



PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) PADA MENCIT NEUROPATI DENGAN METODE *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL)

SKRIPSI

Oleh :

Afifah

NIM 122210101077

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2016



PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) PADA MENCIT NEUROPATI DENGAN METODE *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL)

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Afifah

NIM 122210101077

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Abi dan Mama tercinta, Ali Salim Bafared dan Sifa' Abdun Bahanan yang telah membesarkan saya dengan penuh kasih sayang, kesabaran, kerja keras, dan doa beliau, skripsi ini dapat diselesaikan;
2. Abang Husein, Kakak Safirah, dan saudara kembar Azizah dengan kasih sayang, motivasi, dan doa, skripsi ini dapat diselesaikan;
3. Guru, dosen, dan pendidik yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan sejak bangku taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya
(Al-Baqarah 286)^{*)}

Bersyukurlah dan jalani atas apa yang sudah diberikan oleh Allah dan berusaha
sebaik mungkin untuk mendapatkan yang terbaik



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al-Qur'an dan Terjemahannya.
Semarang : PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

nama : Afifah

NIM : 122210101077

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Minyak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Pada Mencit Neuropati Dengan Metode *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.**

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juni 2016

Yang menyatakan,

Afifah

NIM. 122210101077

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK JAHE MERAH (*Zingiber officinale*
var. *Rubrum*) PADA MENCIT NEUROPATI DENGAN METODE *Partial*
Sciatic Nerve Ligation (PSNL)**

Oleh
Afifah
NIM 122210101077

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Minyak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Pada Mencit Neuropati Dengan Metode *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm.
NIP 198404062009122008

Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm
NIP 197812212005012002

Penguji Utama

Penguji Anggota

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP 197305132005012001

Indah Punama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP 198304282008122004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Minyak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Pada Mencit Neuropati dengan Metode *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL); Afifah; 122210101077; 2016: 63 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Menurut *International Association for the Study of Pain* (IASP), nyeri merupakan suatu pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan serta berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan secara aktual dan potensial atau keadaan yang menggambarkan kerusakan tersebut. Nyeri kronik adalah sakit yang berkelanjutan atau berulang, nyeri yang dialami dengan durasi lebih lama bahkan bisa berbulan-bulan yaitu sekitar tiga atau enam bulan atau bertahun-tahun, yang merugikan, dan dapat mempengaruhi kesejahteraan individu. Nyeri kronik diestimasikan terjadi pada 2-40% populasi dewasa. Di Indonesia sendiri, dilaporkan bahwa 25-50% dari penduduk dengan usia lanjut, mengalami nyeri. Salah satu kondisi nyeri kronik adalah nyeri neuropati.

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman obat yang telah banyak digunakan di pengobatan herbal Cina dan Ayurveda di seluruh dunia untuk beragam penyakit, salah satunya nyeri. Salah satu jenis jahe yang ada di Indonesia adalah jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Minyak jahe disusun dari monoterpen hidrokarbon, sesquiterpen hidrokarbon, dan monoterpen oksigenasi. Sama halnya dengan jahe merah, komponen kimia dari minyak pada rhizomanya terdiri dari monoterpen, sesquiterpen, monosesquiterpen oksigenasi, dan beberapa komponen miscellaneous. Jahe merah memiliki efek analgesik pada pengobatan tradisional Indonesia. Minyak jahe merah diperkirakan bersifat sebagai analgesik dan juga ansiolitik serta memperlihatkan aktivitas antiinflamasi, antinosisseptif dan imunomodulator.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratories* dengan menggunakan 25 ekor hewan coba (mencit) dengan 5 kelompok yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak jahe merah dalam mengatasi nyeri

kronik akibat neuropati. Parameter yang digunakan untuk mengamati pengaruh minyak jahe merah adalah peningkatan waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas dengan uji *hot plate*. Pengukuran nilai *baseline* dilakukan sebelum hewan coba diligasi dengan cara *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL). Kelompok sham mendapat tween 0,5% setelah dilakukan pembedahan tanpa pengikatan saraf *sciatic* (non PSNL), sedangkan kelompok kontrol negatif mendapat tween 0,5% setelah diligasi dengan cara PSNL dan tiga kelompok mendapat minyak jahe merah dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB. Pemberian minyak jahe merah dan tween dilakukan pada hari ke-7 sampai ke-14 setelah induksi neuropati. Pengukuran waktu ketahanan terhadap stimulus panas dilakukan pada hari ke-0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, dan 14. Berdasarkan data aktivitas tersebut dapat diketahui apakah minyak jahe merah dapat memberikan efek anti nyeri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa neuropati terjadi setelah induksi PSNL yang ditandai dengan adanya penurunan waktu ketahanan terhadap stimulus panas ($p < 0,05$) yang berbeda signifikan bila dibandingkan dengan kelompok *sham*. Hasil ini menunjukkan bahwa mencit telah mengalami nyeri neuropati yang ditandai dengan terjadinya hiperalgesia. Pada hari ke-7, mencit diberi emulsi minyak jahe merah dengan tiga dosis yang berbeda untuk tiga kelompok. Analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian minyak jahe merah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dapat meningkatkan waktu ketahanan panas yang signifikan ($p < 0,001$) untuk semua dosis. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak jahe merah, pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB secara peroral mampu meningkatkan waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas dengan induksi PSNL.

PRAKATA

Alhamdulillahirabbilalamin atas segala nikmat iman, Islam, serta kekuatan yang telah diberikan Allah SWT sehingga dengan izin-Nya pula penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Minyak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Pada Mencit Neuropati dengan Metode *Partial Sciatic Nerve Ligation* (PSNL)”. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi
2. Abi Ali Salim Bafared dan Mama Sifa' Abdun Bahanan tercinta yang telah menjadi orangtua terbaik, yang selalu memberikan banyak motivasi dan nasehat, serta doa yang tiada henti di setiap langkah penulis;
3. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Ibu Fransiska Maria C. S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
5. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Penguji yang telah berkenan untuk menguji skripsi ini dan memberikan masukan serta saran untuk perkembangan diri penulis dan skripsi ini;

6. Ibu Fifteen Aprila Farjrin, S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Penelitian yang telah meluangkan kesempatan, waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penelitian ini;
7. Ibu Lina Winarti, S.Farm., M.Sc., Apt., dan Bapak Drs. Wiratmo M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing dalam masalah akademik penulis;
8. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi;
9. Mbak Indri dan Mbak Dini, selaku teknisi laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah bersedia dengan sabar memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian ini;
10. Bapak Mustoffah selaku produsen jahe merah yang telah bersedia membantu dengan setulus hati dan memberikan banyak pembelajaran selama menempuh penelitian ini;
11. Bapak Mistar selaku teknisi laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian yang telah bersedia membantu dengan setulus hati dan memberikan banyak pembelajaran selama menempuh penelitian ini;
12. Saudaraku, Husein, Safirah, dan Azizah terima kasih atas doa dan semangat di masa-masa sulit penyusunan skripsi ini;
13. Keponakan tersayangku, Faizah dan Salman yang selalu membuatku tersenyum saat kalian di dekatku.
14. Rekan kerja dalam penelitian ini, Gati, Nidia, dan Tsabit untuk semangat, kerja keras, dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
15. Rekan kerja sesama laboratorium, Mbak Wilda, Yasmin, Nanda, Winda, Aulia, dan Ade untuk semangat dan kebersamaannya dalam senang maupun susah;
16. Sahabat “Friendship No Drama”, Noona Uswah, Mak Nora, Yasmin, Nanda, dan Novialda untuk semua dukungan, semangat, motivasi,

pertemanan tanpa drama, canda tawa, dan kebersamaan selama empat tahun disaat bahagia ataupun susah.

17. Teman berantem ku, Putri Kartika Ningsih yang terkadang membuat aku marah, terima kasih sudah mau menjadi teman berantemku dimanapun kita bertemu.
18. Keluarga kecilku BEM BRAFO Fakultas Farmasi atas semua pengertian, dukungan, semangat, doa, dan persaudaran yang indah ini;
19. Keluarga besar Petruk Rolas FF UJ atas kekeluargaan, persaudaraan, dan pengalaman yang indah ini;
20. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, dan untuk seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang turut berbahagia atas keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Tentunya sebagai manusia biasa, penyusunan dan penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya baik bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

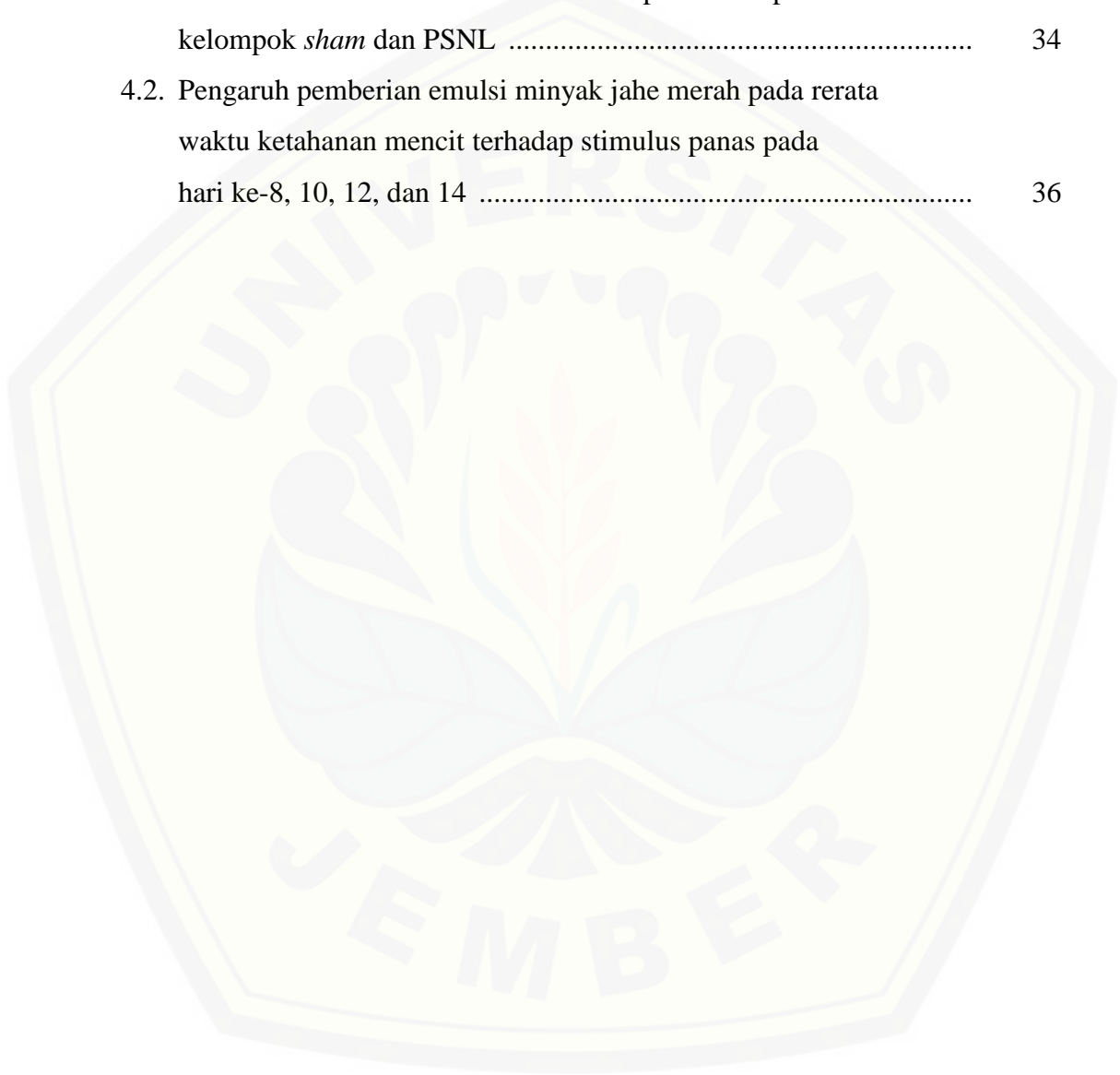
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Nyeri Neuropati	6
2.1.1 Definisi Nyeri	6
2.1.2 Klasifikasi Nyeri	6
2.1.3 Patofisiologi Nyeri Neuropati	10
2.1.4 Manifestasi Klinik Nyeri Neuropati	12
2.2 Model Nyeri Neuropati	13
2.3 Metode Pengujian Efek Analgesik	15
2.4 Terapi Nyeri Neuropati	17
2.4.1 Terapi Farmakologi	17

2.4.2 Terapi Non Farmakologi	19
2.4.3 Terapi Alternatif	20
2.5 Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum)	21
2.5.1 Klasifikasi Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum)	21
2.5.2 Deskripsi Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum)	22
2.5.3 Kandungan Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum)	22
2.6 Minyak Jahe Merah	23
2.6.1 Destilasi	23
2.6.2 Kandungan Minyak Jahe Merah	24
2.6.3 Efek Jahe Merah	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Rancangan Penelitian	26
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.4 Jumlah Sampel	27
3.5 Alat, Bahan, dan Hewan Uji yang Digunakan	28
3.5.1 Alat Penelitian	28
3.5.2 Bahan Penelitian	28
3.5.3 Hewan Uji	29
3.6 Variabel	29
3.6.1 Variabel Bebas	29
3.6.2 Variabel Tergantung	29
3.6.3 Variabel Terkendali	29
3.7 Definisi Operasional	29
3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data	30
3.8.1 Pembuatan Emulsi Minyak Jahe Merah	30
3.8.2 Pengujian Aktivitas Minyak Jahe Merah pada Mencit Neuropati dengan Metode PSNL	30

