematik, sakit otot atau pegal-pegal (myalgia), sakit gigi, wasir, dan pembengkakan gusi (Widyaningrum, 2019).

2.2.5 Mekanisme Kerja Sebagai Analgesik

Ekstrak daun katang-katang mampu menghambat depolarisasi sel saraf yang berperan dalam proses nyeri fase I. Sedangkan pada fase II atau fase inflamasi, ekstrak daun katang-katang dapat mengurangi nyeri disebabkan oleh adanya senyawa aktif dalam ekstrak. Ekstrak daun katang-katang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Kandungan flavonoid dalam ekstrak menghambat degranulasi

neutrofil sehingga akan mengurangi jumlah sitokin, radikal bebas serta enzim yang berperan dalam proses inflamasi. Enzim yang berperan dalam proses inflamasi adalah enzim siklooksigenase. Ekstrak daun katang-katang secara *in-vitro* dapat menghambat enzim siklooksigenase dan menghambat terbentuknya prostaglandin (Andayani & Hardiyanti, 2018).

2.2.6 Efek Samping dan Toksisitas

Hasil studi toksisitas oral akut dan dosis berulang. Studi toksisitas oral selama 28 hari terhadap ekstrak etanol daun dan batang *Ipomoea pes-caprae* menunjukkan tidak beracun alam pada tingkat dosis uji yang diuji. Dosis letal kedua daun dan ekstrak batang *Ipomoea pes-caprae* ditemukan >2000 mg/kg melalui studi toksisitas oral akut. Pada 1000 mg/kg ekstrak daun dan batang *Ipomoea pes-caprae* ditemukan aman pada dosis berulang oral 28 hari pengujian yang dengan jelas menunjukkan margin keamanannya. Oleh karena itu, ekstrak daun katang-katang aman digunakan pada berbagai penyakit seperti *rheumatoid arthritis* dan gangguan kekebalan tubuh lainnya (Venkataraman *et al.*, 2013).

2.2.7 Cara Pemakaian

Pemakaian dalam: sebanyak 30 sampai 60 g daun segar atau 15 sampai 30 g daun kering, direbus.

Pemakaian luar: Dapat digunakan dengan cara direbus, diperas, atau digiling menjadi serbuk, kemudian ditempelkan ke tempat yang sakit. Biasa digunakan untuk bisul, koreng, dan eksem.

1. Rematik

45 g herba segar ditambah arak ketan dan air dengan perbandingan setara, rebus.

2. Bisul dan koreng

Herba segar sebanyak 30-60 g direbus bersama gula merah.

3. Sakit gigi

Sebanyak 45 g akar kering direbus, dan diminum.

4. Wasir berdarah

30 g herba segar di tim dengan 360 g usus, dimakan.

(Widyaningrum, 2019)

2.3 Nyeri

2.3.1 Definisi

Nyeri diartikan sensasi tidak menyenangkan yang terjadi pada sensorik dan emosional yang disebabkan oleh adanya kerusakan jaringan secara aktual maupun potensial yang menandakan bentuk kerusakan tersebut (Bahrudin, 2017). Gejala nyeri dapat ditandai dengan adanya rasa ketakutan, berkeringat, palpitasi, dan mual yang berfungsi sebagai suatu respon tubuh terhadap rangsangan dan kerusakan jaringan (Puspitasari *et al.*, 2021)

2.3.2 Mekanisme Aksi

Secara umum patofisiologi nyeri disebabkan oleh rangsangan (sensitivitas) yang diterima nosiseptor pada daerah yang mengalami kerusakan. Sensitivitas disebabkan akibat adanya penyampaian sinyal kimiawi ke nosiseptor yang disebabkan oleh kerusakan jaringan seperti infeksi, inflamasi, degranulasi sel mast, atau setelah induksi enzim siklooksigenase (Schug *et al*, 2020). Peristiwa ini bisa berintensitas tinggi ataupun rendah seperti pembengkakan dan kenaikan suhu serta oleh lesi jaringan. Sel yang terjadi nekrosis kemudian akan mengeluarkan K^+ dan protein intraseluler. Peningkatan kadar K^+ ekstraseluler mengakibatkan depolarisasi nosiseptor, sedangkan protein dalam beberapa keadaan dapat menginfiltasi mikroorganisme yang kemudian menimbulkan peradangan atau inflamasi. Akibatnya, mediator nyeri seperti prostaglandin E2 (PGE2), leukotriene, dan histamin akan mengirimkan sinyal kepada nosiseptor sehingga rangsangan berbahaya ataupun tidak berbahaya bisa menyebabkan

nyeri. Jika nosiseptor menerima rangsangan, maka mereka melepaskan substansi peptida P (SP), yang kemudian merangsang terjadinya proses inflamasi dan menghasilkan pelebaran pembuluh darah. Meningkatnya permeabilitas pembuluh darah menjadi penyebab timbulnya edema lokal, peningkatan tekanan jaringan dan kemudian akan merangsang nosiseptor. Peradangan juga dapat mengaktifasi penyebab pembekuan darah sehingga bradikinin dan serotonin akan terstimulasi dan akan merangsang nosiseptor (Bahrudin, 2017).

2.3.3 Neuroregulator Nyeri

a. Neurotransmitter

1. Substansi P (Peptida)

Terdapat pada neuron nyeri di kornu dorsalis (eksitator peptida) berperan dalam transmisi impuls nyeri oleh perifer menuju otak yang menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan edema.

2. Serotonin

Berfungsi sebagai penghambat transmisi nyeri. Neuroregulator ini dilepaskan oleh batang otak dan kornu dorsalis.

3. Prostaglandin

Dipercaya memiliki peran dalam peningkatan sensitivitas terhadap sel. Substansi ini dibangkitkan dari pemecahan fosfolipid di membrane sel (Bahrudin, 2017).

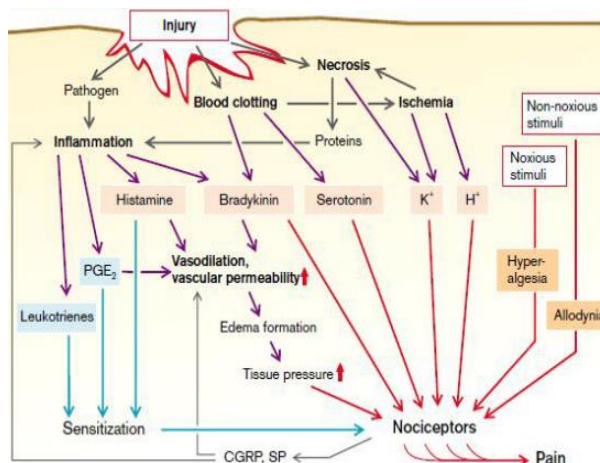
b. Neuromodulator

1. Endorfin (morfin endogen)

Substansi yang mirip dengan morfin diproduksi secara alami oleh tubuh dan diaktifkan oleh rasa sakit serta stres. Senyawa ini ditemukan di otak, sumsum tulang belakang, dan saluran pencernaan, berfungsi untuk memberikan efek analgesik.

2. Bradikinin

Substansi ini dikeluarkan oleh plasma dan kemudian terurai di sekitar pembuluh darah di area yang mengalami kerusakan. Ia berfungsi pada reseptor saraf perifer, yang meningkatkan sinyal nyeri. Di dalam sel, substansi ini memicu reaksi berantai yang mengakibatkan pelepasan prostaglandin. Prostaglandin, sebagai mediator nyeri, berperan dalam proses inflamasi dan dapat menyebabkan berbagai efek, termasuk peningkatan sensitivitas terhadap rasa sakit dan reaksi peradangan di lokasi cedera (Bahrudin, 2017).