3.8.3 Pengamatan Respon Terhadap Nyeri	31
3.9 Analisis Data	31
3.10 Skema Penelitian	32
3.10.1 Pembuatan Emulsi Minyak Jahe Merah	32
3.10.2 Pengujian Aktivitas	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1. Hasil	34
4.1.1 Pengaruh Induksi PSNL pada Model Neuropati	34
4.1.2 Pengaruh Pemberian Emulsi Minyak Jahe Merah pada Mencit Neuropati	36
4.2. Pembahasan	38
BAB 5. PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1. Rerata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas kelompok <i>sham</i> dan PSNL	34
4.2. Pengaruh pemberian emulsi minyak jahe merah pada rerata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-8, 10, 12, dan 14	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Klasifikasi dan mekanisme nyeri	9
2.2 Jalur <i>spinal cord reorganization</i>	10
2.3 Jalur sensitisasi sentral	11
2.4 Saraf <i>sciatic</i>	13
2.5 Model-model ligasi	14
2.6 Farmakoterapi nyeri neuropati	20
3.1 Skema rancangan penelitian	26
3.2 Skema pembuatan emulsi minyak jahe merah	32
3.3 Skema pengujian aktivitas minyak jahe merah	33
4.1. Grafik rerata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas kelompok <i>sham</i> dan PSNL pada hari ke-0, 1, 3, 5, dan 7	35
4.2. Grafik pengaruh pemberian emulsi minyak jahe merah pada rerata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-8, 10, 12, dan 14	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Perhitungan Rendemen Minyak Jahe Merah	51
B. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Minyak Jahe Merah	51
C. Hasil perhitungan dosis untuk hewan uji	52
D. Hasil pengamatan waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas	55
E. Hasil rata-rata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-0 sampai hari ke-14, 1, 3, 5, dan 7.....	56
F. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan <i>independent t-test</i>	57
G. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan <i>dependent t-test</i>	57
H. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan <i>Two Way ANOVA</i>	59
I. Dokumentasi	62
J. Hasil Identifikasi Tanaman	64

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut *International Association for the Study of Pain* (IASP), nyeri merupakan suatu pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan serta berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan secara aktual dan potensial atau keadaan yang menggambarkan kerusakan tersebut (Baumann dan Strickland, 2008; O'Neil, 2008). Nyeri diklasifikasikan berdasarkan durasi meliputi nyeri akut dan nyeri kronik. Nyeri akut adalah nyeri dengan durasi sampai 7 hari yang biasanya terjadi secara tiba-tiba (Pletcher *et al.*, 2008). Nyeri kronik adalah sakit yang berkelanjutan atau berulang, nyeri yang dialami dengan durasi lebih lama bahkan bisa berbulan-bulan yaitu sekitar tiga atau enam bulan atau bertahun-tahun, yang merugikan, dan dapat mempengaruhi kesejahteraan individu (NHMRC, 2005; Baumann dan Strickland, 2008; Moore *et al.*, 2010; dan ACPA, 2012).

Nyeri kronik merupakan gejala pada sebagian besar penyakit. Nyeri kronik diestimasikan terjadi pada 2-40% populasi dewasa (Baumann and Strickland, 2008). Di Indonesia sendiri, dilaporkan bahwa 25-50% dari penduduk dengan usia lanjut, diantaranya mengalami nyeri (Kartini, 2007). Salah satu kondisi nyeri kronik adalah nyeri neuropati. Nyeri neuropati disebabkan oleh lesi atau gangguan pada sistem saraf somatosensori baik di perifer ataupun di pusat yang mengubah struktur dan fungsi sehingga rasa sakit terjadi secara spontan (Baron *et al.*, 2010; Costigan *et al.*, 2009). Nyeri kronik dengan karakteristik neuropati merupakan masalah kesehatan utama dan menimpa jutaan orang atau sebanyak 7-8% orang dewasa di populasi umum (Raja dan Wallace, 2015). Prevalensi tertinggi dari nyeri kronik dengan karakteristik neuropati terjadi pada usia menengah (50-64 tahun) (Bouhassira *et al.*, 2008).

Nyeri neuropati yang diakibatkan oleh kerusakan sistem saraf perifer dapat disebabkan karena beberapa penyakit seperti diabetes, *Acquired*

Immunodeficiency Syndrome (AIDS) polineuropati, neuralgia post herpes, atau *radiculopati lumbar*. Nyeri neuropati juga dapat terjadi akibat adanya cedera saraf tulang belakang, multipel sklerosis, keadaan trauma mekanik, penyakit metabolik, infeksi, bahan kimia yang neurotoksik, invasi tumor, paparan toksin, virus, kekurangan nutrisi, iskemia, dan stroke (Pasero, 2004; Woolf, 2004; Costigan *et al.*, 2009).

Dalam pengujian *in vivo*, model nyeri neuropati yang biasa digunakan adalah melukai sebagian serabut saraf perifer yang dilakukan dengan cara ligasi. Terdapat lima macam model yang dapat digunakan yaitu *Chronic Constriction Injury* (CCI), *Partial Sciatic Nerve ligation* (PSNL), *Sciatic Nerve Transection*, *Spared Nerve Injury* (SNI), dan *Spinal Nerve Ligation* (SNL) (Klusakova dan Dubovy, 2009; Jaggi *et al.*, 2011). PSNL dipilih oleh peneliti sebagai model ligasi karena memberikan respon alodinia lebih tinggi dibanding CCI (Bridges, *et al.*, 2001). Model SNL tidak dipilih oleh peneliti karena pada model ini saraf yang diligasi adalah saraf spinal yang berada dekat dengan tulang belakang sehingga akan susah untuk dilakukan serta saraf spinal lebih kecil dibanding saraf *sciatic*. Model SNI tidak dipilih karena menggunakan tiga cabang dari saraf *sciatic* dan salah satu cabang tidak diligasi. Model SNT tidak dipilih oleh peneliti karena pada model ini memiliki kerugian yaitu ketidakmungkinan dilakukannya evaluasi hiperalgesia pada *deafferented limb*. Model SNI dan SNT juga jarang digunakan sebagai model nyeri neuropati (Klusakova dan Dubovy, 2009; Jaggi *et al.*, 2011).

Pilihan pertama terapi farmakologis untuk nyeri neuropati adalah antidepresan atau *tricyclic antidepressants* (TCA), *selective serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors* (SSNRIs), *calcium channel alpha-2-delta ligands*, dan lidokain topikal (Dworkin *et al.*, 2010). Obat-obatan pada terapi farmakologi memiliki banyak efek samping untuk penggunaan jangka panjang (Amin dan Hosseinzadeh, 2012) sehingga penemuan obat-obat baru dari herbal perlu dilakukan sebagai alternatif karena obat-obat herbal cenderung tidak memberikan efek samping yang terlalu besar sehingga tidak berpengaruh negatif pada tubuh, serta obat-obat herbal murah dan mudah didapat (Mardiana, 2012). Menurut Quintans *et al.* (2013), banyak produk-produk alam yang dievaluasi

untuk model nyeri neuropati diantaranya adalah *myricitrin* (flavonoid) pada genus *Eugenia* dan *euphol* (triterpen) dari tanaman *Euphorbia tirucalli*. Sejauh ini, masih belum ada penelitian yang mendukung jahe dapat digunakan untuk pengobatan nyeri neuropati, namun beberapa penelitian menyatakan bahwa minyak jahe dapat digunakan untuk pengobatan nyeri pada dosis 200 dan 500 mg/kg yang diduga karena kandungan monoterpen dan sesquiterpenya (Vendruscolo *et al.*, 2006).

Rimpang jahe segar mengandung 9% lipid atau glikolipid, 5-8% oleoresin (Chrubasik *et al.*, 2005), resin, protein, pati, dan elemen mineral (Vasala *et al.*, 2012). Jahe mengandung minyak jahe sebanyak 3%, dimana 20-25% dari minyak jahe merupakan oleoresin (Chrubasik *et al.*, 2005). Minyak jahe terdiri dari minyak menguap (*volatile oil*) dan minyak tidak menguap (*non volatile oil*). Minyak menguap merupakan minyak atsiri dan minyak tidak menguap adalah oleoresin (Herlina *et al.*, 2002).

Berdasarkan aroma, warna, bentuk, dan besarnya rimpang dikenal ada tiga jenis jahe, yaitu jahe gajah (*Zingiber officinale* Roscoe), jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Pemakaian ketiga jenis jahe memiliki perbedaan yang disebabkan kandungan kimia dari setiap jenis jahe yang berbeda. Jahe merah mempunyai banyak keunggulan dibandingkan dengan jenis lainnya terutama jika ditinjau dari segi kandungan senyawa kimia dalam rimpangnya (Herlina *et al.*, 2002).

Minyak jahe diproduksi melalui destilasi uap dari jahe kering yang masih segar (Vasala *et al.*, 2012). Menurut Kamaliroosta *et al.* (2013), minyak jahe disusun dari monoterpen hidrokarbon, sesquiterpen hidrokarbon, dan monoterpen teroksigenasi. Sama halnya dengan jahe merah, komponen kimia dari minyak jahe pada rhizomanya terdiri dari monoterpen, sesquiterpen, monosesquiterpen oksigenasi, dan beberapa komponen miscellaneous (Sukari *et al.*, 2008). Menurut penelitian Hernani dan Hayani (2001), jahe merah mempunyai kandungan minyak atsiri lebih banyak dibanding jahe gajah dan jahe emprit yaitu 3,9% sedangkan minyak atsiri yang terkandung pada jahe gajah adalah 2,5% dan 3,5% untuk jahe emprit.

Menurut Geiger (2005), minyak jahe diperkirakan bersifat sebagai analgesik dan juga ansiolitik. Jia *et al.* (2011) menyatakan bahwa minyak jahe (0,25–1,0 g/kg) menghasilkan efek analgesik yang signifikan terhadap rangsangan kimia dan termal pada mencit yang diinduksi nyeri nosiseptik. Minyak jahe juga memperlihatkan aktivitas anti inflamasi, anti nosiseptif dan imunomodulator (Zhou *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2011). Felipe *et al.* (2008) membuktikan bahwa minyak jahe dapat mempengaruhi memori dan tingkah laku hewan coba dan hal ini dihubungkan dengan sistem kolinergik.

Pemilihan minyak jahe merah bukan ekstrak jahe merah pada penelitian ini dikarenakan penelitian mengenai efek ekstrak jahe merah pada mencit neuropati sudah pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini difokuskan pada aktivitas minyak jahe merah dalam mengatasi nyeri neuropati. Penelitian ini dilakukan pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang dibuat kondisi nyeri neuropati dengan model ligasi. Untuk mengetahui respon terhadap nyeri dilakukan pengukuran waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan *hot plate*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan antara lain :

1. Apakah pemberian minyak jahe merah dapat mempengaruhi waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL?
2. Bagaimanakah perbedaan dosis minyak jahe merah dalam mempengaruhi waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan adanya pengaruh pemberian minyak jahe merah pada waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL.
2. Menentukan pengaruh perbedaan dosis minyak jahe merah dalam mempengaruhi waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi dan bukti ilmiah mengenai efek antinyeri dari minyak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap mencit jantan galur balb-C ditinjau dari waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas.
2. Memberikan landasan penelitian lebih lanjut untuk pengobatan nyeri neuropati.
3. Memberikan kontribusi dalam bidang kefarmasian melalui penelitian pengobatan baru dengan jahe merah yang efektif dengan efek samping yang lebih rendah.
4. Memberikan pengetahuan terhadap masyarakat tentang pemanfaatan jahe merah.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyeri Neuropati

2.1.1 Definisi Nyeri

Nyeri merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang timbul bila terjadi kerusakan jaringan yang akan menyebabkan individu bereaksi untuk menghilangkan rasa nyeri (Guyton dan Hall, 2011). Menurut *International Association for the Study of Pain* (IASP), nyeri merupakan suatu pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan serta berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan secara aktual dan potensial atau keadaan yang menggambarkan kerusakan tersebut (Baumann dan Strickland, 2008; O'Neil, 2008).

2.1.2 Klasifikasi Nyeri

Berdasarkan durasinya, nyeri dibedakan menjadi dua macam yaitu :

a. Nyeri akut

Nyeri akut adalah nyeri yang baru mulai dengan durasi yang terbatas. Nyeri ini biasanya memiliki hubungan yang biasa diidentifikasi untuk luka atau gangguan (NHMRC, 2005). Nyeri akut adalah nyeri dengan durasi sampai 7 hari yang biasanya terjadi secara tiba-tiba. Gejala-gejalanya dapat berlangsung selama berjam-jam, sehari-hari, sampai satu minggu dan biasanya dihubungkan dengan luka jaringan, inflamasi, suatu prosedur yang berhubungan dengan pembedahan, proses kelahiran bayi, atau suatu gangguan penyakit yang singkat, dan bisa juga diikuti dengan kecemasan atau tekanan emosional (Pletcher *et al.*, 2008).

b. Nyeri kronik

Nyeri kronik adalah sakit yang berkelanjutan atau berulang, nyeri yang dialami dengan durasi lebih lama bahkan bisa berbulan-bulan yaitu sekitar tiga atau enam bulan atau bertahun-tahun, yang merugikan, dan dapat mempengaruhi kesejahteraan individu (NHMRC, 2005; Baumann dan Strickland, 2008; Moore *et*

al., 2010; dan ACPA, 2012). Nyeri ini bisa memburuk jika ada faktor lingkungan dan psikologis yang mempengaruhi. Contoh nyeri kronik antara lain nyeri rematik, nyeri tulang belakang, nyeri neuropati, neuralgia post herpes, multipel sklerosis, dan lain-lain (Baumann dan Strickland, 2008).