Gambar 3. Mekanisme Nyeri (Silbernagl & Lang, 2000)

2.4 Analgesik

2.4.1 Definisi

Istilah analgesik digunakan untuk suatu bahan yang memiliki aktivitas penghambatan nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (Sari *et al.*, 2018).

2.4.2 Mekanisme aksi

Analgetik adalah senyawa yang dapat menekan fungsi saraf pusat secara selektif, yang digunakan untuk mengurangi sensasi nyeri tanpa mempengaruhi kesadaran. Analgetik bekerja dengan cara menghambat enzim *siklooksigenase* (COX), sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin E2 (PGE2) terhambat (Andayani & Hardiyanti, 2018).

2.4.3 Metode Uji Anti Nyeri

2.4.3.1 *Licking time*

Uji efektivitas analgesik kombinasi ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dan daun katang-katang (*Ipomoea pes caprae* L.) dilakukan dengan mengamati frekuensi waktu yang dibutuhkan mencit dalam respon menjilat kaki yang diinduksi formalin (*licking time*). Pada uji *licking time*, hewan uji akan mengalami dua fase efek perilaku sebagai respon nosiseptis (Puspitasari *et al.*, 2021). Senyawa yang memiliki peran penting dalam respons nyeri fase pertama (*neurogenik*) adalah substansi P (*Peptide*) dan bradikinin yang disebabkan oleh stimulasi langsung serat saraf sensorik. Sedangkan pada fase kedua (*fase inflamasi*) dimediasi oleh mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, prostaglandin, dan bradikinin (Sari *et al.*, 2018).

2.4.3.2 *Writhing test*

Respon geliat (*writhing*) merupakan respon yang diberikan mencit akibat adanya sensasi nyeri yang ditimbulkan oleh induksi asam asetat yang diketahui dengan munculnya kontraksi dinding perut kepala, dan kaki mencit tertarik ke belakang sehingga abdomen menyentuh dasar. Jumlah geliat yang ditimbulkan asam asetat dapat diturunkan dengan menghambat produksi prostaglandin oleh senyawa yang memiliki efek analgetik perifer (Anwar & Riswandi, 2019).

2.4.3.3 *Tail Flick*

Metode *Tail Flick Test* digunakan untuk menginduksi nyeri melalui stimulus panas. Prinsip dasar dari metode ini adalah mencatat waktu yang diperlukan oleh hewan uji untuk bertahan terhadap rangsangan panas pada suhu 50°C yang diterapkan pada ekor mereka. Respons nyeri ditunjukkan dengan perilaku penarikan atau menjentikan ekor secara tiba-tiba. Sebelum

perlakuan, hewan uji diuji terlebih dahulu menggunakan *tail flick analgesy-meter*, dan waktu yang dicatat menjadi acuan awal (T0). Setelah itu, tikus diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan secara peroral. Setelah 30 menit, mencit diuji kembali dengan menggunakan alat yang sama, dan waktu mulai menarik atau menjentikkan ekornya dicatat. Uji ini dilakukan pada interval 30, 60, 90, dan 120 menit setelah perlakuan (Keswara *et al.*, 2019).

2.4.3.4 Hot Plate

Pengujian dilakukan dengan induksi panas menggunakan *hot plate* dengan suhu 55 derajat celsius. Saat mencit menyentuh permukaan *hot plate*, *stopwatch* dinyalakan untuk mengamati berapa lama mencit menunjukkan respon nyeri yang ditandai dengan gerakan melompat atau menjilat kakinya. Waktu dicatat ketika mencit melompat pertama kali setelah diinduksi (Agung *et al.*, 2021).

2.5 Maserasi

2.5.1 Definisi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan tanpa pemanasan, di mana serbuk tanaman direndam dalam pelarut pada suhu kamar. Metode ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut tertentu (Kemenkes, 2017).

2.5.2 Mekanisme

Proses pemisahan senyawa dari simplisia menggunakan pelarut tertentu mengikuti prinsip *like-dissolve-like*, di mana senyawa polar dalam simplisia akan terlarut dalam pelarut polar. Pada proses ini, pelarut menembus dinding sel dan melarutkan zat aktif yang terdapat di dalam sel. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel menyebabkan zat aktif terdorong keluar dari sel. Proses ini

terjadi berulang kali hingga mencapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. (Dewatisari, 2020).

2.5.3 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi

Menurut Baihaqi *et al.* (2022), konsentrasi pelarut dan waktu maserasi sangat berpengaruh terhadap jumlah rendemen maserasi. Semakin lama waktu ekstraksi, maka akan semakin lama kesempatan pelarut untuk bersentuhan dengan sel (waktu kontak difusi semakin besar), sehingga rendemen akan terus bertambah hingga pelarut mencapai titik jenuh. Sebaliknya, waktu ekstraksi yang lebih pendek akan menghasilkan rendemen yang lebih sedikit karena tidak semua komponen terekstrak.

2.5.4 Keuntungan dan Kerugian

Beberapa keuntungan dan kerugian metode maserasi jika dibandingkan dengan metode lain adalah sebagai berikut:

A. Keuntungan

1. Bahan yang digunakan tidak harus berwujud serbuk yang halus (Aflika, *et al.* 2022).
2. Tidak diperlukan keahlian khusus (Aflika, *et al.* 2022).
3. Sangat cocok untuk senyawa yang bersifat termolabil karena tidak ada proses pemanasan seperti halnya sochletasi dan refluks.
4. Cocok untuk ekstraksi awal dan ekstraksi massal, karena dapat dilakukan sekaligus dalam jumlah yang besar (Ambarwati & Asnia, 2023).

B. Kerugian

1. Diperlukan penggojogan atau pengadukan, pengepresan dan penyaringan (Aflika, *et al.* 2022).
2. Memungkinkan terjadinya sisa residu pelarut dalam ampas (Aflika, *et al.* 2022).
3. Prosesnya bisa memakan waktu lama (Ambarwati & Asnia, 2023).

4. Mengonsumsi pelarut dengan jumlah besar (Ambarwati & Asnia, 2023).
5. Mutu produk akhir yang tidak konsisten (Aflika, *et al.* 2022).

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi menjadi pilihan yang tepat ketika ingin mengidentifikasi aktivitas suatu senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan seperti flavonoid (Koirewoa, *et al.* 2012).

2.6 Standardisasi

2.6.1 Definisi

Standardisasi adalah suatu tahapan yang sangat penting sebagai pemenuhan persyaratan bahan baku obat tradisional yang bertujuan untuk menjamin dan menjaga kualitas bahan obat, meliputi keamanan, khasiat, dan keseragaman mutu. Standardisasi meliputi pengujian parameter spesifik dan non spesifik simplisia dan ekstrak terhadap tanaman yang akan diuji atau digunakan sebagai bahan obat (Hasanah & Sriyono, 2021).

2.6.2 Parameter Spesifik

Menurut (Utami *et al.*, 2017), parameter spesifik yang perlu dilakukan dalam standardisasi meliputi:

1. Identitas (Determinasi)
Tumbuhan dideskripsikan berdasarkan tata nama nya, yang meliputi nama simplisia dan ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan, serta nama lokal tumbuhan (Depkes, 2000).
2. Pemeriksaan Organoleptik
Pemeriksaan organoleptik adalah suatu pemeriksaan simplisia dan ekstrak menggunakan panca indera dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes, 2000).
3. Uji Makroskopik
Uji makroskopik bertujuan untuk mencari kekhususan morfologi dan warna simplisia (Kemenkes, 2017). Uji ini dilakukan dengan

menggunakan indra penglihatan secara langsung ataupun dengan bantuan kaca pembesar. Langkah ini dilakukan untuk menentukan kekhususan warna dan morfologi tanaman (Utami, *et al.* 2017).

4. Uji Mikroskopik

Uji dilakukan dengan melakukan pengamatan fragmen pengenalan dari serbuk simplisia yang akan digunakan di bawah mikroskop. Kemudian disesuaikan dengan fragmen yang tertera pada farmakope herbal (Kemenkes, 2017).

5. Uji Fitokimia

Uji fitokimia/penapisan fitokimia dilakukan untuk mendeteksi keberadaan suatu senyawa yang terdapat dalam ekstrak, seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan saponin. Pengujian dilakukan dengan melakukan pereaksian ekstrak dengan reagen tertentu sesuai dengan golongan senyawa yang ingin diuji (Utami, *et al.* 2017).

6. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Uji ini dilakukan secara kuantitatif untuk menentukan jumlah kandungan senyawa dalam simplisia dan ekstrak yang larut dalam air, sehingga dapat memberikan gambaran jumlah senyawa yang terkandung didalamnya. Penetapan ini didasari oleh kelarutan suatu senyawa (Utami, *et al.* 2017).

7. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Uji ini dilakukan secara kuantitatif untuk menentukan jumlah kandungan senyawa dalam simplisia dan ekstrak yang larut dalam etanol, sehingga dapat memberikan gambaran jumlah senyawa yang terkandung didalamnya. Penetapan ini didasari oleh kelarutan suatu senyawa (Utami, *et al.* 2017).

2.6.3 Parameter Non Spesifik

1. Penetapan Bobot Jenis

Bobot jenis diartikan sebagai perbandingan kerapatan suatu zat terhadap kerapatan air dengan nilai massa berbanding satuan volume dalam suhu kamar (25°C). Penelitian ini dilakukan untuk

memberikan gambaran kandungan kimia yang terlarut dalam ekstrak. Pengujian ini dilakukan menggunakan piknometer (Depkes, 2000).

2. Penetapan Kadar Abu Total

Uji penetapan kadar abu dilakukan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak (Depkes, 2000). Semakin tinggi kadar abu yang diperoleh maka semakin tinggi kandungan mineral yang terdapat dalam bahan (Utami *et al.*, 2017).

3. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Kadar abu tidak larut asam menggambarkan adanya kontaminasi logam atau mineral yang tidak larut asam ke dalam bahan. Paparan logam berat dalam tubuh manusia dalam jangka panjang dapat merusak sistem peredaran darah, urat syaraf, dan kerja ginjal (Utami *et al.*, 2017).

4. Penetapan Kadar Air

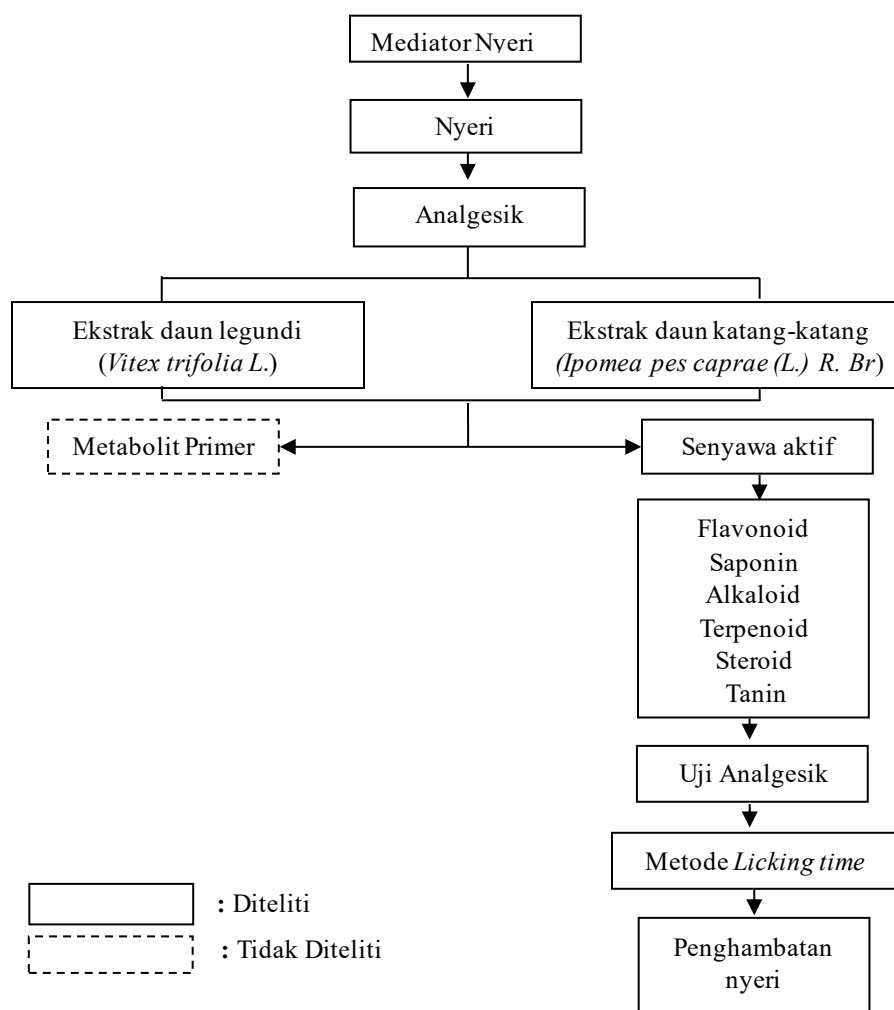
Pengujian kadar air dilakukan untuk mengetahui residu air setelah proses pengeringan. Terdapat beberapa metode uji seperti titrasi, destilasi, atau gravimetri. Penentuan kadar air berkaitan dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi (>10%) memicu pertumbuhan mikroba dan akan menurunkan stabilitas ekstrak (Depkes, 2000).

5. Penetapan Susut Pengeringan

Parameter susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang atau menguap selama proses pengeringan. Semakin kecil nilai susut pengeringan maka proses pengeringan yang dilakukan dianggap semakin baik (Depkes, 2000).

2.7 Kerangka Teori

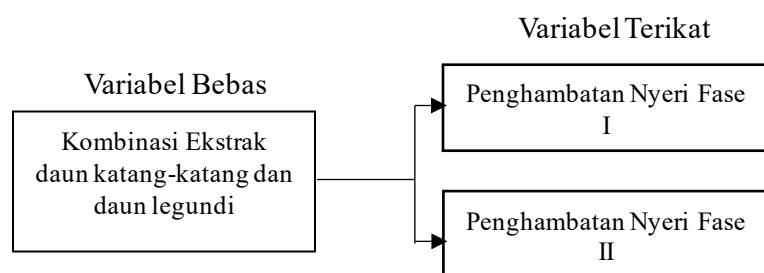
Penelitian ini didasarkan mekanisme mediator nyeri yang dapat menyebabkan terjadinya nyeri. Oleh sebab itu dibutuhkan analgesik untuk meredakan nyeri. Senyawa aktif yang memiliki peran dalam penghambatan nyeri dapat diperoleh dari bahan alami, seperti daun katang-katang dan daun legundi yang digunakan dalam penelitian ini. Daun katang-katang dan daun legundi diekstraksi menggunakan metode maserasi, dan dievaporasi sehingga mendapatkan ekstrak kental yang mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan tanin. Kombinasi kedua ekstrak tersebut kemudian diuji aktivitasnya dalam menghambat nyeri fase I dan fase II dengan metode *licking time*. Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan mencit jantan galur *balb/c* sebagai subjek penelitian. Adapun kerangka teori dapat dilihat pada **Gambar 4** sebagai berikut:



Gambar 4. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka teori penelitian yang dirancang, dapat dibuat sebuah kerangka konsep yang menggambarkan hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat dalam penelitian ini. Variabel bebas dalam hal ini adalah kombinasi ekstrak daun katang-katang dan daun legundi, sedangkan variabel terikat dalam hal ini adalah penghambatan nyeri fase I dan fase II. Kerangka konsep dalam penelitian ini dapat dilihat pada **Gambar 5** sebagai berikut:



Gambar 5. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *posttest only controlled group design* yaitu jenis penelitian yang hanya melakukan terhadap kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberikan tindakan (Notoatmodjo, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung digunakan untuk melakukan determinasi tanaman.
2. Laboratorium Farmasetika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung digunakan untuk melakukan ekstraksi, uji kadar sari larut air dan uji kadar sari larut etanol.
3. Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung digunakan dalam proses evaporasi ekstrak, skrining fitokimia, dan uji kadar air.
4. Laboratorium Patologi Klinis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung digunakan dalam pengujian mikroskopis, makroskopis, dan organoleptik dan Uji Aktivitas Analgesik.
5. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung digunakan dalam pengujian susut pengeringan.
6. Pengujian kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam dilakukan di Balai Standarisasi Pengujian dan Jasa Industri (BSPJI Lampung).