Berdasarkan mekanisme atau penyebab terjadinya, nyeri dapat dikategorikan menjadi nyeri yang bersifat nosiseptif, inflamasi, nyeri neuropati, dan nyeri fungsional (Woolf, 2004). Klasifikasi dan mekanisme nyeri-nyeri tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.1.

a. Nyeri nosiseptif

Nyeri nosiseptif adalah nyeri yang disebabkan oleh stimulasi langsung pada reseptor nyeri (nosiseptor), baik secara mekanik, kimia, atau panas (Ikawati, 2011). Nyeri nosiseptif disebabkan oleh adanya kerusakan pada jaringan normal dan merupakan peringatan awal adanya stimulus yang membahayakan. Nyeri nosiseptif meliputi nyeri somatik dan nyeri viseral. Nyeri somatik disebabkan adanya aktivasi nosiseptor pada jaringan di permukaan dan dalam tubuh (jaringan *musculoskeletal*). Nyeri somatik pada jaringan permukaan biasanya bersifat tajam, disertai sensasi terbakar ataupun tertusuk sedangkan pada jaringan *musculoskeletal* bersifat tumpul, menyakitkan dan terlokalisir (Baumann dan Strickland, 2008). Nyeri viseral adalah nyeri yang disebabkan oleh stimulasi pada sistem saraf otonom, dan biasanya terjadi pada rongga dalam tubuh (viseral) seperti pada jantung, paru-paru, atau saluran cerna (Ikawati, 2011). Nyeri viseral disebabkan oleh aktivasi nosiseptor oleh adanya infiltrasi, kompresi, ekstensi atau peregangan dari dada, abdomen atau viseral pelvis. Nyeri viseral bersifat tidak terlokalisir dan seringkali dirasakan seperti tekanan yang kuat dan dalam. Contoh nyeri viseral adalah nyeri pada kanker dan fraktur tulang (Baumann dan Strickland, 2008).

b. Nyeri inflamasi

Nyeri inflamasi merupakan pergeseran yang dilakukan oleh tubuh dari pencegahan kerusakan jaringan menuju kondisi penyembuhan. Hal ini biasanya terjadi pada keadaan pembedahan, luka, dan trauma. Sebagai hasil dari mekanisme inflamasi adalah penurunan ambang nyeri dan bagian tubuh yang

rusak menjadi lebih sensitif terhadap luka. Akibatnya tubuh menjadi lebih sedikit bergerak sehingga mempercepat proses penyembuhan. Nyeri inflamasi juga terkait peningkatan eksitabilitas dan respon serabut saraf di sistem saraf pusat yang disebut dengan sensitisasi sentral (Baumann dan Strickland, 2008).

c. Nyeri neuropati

Nyeri neuropati disebabkan oleh lesi atau gangguan pada sistem saraf somatosensori baik di perifer ataupun di pusat yang mengubah struktur dan fungsi sehingga rasa sakit terjadi secara spontan (Baron *et al.*, 2010; Costigan *et al.*, 2009). Nyeri neuropati mungkin dapat merupakan hasil dari lesi sistem saraf perifer yang disebabkan oleh trauma mekanik, penyakit metabolik, bahan kimia yang neurotoksik, infeksi, atau invasi tumor, seperti pada pasien dengan diabetes, AIDS polineuropati, neuralgia post herpes, atau *radiculopati lumbar*, atau pada sistem saraf pusat seperti pada pasien dengan cedera saraf tulang belakang, multipel sklerosis, atau stroke (Woolf, 2004; Costigan *et al.*, 2009). Ada banyak penyebab cedera saraf meliputi paparan toksin, infeksi, virus, penyakit metabolik, kekurangan nutrisi, iskemia, trauma (pembedahan dan non pembedahan), dan stroke (Pasero, 2004).

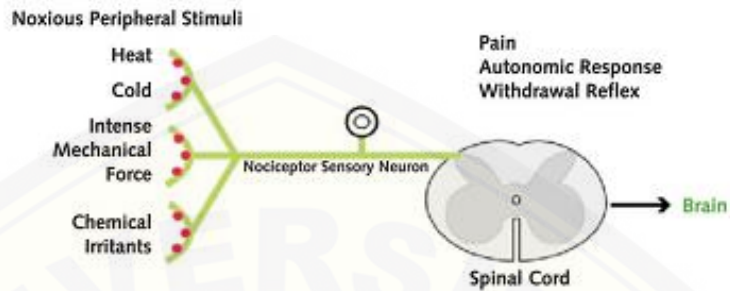
d. Nyeri fungsional

Nyeri fungsional terjadi akibat abnormalitas respon atau fungsi dari sistem saraf pusat namun tidak terdapat kerusakan pada sistem saraf perifer serta tidak ada identifikasi rangsangan berbahaya maupun inflamasi yang terdeteksi. Misalnya terjadi pada fibromialgia dan *irritable bowel syndrome* (Woolf, 2004; Costigan *et al.*, 2009).

Selain klasifikasi yang disebutkan di atas, nyeri secara luas dapat dibagi menjadi nyeri adaptif dan maladaptif. Nyeri adaptif terkait ketahanan, perlindungan, dan proses penyembuhan ketika terjadi perlukaan sedangkan nyeri maladaptif merupakan ekspresi patologis dari sistem saraf sehingga disebut sebagai penyakit. Nyeri maladaptif meliputi nyeri yang merespon kerusakan sistem saraf (nyeri neuropati) atau nyeri hasil proses dan fungsi abnormal dari sistem saraf (nyeri fungsional). Pada kondisi ini, nyeri bahkan dapat ditimbulkan oleh rangsangan yang pada orang normal tidak berbahaya (alodinia) serta dapat

menimbulkan suatu respon nyeri yang berlebihan (hiperalgesia) ketika menerima rangsangan berbahaya (Woolf, 2004).

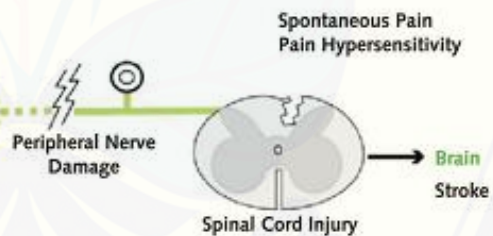
A. Nociceptive Pain



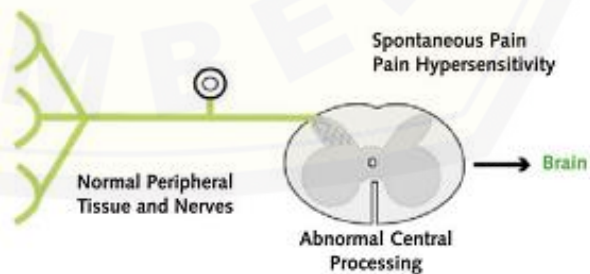
B. Inflammatory Pain



C. Neuropathic Pain



D. Functional Pain



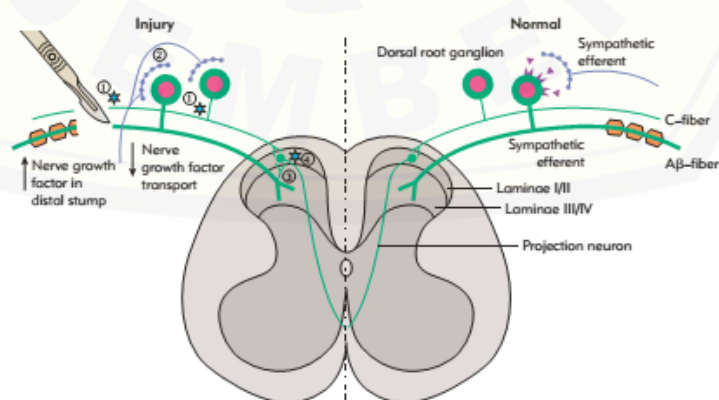
Gambar 2.1. Klasifikasi dan mekanisme nyeri (Sumber: Woolf, 2004)

2.1.3 Patofisiologi Nyeri Neuropati

Pengantaran nyeri neuropati dapat melalui dua mekanisme, yaitu mekanisme perifer dan mekanisme sentral. Pengantaran melalui mekanisme perifer terjadi saat nyeri neuropati timbul akibat adanya penyakit seperti diabetes neuropati dan neuralgia post herpes sedangkan pengantaran nyeri melalui mekanisme sentral terjadi saat nyeri neuropati yang dikarenakan terjadinya cedera saraf. Mekanisme sentral memiliki beberapa jalur, yaitu *spinal cord reorganization*, sensitisasi sentral, perubahan pada jalur penghambatan atau disinhibisi sentral, dan *cortical reorganization* (Bridges *et al.*, 2001).

a. *Spinal cord reorganization*

Saraf aferen primer berakhir di lamina yang berbeda-beda. Pada kondisi normal, saraf nosiseptif yang berdiameter kecil dan bermielin atau serat A δ dan serat C yang tidak bermielin berakhir pada lamina atas (I dan II) dari dorsal horn, sedangkan saraf dengan diameter besar dan bermielin atau serat A β berakhir pada lamina III dan IV. Normalnya, serat C bertanggung jawab untuk sinyal nosiseptif, sedangkan serat A β bertanggung jawab untuk rangsangan tidak berbahaya dengan ambang batas rendah seperti sentuhan. Setelah cedera pada saraf *sciatic*, ujung terminal saraf aferen primer (A β) tumbuh ke dalam lamina II dan kontak dengan saraf orde kedua dari sinap, akan menyebabkan rangsangan tidak berbahaya dengan ambang batas rendah dapat diinterpretasikan sebagai rangsangan nyeri (lihat Gambar 2.2) (Bridges *et al.*, 2001).

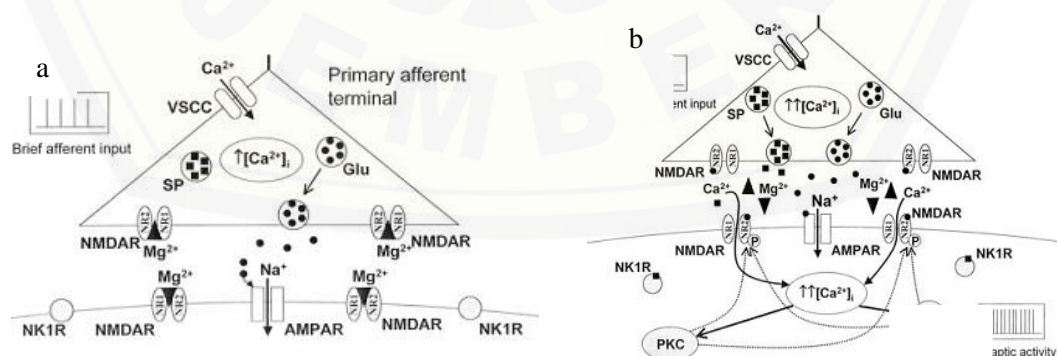


Gambar 2.2 Jalur *spinal cord reorganization* (Sumber: Hudspith *et al.*, 2003)

b. Sensitisasi sentral

Asam amino glutamat merupakan neurotransmiter eksitasi utama yang dilepaskan pada terminal saraf aferen primer di sentral setelah adanya rangsangan berbahaya. Neurotransmiter glutamat di presinap dapat berikatan dengan reseptor AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoazolepropionat), reseptor kainat, dan reseptor NMDA (*N*-metil-D-aspartat) yang ada di postsinap. Dalam kondisi fisiologis normal, kanal ion reseptor NMDA diblok oleh ion Mg^{2+} . Blokade Mg^{2+} ini dapat lepas setelah terjadinya depolarisasi membran secara terus menerus (Gambar 2.3a). Hal ini menyebabkan pemindahan ion Mg^{2+} dari kanal ion sehingga reseptor NMDA akan teraktifkan. Ikatan glutamat dengan reseptor NMDA akan membuka kanal ion yang bersifat spesifik terhadap mineral sehingga akan terjadi efluks Mg^{2+} dan influks Ca^{2+} (D'Mello dan Dickenson, 2008).

Masuknya ion kalsium dalam sel akan mengaktifkan berbagai jalur intraseluler (Gambar 2.3b) termasuk neuronal NOS (*nitric oxide synthase*), CaMKI/II (*calcium/calmodulin-dependent protein kinase I/II*), dan ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) (D'Mello & Dickenson, 2008), selain itu peningkatan Ca^{2+} ini juga dapat mengaktifkan protein kinase C (PKC) yang menghasilkan fosforilasi reseptor NMDA. Hal ini menyebabkan potensi blokade Mg^{2+} akan menurun dan kanal akan terbuka lebih lama (Bridges *et al.*, 2001; Petrenko *et al.*, 2003). Jalur ini akan memberikan gejala berupa hiperalgesia dan alodinia pada pasien (D'Mello dan Dickenson, 2008).



a. Transmisi normal sinaptik; b. aktivasi jalur intraseluler

Gambar 2.3 Jalur sensitisasi sentral (Sumber: Petrenko *et al.*, 2003)

c. Disinhibisi sentral

Asam γ -aminobutirat (GABA) merupakan sistem penghambat neurotransmitter utama di SSP. Pada keadaan rusaknya saraf perifer juga dapat berakibat pada hilangnya sistem inhibisi (disinhibisi) pada *spinal cord*. Hal ini terjadi karena kematian spesifik pada interneuron GABAergik yang diduga disebabkan oleh aktivasi serabut aferen A δ (Woolf dan Salter, 2000)

d. *Cortical reorganization*

Pada jalur ini, cedera saraf mengakibatkan hilangnya efek opioid di perifer, hilangnya reseptor opioid di spinal, dan peningkatan aktivitas fisiologis dari sistem antagonis opioid (Bridges *et al.*, 2001)

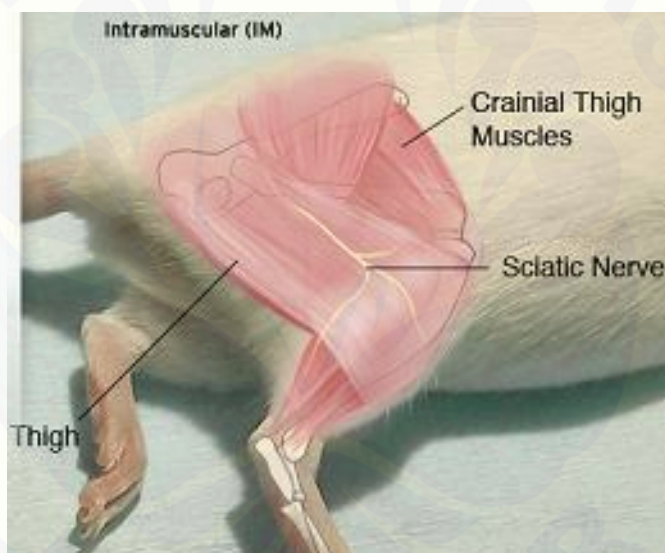
2.1.4 Manifestasi Klinik Nyeri Neuropati

Kerusakan jaringan yang mengaktifkan nosiseptor apabila terjadi dalam jangka waktu yang cukup lama dengan intensitas tinggi maka dapat berakibat terbentuknya suatu keadaan menurunnya ambang batas terhadap stimulasi nyeri. Keadaan ini dikenal dengan nama hiperalgesia. Pada daerah di sekitar luka juga dapat diamati terjadinya peningkatan respon terhadap stimulus yang berbahaya. Hiperalgesia primer merupakan respon pada tempat perlukaan, dan hiperalgesia sekunder diartikan sebagai respon yang terjadi pada kulit di sekitarnya. Perubahan neuronal yang mengakibatkan hiperalgesia dapat juga terjadi di sistem saraf pusat (SSP) (Brenner, 2002).

Dalam perkembangannya, penurunan ambang batas terhadap stimulus berbahaya pada keadaan rusaknya jaringan (hiperalgesia) menyebabkan timbul suatu keadaan *post injury* dimana stimulus yang tidak berbahaya dapat menimbulkan sensasi nyeri. Fenomena ini dikenal dengan istilah alodinia. Sebagai contoh, sentuhan sangat lembut pada daerah yang sakit seperti pada neuralgia post herpes menyebabkan sensasi nyeri yang hebat. Seperti halnya hiperalgesia, alodinia juga disebabkan oleh perubahan plastisitas pada serabut sensoris primer dan neuron pada saraf sumsum tulang belakang (Brenner, 2002).

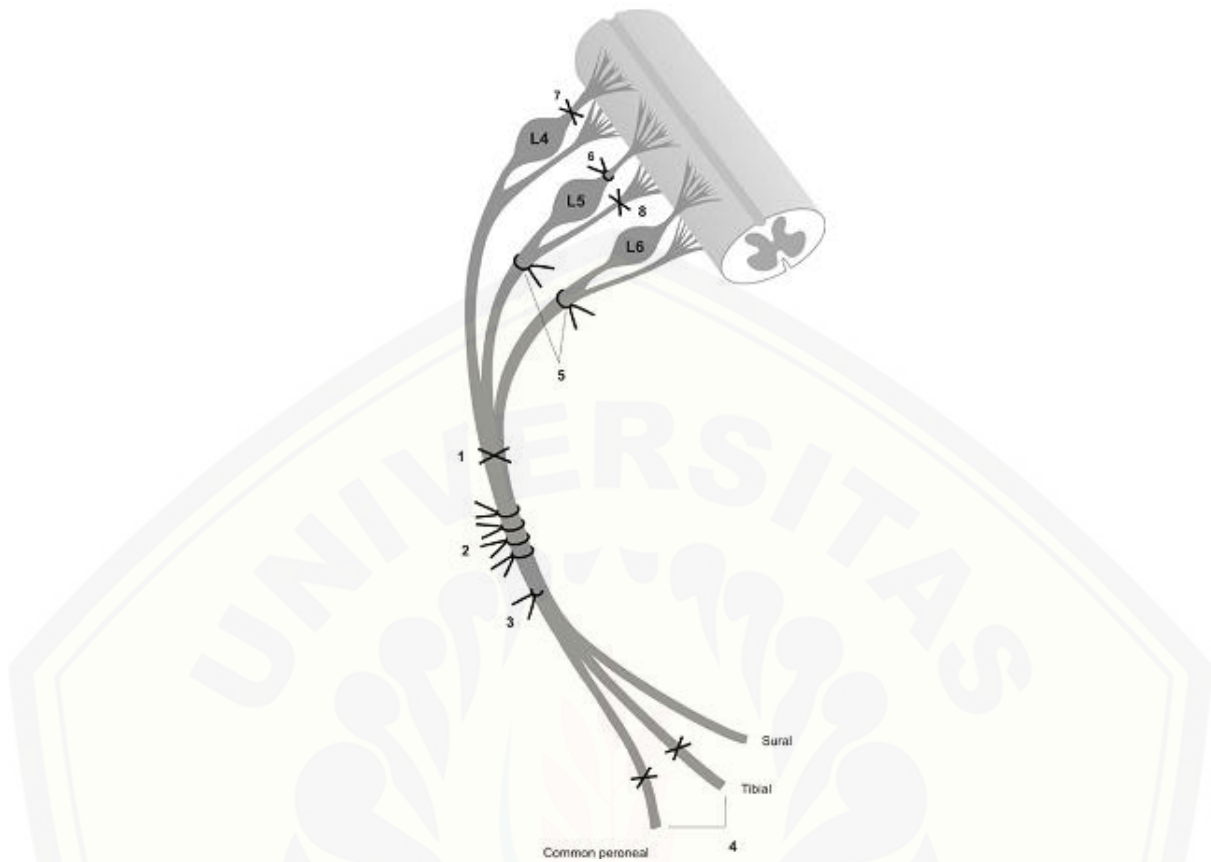
2.2 Model Nyeri Neuropati

Model nyeri neuropati yang biasa digunakan adalah *partial injury* serabut saraf perifer yang dilakukan dengan cara ligasi. Saraf perifer yang biasa diligasi adalah saraf spinal atau saraf *sciatic*. Saraf spinal adalah salah satu saraf yang berhubungan dengan jaringan saraf tulang belakang. Saraf spinal muncul di empat pleksus saraf. Dua ditemukan pada daerah serviks, satu pada daerah lumbar, dan satu pada daerah *sacral*. *Sacral plexus* berasal dari bawah saraf lumbar L4 dan L5 dan saraf *sacral* S1 ke S4. Saraf sistemik yang paling bermakna dari pleksus ini adalah saraf *sciatic*, yang merupakan kombinasi dari saraf tibialis dan fibula. Saraf *sciatic* meluas di sendi pinggul dan daerah gluteal ke bagian atas kaki posterior (College, 2013). Letak saraf *sciatic* dari mencit dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Saraf *sciatic* (Sumber: Biomethodology for Laboratory Mice, 2016)

Terdapat lima macam model yang sering digunakan yaitu CCI (*Chronic Constriction Injury*), PSNL (*Partial Sciatic Nerve ligation*), SNT (*Sciatic Nerve Transection*), dan SNI (*Spared Nerve Injury*) (Klusakova dan Dubovy, 2009; Jaggi *et al.*, 2011). Model-model ini dapat dilihat pada Gambar 2.5.



1. *Sciatic nerve transection*. 2. *Chronic constriction injury*. 3. *Partial sciatic nerve ligation*. 4. *Spared nerve injury model*. 5. *Segmental L5/L6 spinal nerve ligation*. 6. *Dorsal root constriction*. 7. *Dorsal rhizotomy*. 8. *Ventral rhizotomy*.

Gambar 2.5 Model-model ligasi (Sumber: Klusakova *et al.*, 2008).

Model SNT menunjukkan gejala klinik dari *phantom limb*, kondisi yang muncul pada manusia setelah amputasi atau cedera tulang belakang. SNT dilakukan pada bagian tengah paha. Model CCI merangsang gejala dari kompresi saraf kronik. Pada model CCI, empat pengikat dari benang *chromic gut* (4-0) diikatkan secara longgar pada saraf *sciatic* di bagian tengah paha. Model PSNL merangsang terjadinya memar saraf. Model PSNL dilakukan di bagian tengah paha pada saraf dorsal menggunakan jarum melengkung dan *silk suture* (8-0), dengan tujuan mengambil saraf disekitar sepertiga sampai setengah dari diameter saraf. Model SNI merupakan model sederhana dari denervasi *limb* parsial yang mengakibatkan variabilitas minimal di tingkat kerusakan saraf. Model SNL

berbeda dengan model-model sebelumnya, dimana lesi pada saraf perifer dilakukan pada *hind* limb, lesi dari model SNL dilakukan pada saraf yang dekat dengan tulang belakang (Klusakova dan Dubovy, 2009; Jaggi *et al.*, 2011).

2.3 Metode Pengujian Efek Analgesik

Terdapat banyak metode pengujian efek analgesik yang digunakan untuk menguji efek suatu obat yang diberikan pada hewan coba namun masih belum ditemukan metode tunggal yang dapat menggambarkan hubungan paralel secara lengkap dan jelas antara hasil eksperimental laboratorium dengan kondisi pada manusia. Dalam kaitannya dengan nyeri, hal ini disebabkan karena nyeri secara klinik merupakan kondisi patologi yang berbeda dengan keadaan nyeri pada eksperimental, selain itu nyeri juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sehingga bersifat tidak konstan (Turner, 1965).

Metode pengujian efek analgesik dapat dilakukan dengan tes nosiseptif. Tes nosiseptif menggunakan stimulus listrik, panas, mekanik dan kimia. Beberapa dari tes ini bergantung pada waktu laten untuk menghindari dari stimulus, biasanya berupa refleks penarikan kaki atau ekor (Barrot, 2012).

a. Metode stimulus listrik

Stimulus listrik merupakan rangsangan alami dan non spesifik. Cara mudah untuk menilai ambang listrik adalah dengan memberikan guncangan pada interval waktu tertentu, dengan kenaikan intensitas yang tetap (misalnya 0.05 mA) sampai respon perilaku dapat diamati. Respon perilaku ini meliputi munculnya hentakan, vokalisasi, ataupun respon melarikan diri, baik melompat maupun berlari. Perilaku yang muncul tergantung dari spesies dan cara vokalisasi terdeteksi, baik dari detektor ultrasonografi maupun hanya dengan menilai vokalisasi yang terdengar. Vokalisasi yang terdengar dengan peningkatan guncangan, urutan perilakunya adalah hentakan, vokalisasi, melompat dan sering menghentakkan kaki, dan berlari atau melompat (Barrot, 2012).

b. Metode stimulus panas

Metode stimulus panas dapat dilakukan secara eksperimental pada mencit maupun tikus. Ada dua metode yang dapat dilakukan pada stimulus panas

yaitu metode *tail flick* dan metode *hot plate*. Metode *tail flick* adalah salah satu uji nosiseptif yang paling tua. Parameter yang diukur adalah waktu laten untuk reflek *tail flick*. Stimulus ini dapat dilakukan dengan memasukkan ujung ekor ke dalam bak yang suhunya terkontrol atau dengan mengekspos ekor dengan sinar inframerah yang panasnya terkontrol (Barrot, 2012). Uji waktu laten pada metode *tail flick* dilakukan dengan cara meletakkan tikus ke dalam kandang selama 5 menit sebelum penentuan waktu laten *tail flick*. Waktu laten maksimum *tail flick* yang diijinkan untuk mengurangi kerusakan jaringan pada ekor tikus adalah 9 detik (Samantha *et al.*, 1998).

Metode selanjutnya adalah metod *hot plate*. Mencit diberi paparan panas (*cut of time*) selama 30 detik. Setelah mencapai 30 detik, stimulasi harus dihentikan agar tidak terjadi kerusakan jaringan yang lebih parah. Pada suhu di bawah 50°C reaksi mencit tidak beraturan. Reaksi tersebut mulai muncul pada detik ke-20 atau lebih. Pada suhu 55°C dan 60°C semua mencit bereaksi masing-masing pada detik ke-20 dan 30. Respon yang muncul pada mencit berupa menjilat kaki (*licking*), menghentakkan kaki (*tapping*), melompat (*jumping*), berdiri dengan dua kaki/refleks memanjat dinding silinder *hot plate* sebanyak tiga kali (*rearing*), berputar tanpa kendali (*flattering*), dan mengibaskan tangan sebanyak tiga kali (*frizzing*) (Turner, 1965).

c. Metode stimulus mekanik

Metode ini dapat dilakukan dengan uji von Frey dan uji lain. Uji von Frey dapat dilakukan untuk mencit dan tikus. Uji ini untuk menilai alodinia. Filamen digunakan secara lokal sampai terikat pada bagian plantar. Uji lainnya adalah uji Randall–Selitto, dimana uji ini untuk mengukur alodinia atau hiperalgesia dan aktivias analgesik pada tikus (Barrot, 2012).

d. Metode stimulus kimia

Metode ini dilakukan dengan cara mengiritasi tikus dengan bahan kimia. Uji yang sering digunakan adalah uji formalin. Formalin ini dapat diinjek secara intradermal pada permukaan dorsal atau plantar dari kaki depan atau kaki belakang. Hasil uji ini dapat berupa menarik kaki, menjilat kaki, menggigit kaki, atau menggoyangkan kaki (Barrot, 2012).

2.4 Terapi Nyeri Neuropati

Seperti kondisi nyeri kronik lainnya, terapi nyeri neuropati berpusat pada terapi farmakologi dan terapi kombinasi dengan terapi non farmakologi seperti terapi fisik, kebiasaan hidup, dan aktivitas (Wong *et al.*, 2014). Rangkuman terapi ini dapat dilihat pada Gambar 2.6.

2.4.1 Terapi farmakologi

1. *First line therapy*

a. Antidepresan atau *tricyclic antidepressants* (TCA)

Banyak penelitian dari *randomized control trials* (RCTs) menemukan bahwa TCA efektif untuk beberapa tipe nyeri neuropati (Dworkin *et al.*, 2010), terutama pada neuropati karena diabetes (*diabetic peripheral neuropathy* atau DPN) dan neuralgia post herpes (*post herpetic neuralgia* atau PHN) (Wong *et al.*, 2014). Efek samping yang paling umum terjadi adalah antikolinergik (seperti mulut kering, konstipasi, penglihatan kabur, hipotensi ortostatik, dan retensi urin) (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014). Salah satu contoh TCA adalah amitriptilin dengan dosis rata-rata 75 mg/hari, tetapi dosis efektif tiap pasien berbeda yaitu sekitar 25-150 mg (Wong *et al.*, 2014).

b. *Selective serotonin–norepinephrine reuptake inhibitors* (SSNRIs)

Agen SSNRIs, duloxetine dan venlafaxine, telah terdokumentasi memiliki efektivitas pada nyeri polineuropati (Wong *et al.*, 2014). Duloxetine telah terbukti secara konsisten efektif pada nyeri neuropati perifer akibat diabetes. Efek samping yang sering dikaitkan dengan duloxetine adalah mual, mulut kering, dan konstipasi (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014).

c. *Calcium channel alpha-2-delta ligands* (Gabapentin and Pregabalin)

Efektivitas gabapentin dan pregabalin telah terbukti pada DPN dan PHN. Efek samping yang umum terjadi meliputi pusing dan sedasi, kantuk, dan edema perifer (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014). Kedua obat juga membutuhkan pengurangan dan penyesuaian dosis pada pasien dengan gangguan ginjal (Dworkin *et al.*, 2010).

d. Lidokain Topikal

Lidokain topikal sangat cocok untuk nyeri neuropati lokal, dan tidak memberikan manfaat pada pasien dengan nyeri neuropati sentral (Dworkin *et al.*, 2010). Efektivitasnya sudah teruji terutama pada PHN (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014) dan alodinia dengan tipe nyeri neuropati perifer (Dworkin *et al.*, 2010). Gel lidokain (5%) juga menunjukkan efektivitas pada pasien dengan PHN dan alodinia (Dworkin *et al.*, 2010).