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada November 2024 sampai dengan Maret 2025.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) dengan berat badan 20-30 g dan umur 6-8 minggu yang berasal dari Institut Pertanian Bogor (IPB).

3.3.2 Sampel

Besar sampel dihitung dengan rumus Federer dengan rumus :

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok

Terdapat 5 kelompok dalam penelitian ini sehingga t = 5, sehingga didapatkan :

$$(5-1) (n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq$$

$$15 \quad 4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Maka, jumlah sampel yang diperlukan adalah 5 mencit untuk setiap kelompok, atau 25 mencit untuk 5 kelompok. Untuk menghindari terjadinya *drop out* selama proses penelitian berlangsung, akan dilakukan koreksi besar sampel dengan rumus :

$$N = n (1-f)$$

Keterangan :

N : Besar sampel koreksi

n : Besar sampel awal

f : Perkiraan proporsi *drop out* ($10\% = 0,1$)

Dengan menggunakan rumus di atas, dilakukan penghitungan yang dapat dijabarkan sebagai berikut :

$$N = 5/(1-0,1)$$

$$N = 5/(0,9)$$

$$N = 5,5 \approx 6$$

Setelah dilakukan koreksi besar sampel, didapatkan jumlah sampel yang akan digunakan yaitu sebanyak 6 ekor mencit pada tiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah mencit yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor.

Sampel akan diambil menggunakan teknik simpel *random sampling* dari jumlah mencit sebanyak 30 ekor yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

Adapun kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut :

a. Kriteria inklusi

1. Mencit (*Mus musculus*) galur *Balb/c*
2. Jenis kelamin jantan
3. Usia 6-8 minggu
4. Berat badan 20-30 g
5. Sehat, dibuktikan dengan dibuktikan dengan bulu-bulu yang tidak rontok dan tidak kusam, bergerak aktif, mulut tidak mengeluarkan lendir atau air liur, dan konsistensi feses normal dan padat.

b. Kriteria eksklusi

1. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah aklimatisasi
2. Mencit mati dalam rentang waktu penelitian berlangsung

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dengan perbandingan kombinasi konsentrasi dari kedua tanaman tersebut.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah aktivitas penghambatan nyeri fase 1 dan 2 ekstrak etanol daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dengan metode *licking time*.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional meliputi definisi, cara ukur, hasil ukur dan skala yang digunakan pada masing-masing variabel penelitian. Berikut adalah definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini:

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Kombinasi Ekstrak etanol daun katang-katang (<i>Ipomea pes caprae</i> (L.) R. Br.) dan daun legundi (<i>Vitex trifolia</i> L.). (Andayani & Hardiyanti, 2018)	Merupakan ekstrak etanol yang didapat dengan melakukan maserasi dan remaserasi daun katang-katang (<i>Ipomea pes caprae</i> (L.) R. Br.) dan daun legundi (<i>Vitex trifolia</i> L.).	Menggunakan konversi dosis 200 mg/kgBB manusia ke mencit dengan seri perbandingan konsentrasi: P1=1:1 P2=2:1 P3=1:2	Dosis konversi : = $0,0026 \times 70(200\text{mg})$ = 36,4 mg Dosis untuk satu ekor mencit : $36,4\text{mg} \times \frac{BB \text{ mencit } (g)}{20}$ Hasil perhitungan kemudian dikonversikan dengan perbandingan konsentrasi ekstrak	Ordinal
Aktivitas penghambatan nyeri fase I (Andayani & Hardiyanti, 2018).	Daya hambat nyeri yang diberikan oleh kombinasi ekstrak daun legundi dan daun katang-	Dengan menghitung jumlah mencit menjilat kakinya selama fase I	Persentase daya analgetik dihitung menggunakan rumus : % daya analgetik persisten =	Rasio

	katang pada menit ke 1 hingga menit ke 5 setelah diberikan perlakuan (induksi formalin 1%).		$\left(\frac{tn-tp}{tn} \right) \times 100\%$	
			Keterangan: tn = total waktu menjilat kontrol negatif tp = total waktu menjilat perlakuan Analisis	
Aktivitas penghambatan nyeri fase II (Andayani & Hardiyanti, 2018).	Daya hambat nyeri yang diberikan oleh kombinasi ekstrak daun legundi dan daun katang- katang pada menit ke 6 hingga menit ke 30 setelah diberikan perlakuan (induksi formalin 1%).	Dengan menghitung jumlah mencit menjilat kakinya selama fase II	Persentase daya analgetik dihitung menggunakan rumus : % daya analgetik persisten = $\left(\frac{tn-tp}{tn} \right) \times 100\%$ Keterangan: tn = total waktu menjilat kontrol negatif tp = total waktu menjilat perlakuan Analisis	Rasio

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Gunting, oven (Memmert®), gelas beaker, spatula, timbangan analitik (Shimadzu®), batang pengaduk, corong kaca, Erlenmeyer, pH meter, *Rotary evaporator* (Buchi®), Gelas ukur, rak dan tabung reaksi, lempeng KLT (silika gel GF₂₅₄), pipet tetes, cawan penguap, waterbath (IKA®), labu ukur, kaca arloji, hot plate, labu alas bulat, jarum suntik oral, jarum suntik intraplantar, *stopwatch*, mikropipet, mikroskop (Olympus®).

3.6.2 Bahan Penelitian

Daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.), etanol 70%, aqua destilata, pereaksi mayer dan wagner, pereaksi dragendorff, Zn(OH)₂, H₂SO₄ 2N, H₂SO₄ pekat, FeCl 5%, kloroform, Asam mefenamat, formalin, HCl 2N, HCl pekat, HCl 0,1N, kloralhidrat LP, toluene.

3.6.3 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman yang bertujuan untuk mengetahui keaslian dan kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan sebagai sampel (Kemenkes, 2017).

3.6.4 Pembuatan Simplisia

Sampel uji pada penelitian ini adalah daun katang-katang (*Ipomea pes-caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) yang diperoleh dari pesisir pantai kecamatan Padang Cermin, Pesawaran, Provinsi Lampung (katang-katang) dan kecamatan Punduh Pidada, Pesawaran (legundi). Kriteria daun yang dipilih adalah berwarna hijau hingga hijau tua, tidak busuk, bebas dari serangan hama, dan berukuran relatif besar. Menurut (Utami *et al.*, 2017), pembuatan simplisia dilakukan dengan melibatkan beberapa hal penting yang meliputi sortasi, pembersihan bahan, perajangan, pengeringan dan penyimpanan.

Pada tahapan awal, bagian tanaman yang akan digunakan dipisahkan dari bagian lainnya. Pembersihan dilakukan dengan pencucian menggunakan air mengalir dan dilakukan pengulangan beberapa kali hingga tanaman bersih dari kontaminasi debu dan pasir. Kemudian dirajang dan dikeringkan dibawah sinar matahari dan dilanjutkan pengeringan menggunakan oven dengan suhu tidak lebih dari 60°C.

Menurut Handoyo dan Peonoto (2020), tahapan pengeringan merupakan langkah krusial yang sangat mempengaruhi kandungan senyawa dalam bahan. Proses ini tidak hanya bertujuan untuk mengurangi kadar air, tetapi juga untuk menjaga stabilitas dan integritas senyawa aktif yang terdapat dalam bahan tersebut. Semua tahapan dalam proses pengeringan harus dilakukan sesuai dengan standar mutu yang ditetapkan untuk memastikan bahwa hasil akhir memenuhi kriteria kualitas yang diharapkan dan aman untuk digunakan.

3.6.5 Pembuatan Ekstrak

Simplisia ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam tabung maserasi. Dimasukkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 untuk membasahi simplisia, Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam bahan simplisia dalam tabung tertutup selama 5 hari (5 x 24 jam) dan terlindungi dari cahaya, dengan pengadukan setiap hari untuk memastikan pelarut dapat mengekstrak senyawa aktif secara efektif. Setelah periode perendaman selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak cair dari residu. Residu yang tersisa kemudian diremaserasi dengan etanol 70% selama 2 hari (2 x 24 jam) untuk mengekstrak senyawa aktif yang mungkin masih tertinggal. Hasil remaserasi disaring kembali untuk memisahkan ekstrak cair dari sisa bahan padat, dan kedua ekstrak cair tersebut dikumpulkan menjadi satu. Selanjutnya, ekstrak cair yang telah dikumpulkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. (Hasan *et al.*, 2024).

3.6.6 Standardisasi

Standardisasi simplisia dalam penelitian ini melibatkan beberapa parameter untuk memastikan kualitas dan keamanan simplisia. Serangkaian parameter yang digunakan adalah sebagai berikut:

A. Parameter Spesifik

1. Uji Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik ekstrak dilakukan dengan mengamati bentuk, bau, rasa, dan warna. Pernyataan “tidak berbau”, “praktis tidak berbau”, “berbau khas lemah” atau lainnya, ditetapkan dengan pengamatan setelah ekstrak terpapar udara selama 15 menit. Waktu dihitung setelah wadah yang berisi tidak lebih dari 25 g ekstrak dibuka. Jika ekstrak yang didapatkan lebih dari 25 g, maka dipindahkan terlebih dahulu ke cawan penguap ukuran 100 ml (Utami, *et al.* 2017).

Menurut Kemenkes (2017), simplisia daun legundi memiliki permukaan atas berwarna hijau kehitaman, permukaan bawah berwarna kelabu agak putih, memiliki bau khas dengan rasa pahit. Sedangkan untuk ekstrak kental berwarna coklat tua, bau khas, dengan rasa agak kelat.

2. Uji Makroskopik

Uji makroskopik dilakukan untuk mengamati morfologi khusus dan warna dari simplisia daun katang-katang dan daun legundi, menggunakan kaca pembesar atau tanpa alat (Kemenkes, 2017).

3. Uji Mikroskopis

Uji mikroskopik dilakukan menggunakan serbuk simplisia dengan mengamati fragmen pengenal daun katang-katang dan legundi secara umum menggunakan mikroskop dan dengan kloralhidrat LP (Kemenkes, 2017). Fragmen pengenal dari daun legundi yaitu memiliki kristal kalsium oksalat bentuk roset, epidermis atas, epidermis atas dengan rambut kelenjar, epidermis bawah dengan rambut penutup, dan berkas pengangkut dengan penebalan tipe tangga (kemenkes, 2017).

4. Senyawa Terlarut dalam Pelarut Air

Pertama-tama simplisia dan ekstrak masing-masing ditimbang sekitar 5 g dan dimasukkan ke dalam labu bersumbat. Selanjutnya, tambahkan 100 mL air jenuh kloroform dan kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, kemudian biarkan selama 18 jam. Setelah itu, larutan disaring dan 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara. Residu yang dihasilkan kemudian dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam persen sari larut air. Standar kadar sari larut air daun legundi adalah tidak kurang dari 14,9% (Kemenkes, 2017).

5. Senyawa Terlarut Dalam Pelarut Etanol

Proses ekstraksi dilakukan dengan menimbang simplisia dan ekstrak masing-masing sekitar 5 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu bersumbat. Tambahkan 100 mL etanol P, lalu kocok berkali-kali selama 6 jam pertama dan biarkan selama 18 jam untuk memastikan senyawa terlarut dengan baik. Setelah itu, segera saring larutan untuk menghindari penguapan etanol. Selanjutnya, ambil 20 mL dari filtrat dan diuapkan hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara. Residu yang dihasilkan kemudian dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam persen sari larut etanol. Standar kadar sari larut etanol daun legundi adalah tidak kurang dari 10,3% (Kemenkes, 2017).

B. Parameter Non-spesifik

1. Susut Pengeringan

Pengukuran jumlah zat yang menguap atau hilang akibat pemanasan dilakukan dengan metode susut pengeringan, yang menunjukkan jumlah zat yang mudah menguap saat dipanaskan. Proses dimulai dengan menimbang 1-2 g simplisia dan memasukkannya ke dalam krus porselen tertutup yang telah dipanaskan sebelumnya pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditara. Setelah itu, krus porselen dimasukkan ke dalam oven dalam keadaan tutup terbuka dan dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap tercapai. Setelah pengeringan, krus didinginkan dalam eksikator sebelum ditimbang kembali. Proses ini diulang sebanyak tiga kali untuk memastikan akurasi hasil. Standard susut pengeringan adalah tidak lebih dari 10% (Kemenkes, 2017).

2. Kadar Air

Uji kadar air simplisia dan ekstrak ditentukan menggunakan alat *moisture balance* dengan cara masing-masing sampel dimasukkan sebanyak 2 g ke dalam *moisture balance* yang telah disiapkan pada suhu 100°C selama 10 menit, lalu dicatat hasil akhir nilai kadar air yang tertera pada alat (Maryam, *et al.*, 2021). Standar kadar air yang sesuai adalah tidak lebih dari 10% (Kemenkes, 2017).

3. Kadar Abu Total

Simplisia dan ekstrak masing-masing ditimbang sebanyak 2 -3 g dan dimasukkan ke dalam cawan porselen (platina) yang telah ditimbang dan diketahui bobotnya, untuk sampel cairan diuapkan dengan penangas air sampai kering. Setelah itu, diarakkan di atas nyala pembakar kemudian diabukan dalam tanur listrik pada suhu maksimum 550°C sampai mencapai pengabuan yang sempurna, dengan sesekali pintu tanur dibuka sedikit supaya oksigen dapat masuk. Kemudian didinginkan dalam eksikator, lalu ditimbang sampai bobot tetap (Badan Standardisasi Nasional, 1992). Standard kadar abu total adalah tidak lebih dari 16,6% (Depkes RI, 2008).

4. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dilarutkan dengan penambahan 25 mL HCl 10%, lalu dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, larutan disaring dengan kertas saring bebas abu dan dicuci dengan air suling sampai bebas klorida. Selanjutnya, dikeringkan kertas saring di dalam oven dan dimasukkan ke dalam cawan porselen (platina) yang sebelumnya telah ditimbang dan diketahui bobotnya, lalu diabukan. Cawan didinginkan dalam eksikator hingga mencapai suhu kamar kemudian ditimbang sampai bobot tetap (Badan

Standarisasi Nasional, 1992). Standard kadar abu tidak larut asam adalah tidak lebih dari 0,7% (Depkes RI, 2008). Pengujian ini dapat memastikan kualitas dan keamanan simplisia, serta memastikan bahwa simplisia yang digunakan adalah yang benar dan berkualitas (Utami *et al.*, 2017).