2. *Second line therapy*

a. Tramadol

Tramadol, yang menunjukkan efektivitasnya pada beberapa kondisi nyeri neuropati (Dworkin *et al.*, 2010) secara dominan pada DPN (Wong *et al.*, 2014), adalah opioid agonis reseptor- μ lemah yang juga menghambat masuknya kembali serotonin dan norepinefrin. Efek samping dari tramadol meliputi pusing, mulut kering, mual, muntah, konstipasi, dan kantuk (Wong *et al.*, 2014). Sindrom serotonin dapat muncul jika tramadol digunakan secara kombinasi dengan pengobatan serotoninergik (terutama SSRIs, tapi juga antidepresan lain) (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014).

b. Opioid

Beberapa RCTs sudah menunjukkan bahwa opioid kuat (oxycodone, methadone, dan morfin) memiliki efektivitas pada DPN dan PHN. Masalah yang muncul dengan penggunaan opioid jangka panjang meliputi perubahan pada sistem imun, hipogonadisme, dan resiko ketergantungan (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014). Berdasarkan alasan di atas, opioid dianggap menjadi pengobatan *second line* untuk nyeri neuropati tanpa kanker pada semua rekomendasi yang telah ada (Wong *et al.*, 2014).

3. *Third line therapy*

Guideline *Neuropathic Pain Special Interest Group* (NeuPSIG) merekomendasikan bahwa pengobatan ini biasanya diberikan untuk pasien yang tidak dapat menolerir atau merespon secara adekuat pada *first* dan *second line therapy*. Pengobatan ini meliputi obat-obatan antidepresan tertentu (seperti bupropion, kitalopram, dan *paroxetine*), obat-obatan antiepilepsi (seperti

karbamazepin, lamotrigin, *oxcarbazepin*, topiramate, dan asam valproat), kapcaisin topikal dengan konsentrasi rendah, dekstrometorfan, memantin, dan meksiletin (Dworkin *et al.*, 2010; Wong *et al.*, 2014).

4. Kombinasi obat

Kombinasi dua obat dari gabapentin dan morfin ditemukan lebih efektif dan aman daripada tunggal. Kombinasi ini menunjukkan bahwa dapat meningkatkan efek analgesik dengan sedikit efek samping (Kes *et al.*, 2009).

2.4.2 Terapi non farmakologi

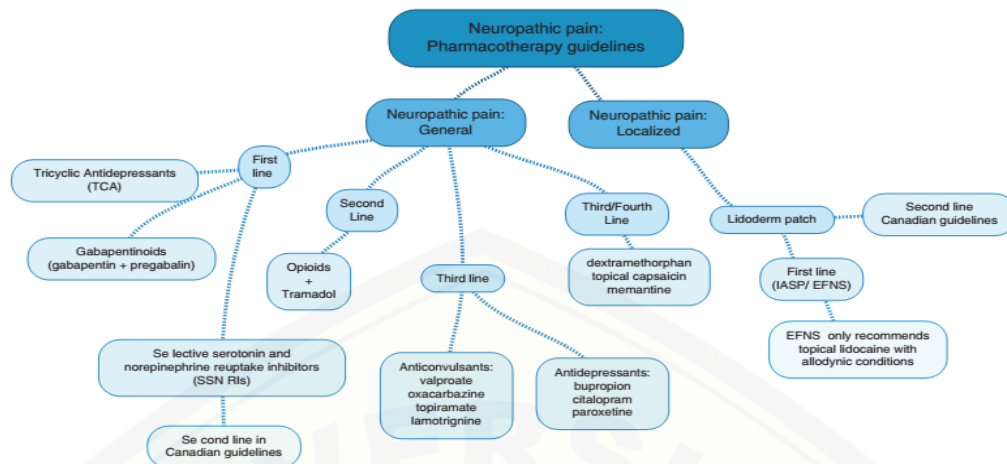
Terapi fisik dan fisiologis adalah cara yang efektif untuk rehabilitasi pasien dengan nyeri kronik. Terapi kognitif sudah menunjukkan dampak positif pada hasil fisiologis jangka pendek dengan cedera saraf tulang belakang (Wong *et al.*, 2014).

1. Non invasif terapi

Salah satu bentuk pengobatan non invasif untuk nyeri yang paling sederhana adalah *Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation* (TENS). Teknik ini merupakan terapi tambahan yang berguna dan nyaris bebas dari efek samping (Chong dan Bajwa, 2003; Kes *et al.*, 2009).

2. Terapi invasif

Terapi invasif ini merupakan terapi pembedahan. Bagaimanapun, pengobatan ini biasanya tidak direkomendasikan karena dapat merusak lebih parah pada sistem saraf, yang justru dapat meningkatkan nyeri neuropati. Disamping itu, tidak ada satupun teknik ini yang sudah ditemukan sukses pada pasien dengan nyeri neuropati (Chong dan Bajwa, 2003; Kes *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Farmakoterapi nyeri neuropati (Sumber: Hurley *et al.*, 2013)

2.4.3 Terapi alternatif

Obat-obatan pada terapi farmakologi memiliki banyak efek samping untuk penggunaan jangka panjang. Untuk alasan tersebut, penemuan obat baru tetap dilakukan. Selama berabad-abad, obat-obatan herbal telah digunakan untuk pengobatan penyakit. Efek menguntungkan dari beberapa tanaman untuk pengobatan berbagai jenis model nyeri neuropatik telah diselidiki (Amin dan Hosseinzadeh, 2012), seperti efek antihiperalgnesia dari ekstrak *Cannabis sativa* pada tikus neuropati (Comelli *et al.*, 2008), efek amelioratif dari *Ocimum sanctum* pada tikus neuropati dengan model SNT (Muthuraman *et al.*, 2008), dan aktivitas penurunan kadar glukosa serum dan peningkatan jumlah insulin serum dari *Nigella sativa* pada tikus diabetes neuropati (Kanter, 2008) sehingga penemuan obat-obat baru dari herbal perlu dilakukan sebagai alternatif karena obat-obat herbal cenderung tidak memberikan efek samping yang terlalu besar sehingga tidak berpengaruh negatif pada tubuh serta obat-obat herbal murah dan mudah didapat (Mardiana, 2012).

Menurut Quintans *et al.* (2013), banyak produk-produk alam yang dievaluasi untuk model nyeri neuropati. Pada penelitian tersebut beberapa model nyeri yang dikaji antara lain CCI, PSNL, dan *streptozotocin* yang menginduksi diabetes. Pada penelitian tersebut, ada beberapa kandungan pada salah satu tanaman yang dikaji pada model PSNL antara lain *myricitrin* (flavonoid) pada genus *Eugenia* yang memiliki efek anti nosiseptik dengan mekanisme molekular

seperti penghambatan dari sinyal protein kinase C (PKC) dan sel NO, transpor K^+ dan Ca^{2+} , serta memiliki aktifitas antioksidan, (-)-linalool/monoterpen yang memiliki efek anti nosiseptik dengan menghambat sitokin-sitokin pro inflamasi dan modulasi reseptor NMDA-glutamatergic, dan *euphol* (triterpen) dari tanaman *Euphorbia tirucalli* dengan efek anti nosiseptik dengan cara menghambat aktivasi dan/atau pelepasan dari berbagai macam mediator inflamasi. Sejauh ini, masih belum ada penelitian yang mendukung jahe dapat digunakan untuk pengobatan nyeri neuropati namun beberapa penelitian menyatakan bahwa minyak jahe dapat digunakan untuk pengobatan nyeri pada dosis 200 dan 500 mg/kg yang diduga karena kandungan monoterpen dan sesquiterpen (Vendruscolo *et al.*, 2006).

2.5 Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

2.5.1 Klasifikasi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Menurut ITIS dan *arctose database plant* (2015), tanaman jahe merah dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Liliales
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Zingiber</i>
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>
Varietas	: <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i>

2.5.2 Deskripsi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Jahe merah merupakan jenis rimpang jahe yang memiliki rimpang kecil, ramping, kurang mengandung air, berwarna merah atau jingga, dan rasanya pedas. Jahe merah ini juga dikenal dengan sebutan jahe sunti (Lukito, 2007). Batang semu jahe merah berbentuk bulat kecil, berwarna hijau kemerahan, dan agak keras karena diselubungi oleh pelepah daun. Tinggi tanaman mencapai 34,18 – 62,28 cm. Rimpang jahe ini berwarna merah hingga jingga muda. Ukuran rimpang pada jahe merah lebih kecil dibanding jahe emprit dan jahe gajah, yakni panjang rimpang 12.33-12.60 cm, tinggi mencapai 5.86-7.03 cm, dan berat rata-rata 0.29-1.17 kg. Ukuran besar dan kecilnya rimpang dipengaruhi oleh keadaan lingkungan tumbuh, misalnya kesuburan tanah, teknik budi daya yang dilakukan, dan karakteristik pembawa sifat. Interaksi antara gen dan faktor lingkungan akan menghasilkan penampilan fisik yang berbeda. Meskipun ukuran rimpang jahe merah termasuk yang paling kecil, jahe merah memiliki aroma yang tajam dan rasanya sangat pedas (Lanterana, 2002).

2.5.3 Kandungan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Rimpang Jahe segar mengandung 9% lipid atau glikolipid dan 5-8% oleoresin. Jahe mengandung minyak jahe sebanyak 3%, dimana 20-25% dari minyak jahe merupakan oleoresin (Chrubasik *et al.*, 2005). Rimpang jahe mengandung minyak atsiri uap, minyak lemak tetap, senyawa berbau tajam, resin, protein, selulosa, pentosan, pati, dan elemen mineral. Kandungan ini bervariasi tergantung waktu panen, daerah, kondisi iklim, sifat rimpang, dan kematangan (Vasala *et al.*, 2012). Menurut penelitian Hernani dan Hayani (2001), jahe merah mempunyai kandungan pati (52,9%), minyak atsiri (3,9%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (9,93%) lebih tinggi dibandingkan jahe emprit (41,48% untuk pati, 3,5% untuk minyak atsiri, dan 7,29% untuk ekstrak yang larut dalam alkohol) dan jahe gajah (44,25% untuk pati, 2,5% untuk minyak atsiri, dan 5,81% untuk ekstrak yang larut dalam alkohol).

2.6 Minyak Jahe Merah

Minyak jahe diproduksi melalui destilasi uap dari jahe kering yang masih segar. Hasil minyak bervariasi dari 1,5 sampai 3% dengan rata-rata 2%. Minyak yang didapat berupa cairan encer berwarna hijau atau kuning yang menjadi kental pada penyimpanan yang lama (Vasala *et al.*, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Supriyanto dan Cahyono (2012), volume minyak yang dihasilkan dari jahe segar lebih banyak dibandingkan dengan jahe kering yaitu 0,9 ml dan 0,2 ml dengan kadar masing-masing 3,71% dan 0,94%.

2.6.1 Destilasi

Destilasi adalah suatu proses pemurnian untuk senyawa cair, yaitu suatu proses yang didahului dengan penguapan senyawa cair dengan memanaskannya, lalu mengembunkan uap yang terbentuk yang akan ditampung dalam wadah yang terpisah untuk mendapatkan destilat (Underwood, 1983). Proses yang terjadi pada destilasi adalah perubahan fase cair menjadi fase uap atau gas dengan pendidihan dan kondensasi pengembun (Khopkar, 2003). Menurut Guenther (1987), metode destilasi minyak atsiri ada tiga macam yaitu destilasi dengan air, destilasi dengan uap dan destilasi dengan air dan uap.

Metode destilasi dengan air (hidrodestilasi) yaitu bahan yang akan didestilasi kontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna, tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang didestilasi. Peristiwa pokok yang terjadi pada proses hidrodestilasi yaitu difusi minyak atsiri dan air panas melalui membran tanaman, hidrolisa terhadap beberapa komponen minyak atsiri dan dekomposisi yang disebabkan oleh panas. Prinsip kerja destilasi stahl sama dengan destilasi dengan air namun destilasi stahl memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan penggunaan destilasi stahl antara lain minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga tidak mudah menguap dan volume minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena alatnya dilengkapi dengan skala (Guenther, 1987).

2.6.2 Kandungan Minyak Jahe Merah

Minyak jahe terdiri dari minyak menguap (*volatile oil*) dan minyak tidak menguap (*non volatile oil*). Minyak menguap merupakan minyak atsiri dan minyak tidak menguap adalah oleoresin (Herlina *et al.*, 2002). Menurut Kamaliroosta *et al.* (2013), minyak jahe disusun dari monoterpen hidrokarbon, sesquiterpen hidrokarbon, dan monoterpen oksigenasi. Sama halnya dengan jahe merah, komponen kimia dari minyak pada rhizomanya terdiri dari monoterpen, sesquiterpen, monosesquiterpen oksigenasi, dan beberapa komponen miscellaneous (Sukari *et al.*, 2008). Senyawa utama pada minyak jahe segar terdiri dari kamfen, *R*-terpineol, farnesen, *p*-cineol, β -mycrene, asam pentadekanoat, zingiberen, geranil isobutirat, 3,7-dimethyl-1,3,7-octatriene, 9,12-octadekadial, 9,12,15-octadecatrienal, nerolidol, *R*-felandren, (-)- α -zingiberen, (-)- β -bisabolen, (+)-*ar*-curcumen, (-)- β -sesquifelandren, asiklik α -farnasen, geranial, neral, 1,8-cineol, linalool, borneol, zingiberol, dan bisapolen (Chrubasik *et al.*, 2005; Wohlmuth *et al.*, 2006; Felipe *et al.*, 2008; El-Ghorab *et al.*, 2010; Rehman *et al.*, 2011).