3.6.7 Penapisan Fitokimia

Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder, maka dilakukan penapisan fitokimia menggunakan metode Harbone (1987) sebagai berikut:

a. Uji Alkaloid

Prosedur pengujian alkaloid dimulai dengan mencampurkan ekstrak dengan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak, kemudian dipanaskan, dikocok, dan disaring untuk memisahkan senyawa yang terlarut. Setelah penyaringan, tambahkan 5 tetes asam sulfat 2N ke masing-masing filtrat, lalu kocok dan biarkan selama beberapa waktu hingga terbentuk dua lapisan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil untuk diuji dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Adanya alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan: endapan putih pada uji Mayer, endapan coklat pada uji Wagner, dan endapan jingga pada uji Dragendorff. Hasil ini menunjukkan keberadaan alkaloid dalam ekstrak yang diuji, yang dapat berfungsi sebagai indikator aktivitas biologis dari senyawa tersebut (Harbone, 1987).

b. Uji Flavonoid

Proses pengujian flavonoid dimulai dengan mencampurkan ekstrak dengan 3 ml etanol 70%, kemudian dikocok dan dipanaskan sebelum disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 0,1 g serbuk magnesium dan 2 tetes HCl pekat, lalu dikocok kembali. Adanya flavonoid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya

warna merah pada lapisan etanol. Warna merah ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid telah tereduksi oleh magnesium dalam suasana asam, yang merupakan indikator positif untuk keberadaan flavonoid dalam ekstrak yang diuji (Harbone, 1987).

c. Uji Tanin

Proses pengujian tanin dimulai dengan melarutkan ekstrak dalam 10 mL air, kemudian disaring untuk memisahkan partikel padat. Filtrat yang diperoleh kemudian diencerkan dengan air hingga larutan tidak berwarna. Dari larutan tersebut, diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Adanya tanin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman. Warna ini menunjukkan interaksi antara tanin dan ion besi (Fe^{3+}) yang menghasilkan kompleks berwarna, yang merupakan indikator positif untuk keberadaan tanin dalam ekstrak yang diuji (Harbone, 1987).

d. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak dicampur dengan 3 mL kloroform atau 3 mL etanol 70%, kemudian ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Adanya senyawa steroid ditandai dengan perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau, sedangkan adanya senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna kecoklatan di antara permukaan larutan. Reaksi ini merupakan bagian dari metode *Liebermann-Buchard* yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa steroid dan terpenoid dalam ekstrak (Harbone, 1987).

e. Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. Setelah itu, larutan didinginkan dan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Keberadaan saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih setinggi 1-10 cm yang bertahan selama tidak

kurang dari 10 menit. Selain itu, ketika 1 tetes HCl 2 N ditambahkan, buih tersebut tetap tidak hilang. Hasil ini menunjukkan bahwa saponin memiliki kemampuan untuk membentuk busa yang stabil, yang merupakan karakteristik khas dari senyawa ini (Depkes RI, 1985).

3.6.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 70% kemudian ditotolkan pada lempeng silika yang sudah diaktifkan, lalu dilakukan elusi pada profil kromatografi lapis tipis fase gerak nonpolar dan fase gerak polar. Fase gerak nonpolar menggunakan eluen *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 8:2 (v/v), sedangkan fase gerak polar menggunakan kloroform dan metanol dengan perbandingan 8,6:1,4 (v/v). Dilihat hasil penampakan noda melalui lampu Ultraviolet (UV) 254 nm, 365 nm dan dengan pereaksi semprot H₂SO₄ 10 % kemudian dihitung nilai R_f flavonoid kuersetin (Depkes, 2000).

3.6.9 Uji Aktivitas Analgetik

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang melibatkan pengacakan 25 ekor mencit, yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan ($t=5$) dengan pengulangan sebanyak lima kali ($n=5$).

1. Kelompok kontrol positif (K+) menerima perlakuan berupa penambahan asam mefenamat dosis 500 mg yang dikonversi dari manusia ke mencit secara peroral dan 20 μ l formalin 1% secara intraplantar.
2. Kelompok kontrol negatif (K-) dilakukan penambahan CMC Na 0,5% sebanyak 0,2 ml secara peroral dan 20 μ l formalin 1% secara intraplantar.
3. Perlakuan satu (P1) melibatkan penambahan kombinasi ekstrak daun katang-katang dan daun legundi dengan dosis 200 mg/kgBB dengan perbandingan 1:1 secara peroral dan 20 μ l formalin 1% secara intraplantar.

4. Perlakuan dua (P2) menggunakan kombinasi ekstrak dengan perbandingan 2:1 dengan cara yang sama.
5. Perlakuan tiga (P3) menggunakan ekstrak dengan kombinasi 1:2. Pengamatan dilakukan untuk menilai efek dari perlakuan tersebut terhadap mencit yang digunakan dalam penelitian ini.

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efek analgesik dari perlakuan yang diberikan terhadap mencit yang diinduksi formalin dengan metode *licking time* yang berlangsung selama 30 menit. Pengukuran dilakukan dengan menghitung jumlah jilatan pada kaki belakang hewan uji, yang dikenal sebagai total *licking time*. Pengamatan dibagi menjadi dua fase, fase I atau *early phase* (0-5 menit) dan fase II atau *late phase* (10-30 menit).