Hasil dari minyak jahe yang didapat bergantung pada varietas dan asal tanaman juga pembudidayaannya, kelembapan pada waktu panen, metode ekstraksi, dan umur dari tanaman (Kamaliroosta *et al.*, 2013). Faktor yang mempengaruhi jumlah minyak jahe yang didapat meliputi karakteristik fisik sampel, metode pengeringan, dan ukuran partikel. Karakteristik fisik sampel dapat berupa segar atau kering, kulitnya dikupas atau tidak, dan jahenya muda atau tua. Selama proses pengeringan, faktor yang mempengaruhi adalah waktu dan metode (pengeringan dengan oven, mikrowave, matahari, pembekuan, dan udara). Ukuran partikel meliputi metode pemotongan juga sama pentingnya. Selama penggunaan jahe segar dibanding dengan kering, ditemukan komposisi kimia pada jahe segar lebih banyak dibanding jahe kering karena adanya proses pengeringan pada jahe kering. Banyak senyawa monoterpen dan sesquiterpen alkohol berkurang pada minyak jahe dari jahe kering dibanding jahe segar (Buang *et al.*, 2014).

2.6.3 Efek Jahe Merah

Jahe sudah digunakan sejak jaman purba untuk berbagai jenis penyakit meliputi arthritis, reumatik, keseleo, nyeri otot, dan nyeri (Rehman *et al.*, 2011). Pada obat tradisional, jahe sudah digunakan untuk mengobati nyeri, inflamasi, arthritis, infeksi saluran kemih, dan gangguan gastrointestinal (Melo *et al.*, 2011). Pada penelitian menggunakan hewan coba menunjukkan jahe memiliki efek pada saluran pencernaan seperti antiemetik, antiulser, dan penghambatan serotonin yang menginduksi diare, sistem kardiovaskular (Chrubasik *et al.*, 2005) yaitu mencegah berbagai macam penyakit jantung dengan cara mengurangi pembekuan darah, penurunan tekanan darah (Rehman *et al.*, 2011), pada penelitian nyeri dan demam, antioksidan, antilipidemia dan antitumor (Chrubasik *et al.*, 2005).

Menurut Geiger (2005), minyak jahe diperkirakan bersifat sebagai analgesik dan juga ansiolitik. Jia *et al.* (2011) menyatakan bahwa minyak jahe (0,25–1,0 g/kg) menghasilkan efek analgesik yang signifikan terhadap rangsangan kimia dan termal pada mencit yang diinduksi nyeri nosiseptik. Pada penelitian tersebut membuktikan bahwa minyak jahe dapat digunakan untuk mengobati nyeri dan inflamasi kronik seperti rematoid arthritis, selain itu minyak jahe juga memperlihatkan aktivitas antiinflamasi, antinosiseptif dan imunomodulator (Zhou *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2011). Felipe *et al.* (2008) membuktikan bahwa minyak jahe dapat mempengaruhi memori dan tingkah laku hewan coba dan hal ini dihubungkan dengan sistem kolinergik.

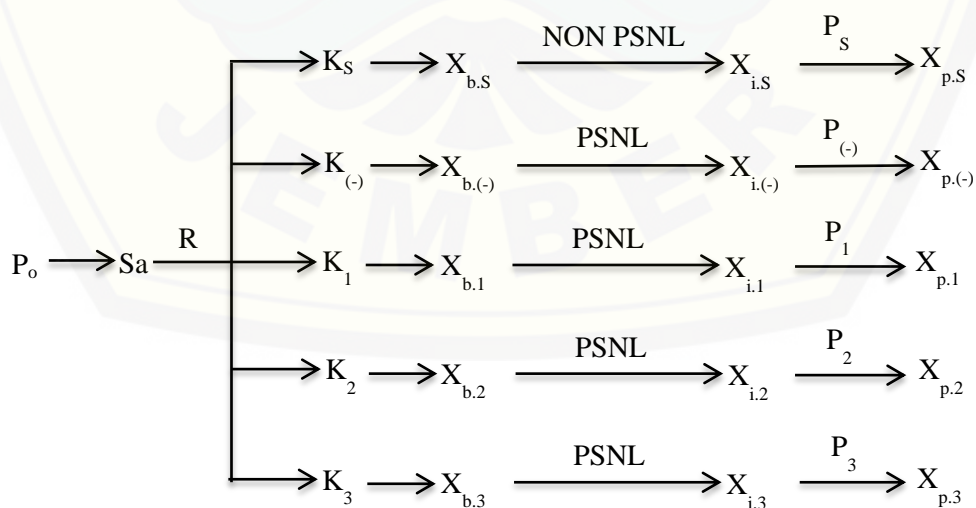
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Pengaruh pemberian minyak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) pada mencit neuropati dengan metode PSNL ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*. Penelitian *true experimental laboratories* ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tertentu yang nantinya akan digunakan kelompok kontrol sebagai pembanding (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *pretest posttest with control group design*. Penilaian dilakukan pada saat *pretest* yaitu saat mencit belum mendapatkan perlakuan apapun dan saat *posttest* yaitu setelah mendapat perlakuan berupa pemberian emulsi minyak jahe merah. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian

Keterangan :

P_o : Populasi

S_a : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok

S : *Sham* → tween 0.5%

(-) : Kontrol negatif → tween 0.5%

1 : Perlakuan 1 → minyak jahe merah dosis 100 mg/kgBB

2 : Perlakuan 2 → minyak jahe merah dosis 200 mg/kgBB

3 : Perlakuan 3 → minyak jahe merah dosis 400 mg/kgBB

X_b : Respon nyeri berupa waktu ketahanan mencit terhadap stimulus sebagai nilai *baseline*

$X_{i,S}$: Respon nyeri S setelah pembedahan tanpa pengikatan saraf *sciatic* (Non PSNL)

X_i : Respon nyeri setelah induksi neuropati dengan metode PSNL

P : Perlakuan

X_p : Respon nyeri berupa waktu ketahanan mencit terhadap stimulus setelah perlakuan

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Bagian Farmasi Klinik Komunitas Fakultas Farmasi dan Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dimulai dari bulan Oktober 2015

3.4 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer : $\{(p-1)(n-1)\} \geq 15$ (Notoatmodjo, 2010).

Keterangan : p = jumlah kelompok

n = jumlah hewan coba

Jika dalam penelitian ini digunakan sebanyak 5 kelompok perlakuan yang berbeda, maka jumlah minimal hewan coba yang dibutuhkan adalah :

$$\{(p-1) (n-1)\} \geq 15$$

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

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

$$n \geq 4.75$$

Jadi jumlah minimal sampel hewan coba yang digunakan adalah 5 ekor. Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 5 ekor tikus masing-masing kelompok sehingga total mencit yang digunakan adalah 25 ekor.

3.5 Alat, Bahan, dan Hewan Uji yang Digunakan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk destilasi jahe merah hingga menjadi emulsi minyak dalam penelitian ini adalah satu set alat destilasi (destilasi stahl), timbangan, labu ukur, pisau, botol gelap, *beaker glass*, *syringe* 1 ml, batang pengaduk, mikropipet, *blue tip*, dan vial. Alat-alat untuk pengujian aktivitas minyak jahe merah adalah *hot/cold plate* (Ugo Basile), *syringe* 1 ml, gunting dan pinset bedah, jarum 3/0, wadah untuk anastesi, pot organ, papan bedah, kandang mencit beserta tutupnya, neraca analitik, jarum sonde, dan botol minum mencit.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe merah yang berumur kurang lebih satu tahun diperoleh dari pertanian *Peci Farm* bertempat di Kencong Kab. Jember, aquades, *silk suture* 8/0 beserta jarumnya, *silk suture* 3/0, mata scalpel, kapas, tissue, dietil eter, masker, *handscoon*, tween 80 dan alkohol 70%.

3.5.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah Mencit (*Mus musculus*) strain Balb-C yang diperoleh dari *Wistar Farm* di Malang, jenis kelamin jantan usia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sehat, dan tidak ada kelainan yang tampak pada bagian tubuh.

3.6 Variabel

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis emulsi minyak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*).

3.6.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah respon nyeri berupa waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria hewan coba, kriteria minyak jahe yang diberikan, pemeliharaan hewan coba, waktu perlakuan, dan proses pengujian waktu ketahanan terhadap stimulasi panas.

3.7 Definisi Operasional

Adapun definisi operasional yang dari variabel yang telah disebutkan adalah sebagai berikut :

- a. Minyak jahe merah diperoleh dari hasil hidrodestilasi jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) menggunakan air dengan perbandingan 1 : 2. Jahe didapat dari Kencong kab. Jember yang berumur lebih dari 1 tahun. Minyak jahe merah diberikan dalam bentuk emulsi secara oral sebanyak satu kali sehari.
- b. Mencit dikatakan mengalami nyeri neuropati (mencit neuropati) apabila memiliki waktu ketahanan terhadap stimulus panas lebih rendah daripada nilai *baseline* setelah dilakukan pembedahan dan sebelum diberi perlakuan.

- c. Bahan uji dikatakan memiliki aktivitas untuk mengatasi nyeri neuropati jika pada pengamatan didapatkan peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas jika dibandingkan dengan nilai *baseline* dengan menggunakan *hot plate*.

3.8 Pelaksanaan Penelitian dan Pengambilan Data

3.8.1 Pembuatan Emulsi Minyak Jahe Merah

Langkah pertama yang dilakukan untuk membuat emulsi minyak jahe merah adalah mendapatkan minyak jahe merah dari proses hidrodestilasi. Proses ini menggunakan instrumen destilasi dengan prinsip destilasi Stahl. Sebanyak 6 kilogram jahe merah segar yang telah diiris tipis dihidrodestilasi dengan perbandingan berat jahe merah dengan pelarut air adalah 1: 2. Proses hidrodestilasi dilakukan selama 6 jam dengan suhu 100° C sampai tidak lebih dari 121° C . Minyak jahe yang didapat kemudian diemulsikan dengan tween 80 sebanyak 0.5% dari volume emulsi yang dibuat dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB menggunakan pelarut aquades.

3.8.2 Pengujian Aktivitas Minyak Jahe Merah pada Mencit Neuropati dengan Metode PSNL

Mencit terlebih dahulu diadaptasi selama kurang lebih tujuh hari sebelum perlakuan dengan pemberian pakan standar. Hari kedelapan setelah adaptasi, dilakukan pembuatan model neuropati pada mencit yang sebelumnya sudah diukur waktu ketahanan terhadap stimulus panas sebagai nilai *baseline*. Hari dilakukannya induksi neuropati dianggap sebagai hari ke-0.

Proses pertama yang dilakukan untuk pembuatan model nyeri neuropati adalah mencit dianastesi menggunakan eter kemudian ditempatkan pada papan bedah. Mencit kemudian diinduksi nyeri neuropati dengan metode PSNL sebagai berikut. Pada bagian paha belakang sebelah kiri didesinfeksi menggunakan alkohol 70%. Pada bagian kulit tersebut dilakukan pembedahan menggunakan peralatan bersih yang telah didesinfeksi dengan alkohol 70%. Bagian serabut saraf *sciatic* dipisahkan dari jaringan sekitarnya. Kurang lebih sepertiga sampai setengah dari diameter serabut saraf tersebut diikat kuat menggunakan *silk suture*

8/0, kemudian kulit dijahit kembali menggunakan *silk suture* 3/0 agar tertutup kembali. Pada kelompok *sham* hanya dilakukan pembedahan tanpa pengikatan serabut saraf *sciatic* dan kulitnya ditutup kembali dengan *silk suture* 3/0.

Pada hari ke-7 setelah induksi nyeri neuropati, emulsi minyak jahe merah diberikan secara per oral satu kali sehari selama 7 hari untuk kelompok perlakuan sedangkan kelompok *sham* dan kelompok kontrol negatif diberi tween 0.5% secara per oral. Kelompok 1 diberi emulsi minyak jahe merah dengan dosis 100 mg/kgBB, kelompok 2 diberi emulsi minyak jahe merah dengan dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok 3 diberi emulsi minyak jahe merah dengan dosis 400 mg/kgBB.

3.8.3 Pengamatan Respon Terhadap Nyeri

Pengujian waktu ketahanan terhadap stimulasi panas dilakukan menggunakan *hot plate*. Mencit ditempatkan pada *hot plate* yang diatur pada suhu $50 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Perilaku mencit kemudian diamati, bila mencit telah menunjukkan respon nyeri maka penghitung waktu dimatikan dan mencit segera dikeluarkan dari *hot plate*. Pengujian waktu ketahanan terhadap stimulus panas dilakukan pada hari ke 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, dan 14 setelah diinduksi nyeri neuropati. *Baseline* juga ditentukan terlebih dahulu sebelum diinduksi nyeri neuropati dengan metode PSNL yaitu pada hari ke-0. Evaluasi respon nyeri yang dilihat berdasarkan pengamatan visual terhadap beberapa perilaku seperti : mendekati kedua tungkai kaki ke depan, menjilat tungkai kaki ke depan, gerakan meliuk, berusaha melompat keluar area *hot plate*, dan menghentakkan tungkai belakang.

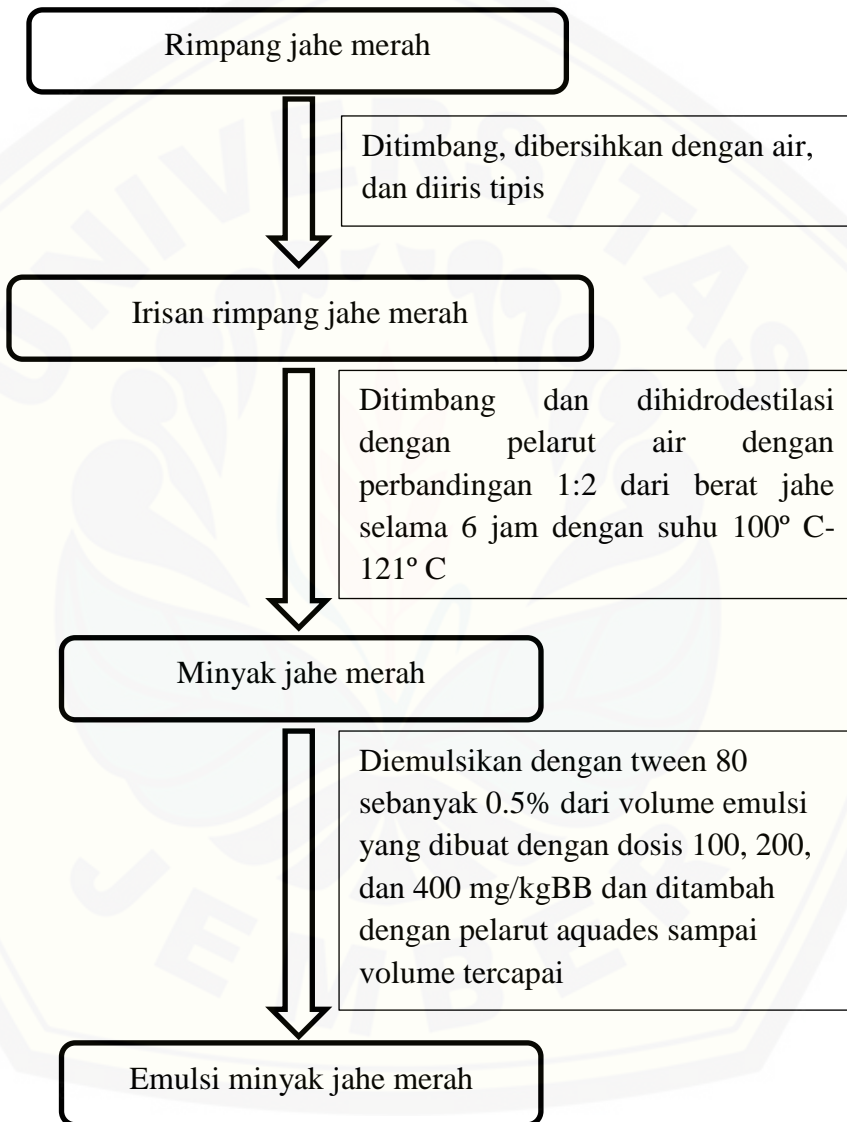
3.9 Analisis Data

Waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok *sham* dan kontrol negatif pada hari ke- 0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, dan 14 dinyatakan dalam rerata \pm SEM. Data ditampilkan dalam bentuk grafik dan dianalisis menggunakan *independent t-test* untuk mengetahui perbedaan waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada kelompok non PSNL dan PSNL dan *two way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh perbedaan dosis

minyak jahe terhadap waktu ketahanan stimulus panas dengan derajat kepercayaan 95%.

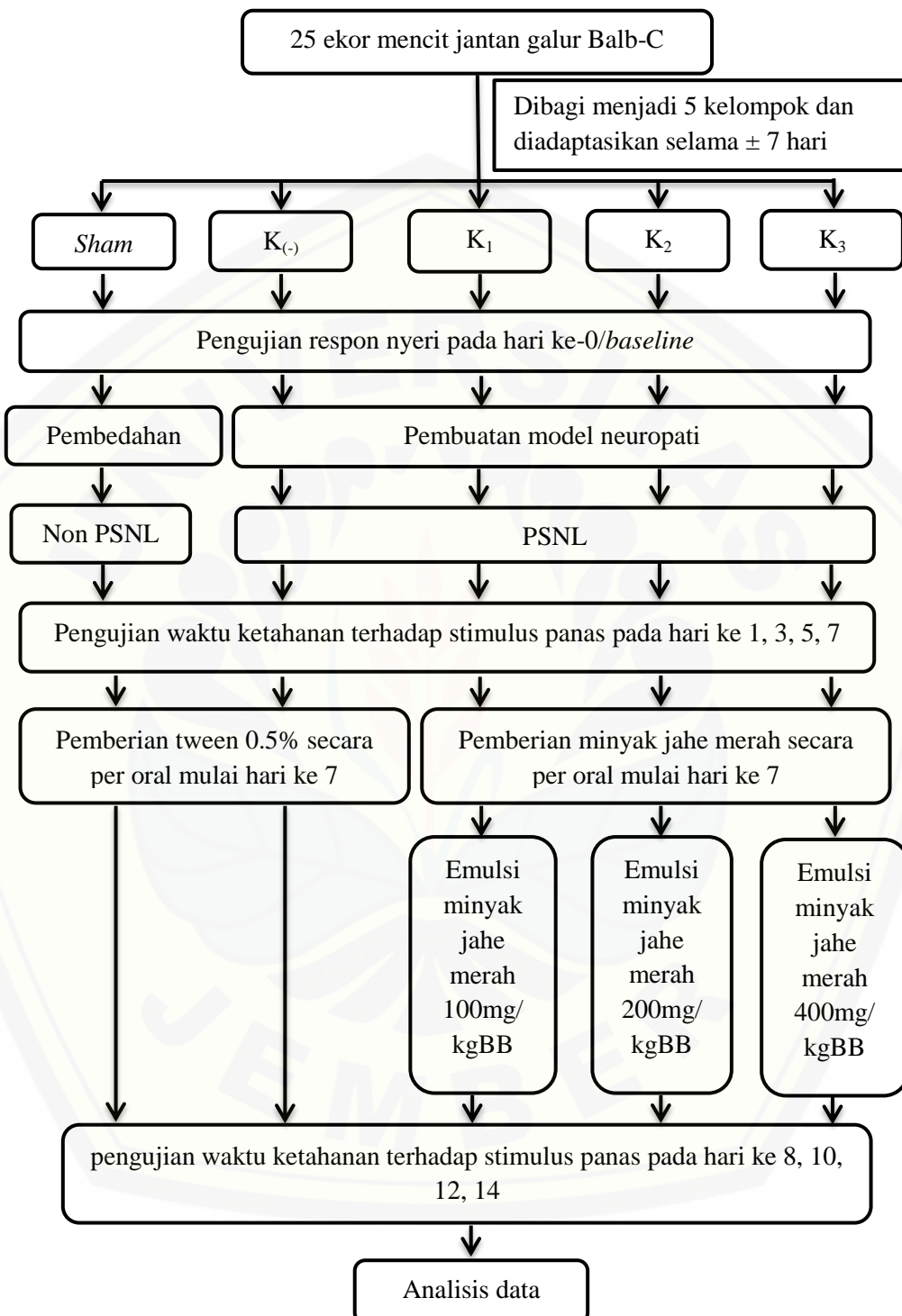
3.10 Skema Penelitian

3.10.1 Pembuatan Emulsi Minyak Jahe Merah



Gambar 3.2 Skema pembuatan emulsi minyak jahe merah

3.10.2 Pengujian Aktvitas



Gambar 3.3 Skema pengujian aktivitas minyak jahe merah

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian minyak jahe merah dapat meningkatkan waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL
2. Pemberian minyak jahe merah dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kgBB tidak memberikan hasil yang berbeda pada waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada mencit neuropati dengan metode PSNL

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian yang sama namun dengan dosis yang lebih bertingkat serta jangka waktu pemberian minyak jahe merah yang lebih lama.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai mekanisme aksi dari minyak jahe merah sebagai antinyeri neuropati dengan metode PSNL.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai senyawa dari minyak jahe merah yang berperan dalam aktivitas anti nyeri neuropati dengan metode PSNL.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, Blunden, Tanira, dan Nemmar. 2008. Some Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A Review of Recent Research. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 46: 409-420
- American Chronic Pain Association (ACPA). 2012. *ACPA Resource Guide To Chronic Pain Medication & Treatment*. American Chronic Pain Association, Inc.
- Amin, B. dan Hosseinzadeh, H. 2012. Evaluation of Aqueous and Ethanolic Extract of Saffron, *Crocus sativus* L., and Its Constituents, Safranal and Crocin in Allodynia and Hyperalgesia Induced by Chronic Constriction Injury Model of Neuropathic Pain in Rats. *Fitoterapia*. Vol. 83(5): 888-895
- Arctose Database Museum. 2015. *Zingiber officinale* var. Rubrum. <http://arctose.database.museum/.htm> [2 Desember 2015].
- Baron, R., Binder, A., dan Wasner, G. 2010. Neuropathic Pain: Diagnosis, Pathophysiological Mechanisms, and Treatment. *Lancet Neurol*. Vol. 9(8): 807-19.
- Barrot, M. 2012. Tests and Models of Nociception and Pain In Rodents. *Neuroscience*. Vol. 211: 39-50.
- Batista, Harris, Werner, Santos, dan Story. 2011. Inhibition Of TRPA1 And NMDA Channels Contributes to Anti-Nociception Induced by (-)-Linalool. *Journal of Pain*. Vol. 12(4).
- Batista, Warner, Oliveira, Burgos, Pereira, Brum, Story, dan Santos. 2010. The Antinociceptive Effect of (-)-Linalool in Models of Chronic Inflammatory and Neuropathic Hypersensitivity in Mice. *The Journal of Pain*. Vol. 11(11): 1222-1229
- Baumman, T. J. dan Strickland, J., 2008. Pain Management. In: Joseph T. DiPiro, Robert L. Talbert, Gary C. Yee, Gary R. Matzke, Barbara G. Wells, L. Michael Posey (Eds.). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 7th ed.* New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Berliocchi, Russo, Levato, Fratto, Bagetta, Sakurada, Sakurada, Mercuri, Dan Corasaniti. 2009. (-)-Linalool Attenuates Allodynia in Neuropathic Pain Induced by Spinal Nerve Ligation in C57/Bl6 Mice. *International Review Of Neurobiology*. VOL. 85: 221-235
- Biomethodology for Laboratory Mice. 2016. Injections. http://www.theodora.com/rodent_laboratory/injections.html [6Januari 2016].

- Bouhassira, Minet, Attal, Laurent, dan Touboul. 2008. Prevalence of Chronic Pain With Neuropathic Characteristics in The General Population. *Pain*. Vol. 136(3): 380–387.
- Brenner, G. J., 2002. Neuronal Basis of Pain. *Dalam: Ballantyne, J., Fishman, S., dan Abdi, S. (Eds). The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management*. Edisi ke-2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publisher.
- Bridges, D., Thompson, S. W. N., dan Rice, A. S. C. 2001. Mechanism of Neuropathic Pain. *British Journal of Anaesthesia*. Vol. 87(1): 12-26
- Buang, Jantan, Amran, dan Arbain. 2014. Optimization of Ginger (*Zingiber officinale*) Oil Yield from Malaysia in Different Hydrodistillation Physical Parameters via Central Composite Design of Response Surface Methodology (RSM). *Research Journal of Applied Sciences, Engineering, and Technology*. Vol. 7(24): 5098-5105
- Chong, M. S. dan Bajwa, Z. H. 2003. Diagnosis and Treatment of Neuropathic Pain. *Journal of Pain and Symptom Management*. Vol. 25(5): 4-11
- Chrubasik, S., Pittler, M. H., dan Roufogalis, B. D., 2005. Zingiberis Rhizoma: A Comprehensive Review on The Ginger Effect and Efficacy Profiles. *Phytomedicine*. Vol. 12(9): 684–701.
- College, O. 2013. *Anatomy and Physiology*. Texas: Rice University
- Comelli, Giagnoni, Bettoni, Colleoni, dan Costa. 2008. Antihyperalgesic Effect of a *Cannabis sativa* Extract in a Rat Model of Neuropathic Pain: Mechanism Involved. *Phytotherapy Research*. Vol. 22(8): 1017-1024
- Costigan, M., Scholz, J., dan Woolf, C. J. 2009. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of The Nervous System to Damage. *Annual Review of Neuroscience*. Vol. 32(1): 1–32.
- D’Mello, R. dan Dickenson, A. H. 2008. Spinal Cord Mechanism of Pain. *British Journal of Anaesthesia*. Vol. 101(1): 8-16
- Dowdall, T., Robinson, I., dan Meert, T. F. 2005. Comparison of Five Different Rat Models of Peripheral Nerve Injury. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. Vol. 80: 93–108
- Dworkin, O’Connor, Audette, Baron, Gourlay, Haanpaa, Kent, Krane, Lebel, Levy, Mackey, Mayer, Miaskowski, Raja, Rice, Schmader, Stacey, Stanos, Treede, Turk, Walco, dan Wells. 2010. Recommendations for The Pharmacological Management of Neuropathic Pain: An Overview and Literature Update. *Mayo Clinic Proceedings*. Vol. 85(3): 3-14

- El-Ghorab, Nauman, Anjum, Hussain, dan Nadeem. 2010. A Comparative Study on Chemical Composition and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) and Cumin (*Cuminum cyminum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 58(14): 8231-8237
- Felipe, Kamyła, Andre, Jose, Manoel, Marta, dan Glauce. 2008. Alterations in Behavior and Memory Induced by The Essential Oil of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) in Mice are Cholinergic-Dependent. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 2(7): 163-170
- Geiger, J. L. 2005. The Essential Oil of Ginger, *Zingiber officinale*, and Anaesthesia. *The International Journal of Aromatherapy*. Vol. 15(1): 7-14
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I*. Terjemahan oleh Ketaren S., Cetakan I. Jakarta: Universitas Indonesia
- Guyton, A. C., dan Hall, J. E. 2011. *Textbook of Medical Physiology 12th Ed*. Philadelphia: W.B Saunders Company.
- Hegazy, H. G. dan Ali E. H. A. 2011. Modulation of Monoamines and Amino-Acids Neurotransmitters in Cerebral Cortex and Hippocampus of Female Senile Rats by Ginger and Lipoic Acid. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 5(8): 1080-1085
- Herlina, Murhanarto, Listiyani, dan Pribadi. 2002. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah: Si Rimpang Ajaib*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Hernani dan Hayani, E. 2001. *Identification of chemical components on red ginger (Zingiber officinale var. Rubrum) by GC-MS. Proc. International Seminar on natural products chemistry and utilization of natural resources*. Jakarta: UI-Unesco.
- Hernani dan Winarti, C. 2014. *Kandungan Bahan Aktif Jahe dan Pemanfaatannya dalam Bidang Kesehatan*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
- Hossain, Hamamoto, Aoshima, dan Hara. 2002. Effects of Tea Components on The Response of GABAA Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50: 3954-3960
- Hudspith, P. J., Siddall, P. J., dan Munglani, R. 2003. *Physiology of Pain*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher
- Hurley, R. W., Adams, M. C. B., dan Benzon, H. T. 2013. Neuropathic Pain : Treatment Guidelines and Updates. *Current Opinion in Anesthesiol*. Vol. 26(5): 580-587
- Ikawati, Zullies. 2011. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Saraf Pusat*. Yogyakarta: Bursa Ilmu