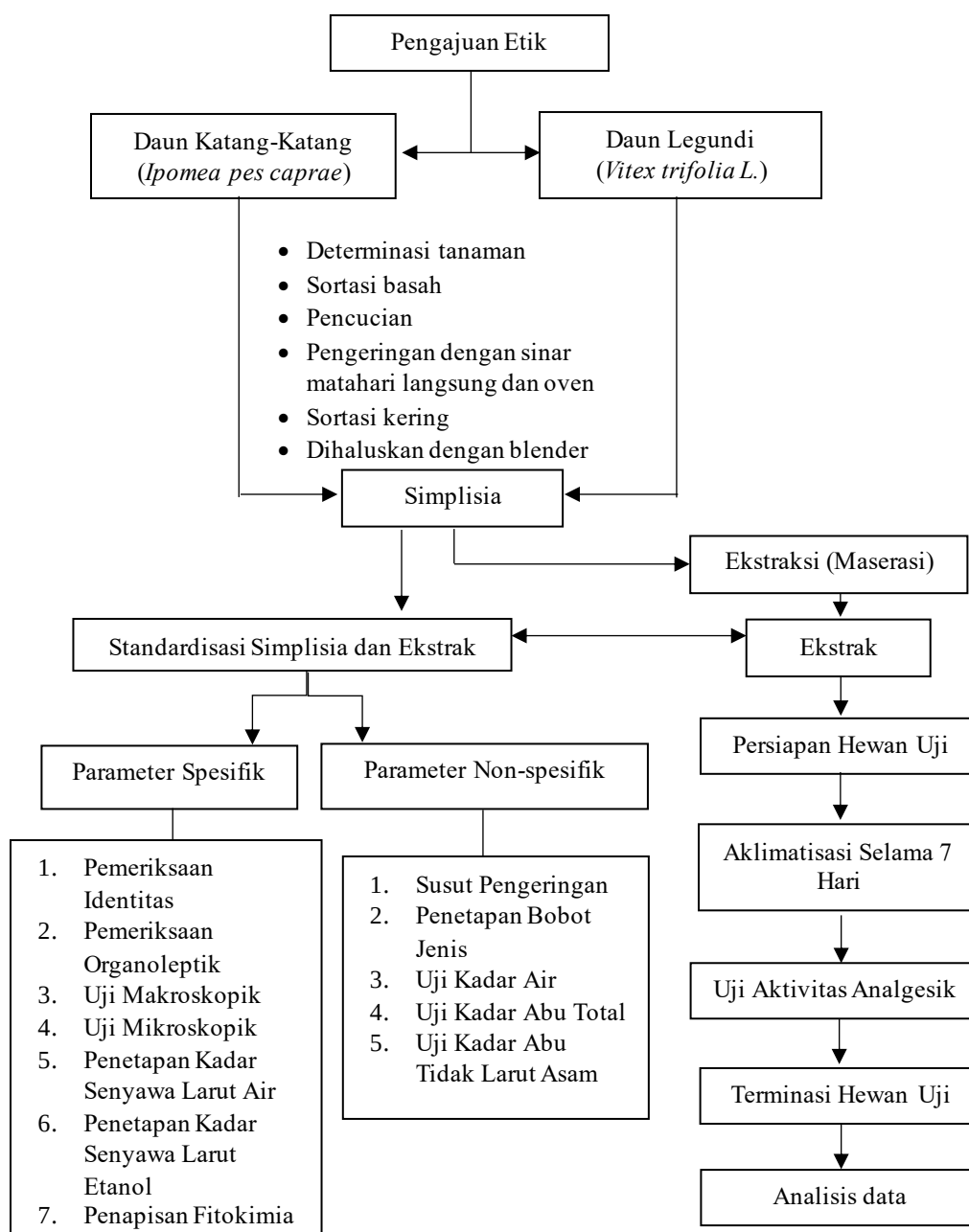
Tabel 2. Perlakuan Uji Analgesik

Kelompok	Induksi Nyeri	Perlakuan
K+	20 µl formalin 1% (Intraplantar)	asam mefenamat dosis 500 mg yang dikonversi dari manusia ke mencit (P.O)
K-	20 µl formalin 1% (Intraplantar)	CMC Na 0,5% sebanyak 0,2 ml (P.O)
P1	20 µl formalin 1% (Intraplantar)	Kombinasi ekstrak 1:2 dengan dosis 200 mg/kgBB
P2	20 µl formalin 1% (Intraplantar)	Kombinasi ekstrak 1:1 dengan dosis 200 mg/kgBB
P3	20 µl formalin 1% (Intraplantar)	Kombinasi ekstrak 2:1 dengan dosis 200 mg/kgBB

3.7 Alur Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun katang katang dan daun legundi sebagai penghambat nyeri fase I dan fase II dengan metode *licking time*. Metode awal yang dilakukan adalah standarisasi simplisia kedua tanaman yang meliputi parameter spesifik dan non-spesifik. Metode selanjutnya adalah ekstraksi simplisia dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dan dilakukan standarisasi ekstrak. Uji aktivitas analgesik fase I dan fase II dilakukan dengan metode *Licking time* untuk mengetahui adanya

aktivitas analgesik ekstrak etanol daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.). Penelitian ini dilakukan berdasarkan alur yang sudah dirancang seperti Gambar 6 di bawah ini. Kerangka alur penelitian ini akan membantu dan mengarahkan peneliti dalam menjalankan penelitian, dimulai dari pengumpulan sampel daun katang-katang dan daun legundi hingga pengujian aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II. Data hasil penelitian ini kemudian akan dianalisis untuk menjawab rumusan masalah. Berikut adalah alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini:



Gambar 6. Alur Penelitian

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Menurut (Puspitasari *et al.*, 2021) persentase daya analgetik dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ daya analgetik persisten} = \left(\frac{tn-tp}{tn} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

tn = total waktu menjilat kontrol negatif

tp = total waktu menjilat perlakuan Analisis

Data yang didapatkan kemudian diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk*. Setelah itu, dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji jarak *Duncan* untuk membandingkan perlakuan yang berbeda. Semua uji dilakukan dengan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 20.

1. Uji *One Way ANOVA*

Jika hasil analisis menunjukkan bahwa nilai signifikansi (*Sig.*) < 0,05, maka ada perbedaan *licking time* antara kelompok-kelompok perlakuan yang berbeda. Jika hasil analisis menunjukkan bahwa nilai signifikansi (*Sig.*) > 0,05, maka tidak ada perbedaan *licking time* antara kelompok-kelompok perlakuan yang berbeda.

2. Hasil Uji Jarak *Duncan*

Setelah menemukan perbedaan yang signifikan, uji jarak *Duncan* digunakan untuk mengetahui mana dari perlakuan yang memiliki nilai *licking time* yang berbeda secara signifikan. Hasil ini akan menunjukkan bahwa perlakuan mana yang memiliki efek analgetik yang paling signifikan berdasarkan pengukuran *licking time*.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) masing-masing mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid, dan saponin.
2. Hasil uji KLT Ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) menunjukkan nilai Rf sebesar 0,52; 0,75; 0,81 dengan warna bercak biru muda, biru tua, dan hijau kekuningan. Sedangkan pada ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) memiliki nilai Rf 0,57; 0,76; 0,81 dengan warna bercak biru muda, hijau kekuningan, dan hijau tua. Hasil ini memperkuat hasil penapisan fitokimia yang menyatakan adanya senyawa flavonoid pada kedua ekstrak.
3. Aktivitas penghambatan nyeri fase I dan fase II kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dengan dosis 200mg/kg BB pada perbandingan 2:1 merupakan formula kombinasi terbaik dibandingkan dengan 1:1 dan 1:2 dengan persentase daya analgetik fase I sebesar 80,62% dan fase II sebesar 76,83%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan beberapa hal, yaitu:

1. Perlu dilakukan pengujian kandungan total fenolik dan total flavonoid dari kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

2. Perlu dilakukan pengujian identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT) pada senyawa fitokimia yang lain seperti alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait uji bioaktivitas lain terhadap kombinasi ekstrak daun katang-katang (*Ipomea pes caprae* (L.) R. Br.) dan ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Aflika, T.H., Indrianita, V., & Rohmah, E.A. 2022. Polifenol antioksidan pada ubi jalar (*Ipomea batatas*). Jawa Timur: Penerbit Rena Cipta Mandiri.
- Agung, I. G., Kusuma, A., Agus, I. M., Putra, S., & Adrianta, K. A. 2021. Efektivitas analgesik ekstrak etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura L.*) pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan metode rangsangan panas (*Hot Plate Method*). 7(1):8–12.
- Andayani, D., & Hardiyanti, N. 2018. Efektivitas daun katang-katang (*Ipomoea pes-caprae* L.Sweet) dalam menghambat nyeri pada fase 1 dan fase 2 dengan metode *Licking time* pada mencit jantan. Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmiah Kesehatan. 4(2):83–89.
- Andayani, D., & Nugrahani, R. 2018. Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun katang-katang (*Ipomoea Pescaprae. L*) dari Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 3(2): 76.
- Andriyono. 2019. Kaempferia galanga L. sebagai anti-inflamasi dan analgetik. Jurnal Kesehatan. 10(3):495–502.
- Ankalikar, A., & Viswanathswamy, A. H. 2017. Effect of leaves of *Vitex trifolia* linn on different stages of inflammation. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research. 51(3): 461–471.
- Anwar, K., & Riswandi, M. (2019). Perbandingan aktivitas analgetik infusa dan ekstrak etanol umbi akar tawas (*Ampelocissus rubiginosa Lauterb.*). 06(02): 40–47.

- Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21–29.
- Bahrudin, M. 2017. Patofisiologi nyeri 7. *Patofisiologi Nyeri*. 13(1): 7–13.
- Baihaqi, B., Hakim, S., Nuraida, N., Mandasari, M., & Mahfuzah, M.(2022). Pengaruh konsentrasi pelarut dan waktu maserasi terhadap hasil ekstraksi oleoresin jahe merah (*Zingiber officinale* var . *rubrum*). 4(2): 48–52.
- Deepak Venkataraman, N., Clement Atlee, W., Muralidharan, P., Purushoth Prabhu, T., Priya, M. S., & Muthukumaran, S. 2013. Assessment of acute dermal toxicity of ethanolic extracts from aerial parts of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. br on wistar albino rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 4(3): 769–776.
- Depkes. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewatisari, W. F. 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) menggunakan metode maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Covid 19*. 127–132.
- Fauziyah, N., Widyasanti, A., & Sutresna, Y. 2022. Kajian pengaruh konsentrasi etanol terhadap karakteristik oleoresin ampas jahe merah (*Zingiber officinale roscoe*) limbah penyulingan. *Teknotan* 16(3): 169.
- Handoyo, D. L. Y., & Pranoto, M. E. 2020. Pengaruh variasi suhu pengeringan terhadap pembuatan simplisia daun mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54.
- Haryanto, Y. 2024. Pengaruh penggunaan limbah etanol laboratorium terhadap kadar senyawa andrografolid hasil ekstraksi dan isolasi herba sambiloto. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*. 161–173.
- Hasan, T., Irfayanti, N. A., Arifin, A., & Muhammad, A. S. 2024. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun katang (*Ipomoea pes-caprae* L.) asal Wolu Provinsi Maluku menggunakan metode DPPH. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 392–406.
- Hasanah, N., & Sriyono, A. 2021. *Standardisasi simplisia dan ekstrak daun matoa*

- (*Pometia pinnata* J . R Forst & G . Forst). Journal Pharmascience. 8(01): 101–110.
- Paul *et al.* 2024. Isolation, characterizations, and antimicrobial activities of a compounds isolated from plant *Ipomea Pes-Caprae* L. Available at SSRN 4996095.
- Khairunnisa, S., Hakim, A. R., & Audina, M. 2022. Perbandingan kadar flavonoid total berdasarkan perbedaan konsentrasi pelarut etanol dari ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* L). Journal Pharmaceutical Care and Sciences, 3(1): 121–131.
- Latifa *et al.* 2022. Penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol simplisia buah tin (*Ficus carica* L.). Bandung Conference Series: Pharmacy. 2(2).
- Marpaung, M. P., & Septiyani, A. 2020. Penentuan parameter spesifik dan nonspesifik ekstrak kental etanol batang akar kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). Journal of Pharmacopolium, 3(2): 58–67.
- Maryam, S., Hartono, K., & Widiyawati, I. E. 2021. Clove leaf ethanol extract (*Syzygium aromaticum* L. Merr. And Perr) is formulated as antiseptic liquid soap. *Journal of Physics: Conference Series*, 1869.
- Maryam, Taebe, B., & Toding, D. P. 2020. Pengukuran parameter spesifik dan non spesifik ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G.Forst). Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, 6(01). 1–12.
- Meylani *et al.* 2023. Rasionalitas penggunaan obat anti inflamasi non steroid (OAINS) pada pasien rawat jalan di Puskesmas Putri Ayu Kota Jambi tahun 2023. JOMS. 13(1): 104–116.
- Mottaghipisheh, J., Kamali, M., Doustimotlagh, A. H., Nowroozzadeh, M. H., Rasekh, F., Hashempur, M. H., & Iraj, A. 2024. A comprehensive review of ethnomedicinal approaches, phytochemical analysis, and pharmacological potential of *Vitex trifolia* L. *Frontiers in Pharmacology*. 15(3): 1–23.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. 2017. Standarisasi ekstrak air daun jati belanda dan teh hijau. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 4(2): 241–245.
- Nandini, K., Putri, N., Farmasi, P. S., Kesehatan, F., & Bumigora, U. 2024. Hubungan kejadian gastritis dengan riwayat penggunaan obat anti inflamasi

- non steroid (OAINS) pada pasien yang melakukan pemeriksaan endoskopi. Biocity. 2(2): 67–76.
- Oktoba, Z., Moektiwardoyo, M., & Mustarichie, R. 2018. In vivo hair growth stimulating activity of ethanol extract and its fractions from rampai lampung (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) leaves. International Research Journal Of Pharmacy. 9(9): 87–92.
- Oktoba, Z., Adjeng, A. N. T., Romulya, A. 2024. Etnopharmacy study of medicinal plants lampung Tribe in Pekon Tabuan Island, District Cukuh Balak, Tanggamus Regency, Lampung Province. Jurnal Jamu Indonesia. 9 : 8-23
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. 2018. Preliminary phytochemical screening (Qualitative Analysis) of cacao leaves (*Theobroma cacao* L.). EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA, 19(2): 40–45.
- Permadi, A., dan Nardiarti, A., 2015. Uji daya analgetik ekstrak etanol daun seledri (*Amplum graveolens* L.) pada mencit gluss swiss dengan metode rangsangan kimia. Indonesian Journal On Medical Science. 2(2) : 99-105, ISSN : 2443-1249. Politeknik Kesehatan Bhakti Mulia.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *staphylococcus epidermidis*. Biosaintropis (Bioscience-Tropic). 7(2): 57–68.
- Puspitasari, V., Wahjuni, R. S., Saputro, A. L., Hamid, I. S., & Wibawati, P. A. 2021. Effectiveness of clove flower extract (*syzygium aromaticum* l.) as analgesic on *licking time* reaction in male mice with formalin induction. Jurnal Medik Veteriner, 4(2). 226–230.
- Sari, Y. L., Wisudanti, D. D., & Shodikin, M. A. 2018. Uji efektivitas analgesik ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *licking time* mencit yang diinduksi formalin. Journal of Agromedicine and Medical Sciences. 4(2): 83–89.
- Schug *et al*, S. 2020. Acute Pain Management: Scientific Evidence (Issue December 2020).
- Shalsyabillah, F., & Sari, K. 2023. Skrining fitokimia serta analisis mikroskopik dan makroskopik ekstrak etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.). Health

Information : Jurnal Penelitian. 15(2): 1–9.

- Tamimi, P., Queljoe, E. De, & Siampa, J. P. 2020. Uji efek analgesik ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera Lam.*) pada tikus putih jantan galur *wistar*. Jurnal Pharmacon. 9: 325–333.
- Usman, Y., & Muin, R. 2023. Uji kualitatif dan perhitungan nilai Rf senyawa flavonoid dari ekstrak daun gulma siam. Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology. 1(1): 12.
- Utami, P. Y., Umar, H. abdul, Syahrani, R., & Kadullah, I. 2017. Standardisasi simplisia dan ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn.*). Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences. 2(1): 32–39. <https://www.researchgate.net/publication/350241362>
- Voight, R. 1995. Teknologi farmasi (S. N. Soewandhi, Trans.). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Yogyakarta,
- Vieira, D., Padoani, C., Soares, J. dos S., Adriano, J., Filho, V. C., de Souza, M. M., Bresolin, T. M. B., & Couto, A. G. 2013. Development of hydroethanolic extract of *Ipomoea pes-caprae* using factorial design followed by antinociceptive and anti-inflammatory evaluation. Revista Brasileira de Farmacognosia. 23(1). 72–78.
- Wicaksono, A.J., Yuniarti, N., dan Pramono, S., 2015. Pengaruh pemberian kombinasi minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthoriza Roxb.*) dan kurkuminoidnya terhadap efek analgetik pada mencit. Tradisional Medicine Journal. 20(1) : 16-23, ISSN : 1410-5918. Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada : Yogyakarta.