- Integrated Taxonomic Information System (ITIS) report. 2015. *Zingiber officinale* Roscoe. <http://www.itis.gov.htm> [2 Desember 2015].
- Jaggi, A. S., Jain, V., dan Singh N. 2011. Animal Models of Neuropathic Pain. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. Vol. 25(1): 1-28
- Jia, Zhao, Zhang, Sun, Bao, Li, Shen, Shen, Zhao, dan Xie. 2011. Analgesic, and Anti-inflammatory Effects of Ginger Oil. *Chinese Herbal Medicines*. Vol. 3(2): 150-155
- Kamaliroosta, Z., Kamaliroosta, L., dan Elhamiraa, A. H. 2013. Isolation and Identification of Ginger Essential Oil. *Journal of Food Biosciences and Technology*. Vol. 3(3): 73-80
- Kanter, M. 2008. Effect of *Nigella sativa* and its Major Constituent, Thymoquinon on Sciatic Nerve in Experimental Diabetic Neuropathy. *Neurochemical Research*. Vol. 33(1): 87-96
- Kartini. 2007. *Hubungan Nyeri dengan Gangguan Aktivitas Interpersonal pada Individu Usia 50 Tahun Keatas di Kabupaten Purworejo*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Kes, Ivankovic, Bitunjac, Govori, dan Demarin. 2009. Neuropathic Pain. *Medical Science*. Vol. 33: 93-104
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Klusakova, I. dan Dubovy, P. 2009. Experimental Models of Peripheral Neuropathic Pain Based on Traumatic Nerve Injuries – An Anatomical Perspective. *Annals of Anatomy*. Vol. 191(3): 248-259
- Laughlin, Tram, Wilcox, dan Birnbaum. 2002. Comparison of Antiepileptic Drugs Tiagabine, Lamotrigine, and Gabapentin in Mouse Model of Acute, Prolonged, and Chronic Nociception. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 302(3): 1168-1175
- Lukito, A. M. 2007. *Petunjuk Praktis Bertanam Jahe*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Mardiana, L. 2012. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Meller, Pechman, Gebhart, dan Maves. 1992. Nitric Oxide Mediates The Thermal Hyperalgesia Produced in A Model of Neuropathic Pain in The Rat. *Neuroscience*. Vol. 50(1): 7-10
- Melo, Grespan, Fonseca, Farinha, Silva, Romero, Amado, dan Cuman. 2011. Inhibitory Effects of Ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe) Essential Oil on Leukocyte Migration In Vivo and In Vitro. *Journal of Natural Medicines*. Vol. 65(1): 241-246

- Moore, Straube, Wiffen, Derry, dan McQuay. 2010. *Pregabalin for Acute and Chronic Pain in Adults (Review)*. The Cochrane Collaboration: John Wiley & Sons, Ltd.
- Muthuraman, Diwan, Jaggi, Singh, dan Singh. 2008. Ameliorative Effects of *Ocinum sanctum* in Sciatic Nerve Transection-Induced Neuropathy in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 120(1): 56-62
- National Health and Medical Research Council (NHMRC). 2005. *Acute Pain Management: Scientific Evidence*. Canberra: ampersand editorial & design
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- O'Neal, C.K., 2008. Pain Management, In Chisholm-Burns, M.A., Wells, B.G., Schwinghammer, T.L., Malone, P.M., Kolesar, J.M., Rotschafer, J.C., Dipiro, J.T. (Eds), *Pharmacotherapy : Principles & Practice*. New York : Mc Graw Hill Companies Inc.
- Ojewole, J. A. O.2006. Analgesic, Antiinflammatory, and Hypoglycemic Effects of Ethanol Extract of *Zingiber officinale* (Roscoe) Rhizomes (Zingiberaceae) in Mice and Rats. *Phytotherapy Research*. Vol. 20: 764-772
- Pasero, C. 2004. Pathophysiology of Neuropathic Pain. *Pain Management Nursing*. Vol. 5(4): 3-8
- Pepicelli, Fedele, Bonnano, Raiteri, Ajmone-Cat, Greco, Levi, dan Minghetti. 2002. In vivo Action of N-methyl-D-aspartate Receptors in The Rat Hippocampus Increases Prostaglandin E2 Extracellular Levels and Triggers Lipid Peroxidation Through Cyclooxygenase-Mediated Mechanisms. *Journal of Neurochemistry*. Vol. 81: 1028-1034
- Petrenko, Yamakura, Baba, dan Shimoji. 2003. The Role of N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptors in Pain: A Review. *Anaesthesia Analgesia*. Vol. 97(4): 1108-1116
- Pletcher, Kertesz, Kohn, dan Gonzales. 2008. Trends in Opioid Prescribing by Race/Ethnicity for Patients Seeking Care in US Emergency Departments. *The Journal of the American Medical Association*. Vol. 299(1): 70-78
- Quintans, Antonioli, Almeida, Santana-Filho, dan Quintans-Junior. 2013. Natural Product Evaluated in Neuropathic Pain Models – A Systematic Review. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. Vol. 114(6): 442-450
- Raja, S. N. dan Wallace, M. 2015. Neurostimulation for Neuropathic Pain: Outcomes and New Paradigms. *Pain: Clinical Updates*. Vol. 13 (5): 1-8
- Rehman, Akram, Akhtar, Jbeen, Saeed, Shah, Ahmed, Shaheen, dan Asif. 2011. *Zingiber officinale* Roscoe (Pharmacological Activity). *Journal of Medical Plants Research*. Vol. 5 (3): 344-348.

- Samantha, M. S., dan Maree T, S. 1998. Apparent Insensitivity of the Hotplate Latency Test for Detection of Antinociception Following Intraperitoneal, Intravenous or Intracerebroventricular M6G Administration to Rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 286 (3): 1326–1332.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Shimoda, Shan, Tanaka, Seki, Soe, Kasajima, Tamura, Ke, dan Murakami. 2010. Anti-inflammatory Properties of Red Ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) Extract and Suppression of Nitric Oxide Production by Its Constituents. *Journal of Medicinal Food*. Vol. 13(1): 156-162
- Sukari, Sharif, Yap, Tang, Neoh, Rahmani, Ee, Yap, dan Yusof. 2008. Chemical Constituents Variations of Essential Oils From Rhizomes of Four Zingiberaceae Species. *The Malaysian Journal of Analytical Science*. Vol. 12 (3): 638-644
- Supriyanto dan Cahyono, B. 2012. Perbandingan Kandungan Minyak Atsiri Antara Jahe Segar dan Jahe Kering. *Chem. Prog.* Vol. 5(2): 81-85
- Turner, R. A. 1965. *Screening Method in Pharmacology*. New York: Academic Press.
- Underwood, A. L. dan Day, R. A. (1983). *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Vasala, Rajan, Jency, Priyesh, Rethidevi, dan Nazeem. 2012. Indirectorganogenesis in Ginger Seed Embryo Developed Through In Vitro Pollination and Fertilization in Yesodharan EP (ed.). *Journal Science Technology and Environment*.
- Vendruscolo, Takaki, Bersani-Amado, Dantas, Bersani-Amado, dan Cuman. 2006. Antiinflammatory and Antinociceptive Activities of *Zingiber officinale* Roscoe Essential Oil in Experimental Animal Model. *Indian Journal of Pharmacology*. Vol. 38(1): 58-59
- Wohlmuth, Smith, Brooks, Myer, dan Leach. 2006. Essential Oil Composition of Diploid and Tetraploid Clones of Ginger (*Zingiber officinale* Roscose) Grown in Australia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 54(4): 1414-1419.
- Wong, Hui, Chung, dan Wong. 2014. Diagnosis and Management of Neuropathic Pain. *Pain Management*. Vol. 4(3): 221-231
- Woolf, C. J. 2004. Pain: Moving from Symptom Control toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management. *Annals of Internal Medicine*. Vol. 140(6): 299-343.

Woolf, C. J. dan Salter, M. W. 2000. Neuronal Plasticity: Increasing The Gain Pain. *Science*. Vol. 288(5472): 1765-1768

Zhou, H. L., Deng, Y. M., dan Xie, Q. M. 2006. The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response in vitro and in vivo in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 105(1-2): 301-305



LAMPIRAN

A. Hasil Perhitungan Rendemen Minyak Jahe Merah

Massa rimpang jahe	= 6 kg
Volume minyak hasil destilasi I	= 10,3 ml
Volume minyak hasil destilasi II	= 14,5 ml
Volume minyak total	= 24,8 ml
Massa minyak	= vol x ρ
	= 24,8 ml x 0,8812 g/ml
	= 21,9 g = 0,0219 kg

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen minyak} &= (\text{Massa minyak/massa rimpang jahe merah}) \times 100 \% \\ &= (0,0219 \text{ kg}/6 \text{ kg}) \times 100 \% \\ &= 0,36 \% \end{aligned}$$

B. Hasil Perhitungan Uji Berat Jenis Minyak Jahe Merah

1. Replikasi 1

Massa piknometer kosong (M1)	= 28,9625 g
Massa pikno+minyak (M2)	= 37,5565 g
Massa minyak	= M2 – M1
	= 8,5940 g
Volume piknometer kosong	= 9,849 ml

$$\begin{aligned} \rho_1 &= m/v \\ &= 8,5940 \text{ g}/9,849 \text{ ml} \\ &= 0,8726 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

2. Replikasi II

Massa piknometer kosong (M1)	= 28,9625 g
Massa pikno+minyak (M2)	= 37,6848 g
Massa minyak	= M2 – M1
	= 8,7223 g
Volume piknometer kosong	= 9,849 ml

$$\begin{aligned}\rho_2 &= m/v \\ &= 8,7223 \text{ g}/9,849 \text{ ml} \\ &= 0,8856 \text{ g/ml}\end{aligned}$$

3. Replikasi III

$$\text{Massa piknometer kosong (M1)} = 28,9625 \text{ g}$$

$$\text{Massa pikno+minyak (M2)} = 37,6837 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}\text{Massa minyak} &= M2 - M1 \\ &= 8,7212 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\text{Volume piknometer kosong} = 9,849 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}\rho_3 &= m/v \\ &= 8,7212 \text{ g}/9,849 \text{ ml} \\ &= 0,8854 \text{ g/ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Berat jenis rata-rata} &= (\rho_1 + \rho_2 + \rho_3) \div 3 \\ &= (0,8726 + 0,8856 + 0,8854) \div 3 \\ &= 0,8812 \text{ g/ml}\end{aligned}$$

C. Hasil perhitungan dosis untuk hewan uji

C.1 Tween 80 sediaan 0.5 %

- 0,5% ~ 0,5 ml dalam 100 ml air
- Berat mencit secara umum = 20 g
- 1 kali injeksi untuk mencit 20 g = 0,2 ml
- untuk 10 mencit selama 8 hari maka $10 \times 8 = 80$ kali injeksi
- $80 \times 0,2 \text{ ml} = 16 \text{ ml} \rightarrow 20 \text{ ml}$
- Jika 0,5 ml dalam 100 ml air,
- maka dalam 20 ml?

$$x/20 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}/100 \text{ ml}$$

$$x = (0,5 \text{ ml} \times 20 \text{ ml})/100 \text{ ml}$$

$$x = 0,1 \text{ ml} \leftrightarrow 100 \mu\text{l} \text{ dalam } 20 \text{ ml air}$$

C.2 Emulsi minyak jahe merah dosis 100 mg/kg BB

- 100 mg/kgBB \rightarrow 100 mg/ 1000 g
- 2 mg/20 g (berat mencit secara umum)
- 1 kali injeksi untuk mencit 20 g = 0,2 ml
- Maka 2 mg \sim 0,2 ml
- untuk 100 mg maka : $(100 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml}) / 2 \text{ mg} = 10 \text{ ml}$
- Jadi 100 mg dalam 10 ml (kadar jahe merah untuk dosis 100 mg/kgBB adalah 1%)
- 1 kali injeksi \sim 0,2 ml
- untuk 5 mencit selama 8 hari maka $5 \times 8 = 40$ kali injeksi
- $40 \times 0,2 \text{ ml} = 8 \text{ ml} \Leftrightarrow 15 \text{ ml}$
- Jumlah untuk 15 ml : $(15 \text{ ml} \times 100 \text{ mg}) / 10 \text{ ml} = 150 \text{ mg} \sim 0,15 \text{ g}$
 - Berat jenis minyak jahe merah = 0,8812 g/ml
 - $\rho = m/v \rightarrow v = m/\rho$
 - $v = 0,15 \text{ g} / 0,8812 \text{ g/ml}$
 - $v = 0,170 \text{ ml}$ (volume minyak jahe merah)
 - Tween yang ditambahkan (0,5%)
 - $= 0,5/100 \times 15 \text{ ml}$
 - $= 0,075 \text{ ml} \rightarrow 75 \mu\text{l}$

C.3 Emulsi minyak jahe merah dosis 200 mg/kg BB

- 200 mg/kgBB \rightarrow 200 mg/ 1000 g
- 4 mg/20 g (berat mencit secara umum)
- 1 kali injeksi untuk mencit 20 g = 0,2 ml
- Maka 4 mg \sim 0,2 ml
- untuk 200 mg maka : $(200 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml}) / 4 \text{ mg} = 10 \text{ ml}$
- Jadi 200 mg dalam 10 ml (kadar jahe merah untuk dosis 200 mg/kgBB adalah 2%)
- 1 kali injeksi \sim 0,2 ml
- untuk 5 mencit selama 8 hari maka $5 \times 8 = 40$ kali injeksi

- $40 \times 0,2 \text{ ml} = 8 \text{ ml} \Leftrightarrow 15 \text{ ml}$
- Jumlah untuk 15 ml : $(15 \text{ ml} \times 200 \text{ mg})/10 \text{ ml} = 300 \text{ mg} \sim 0,30 \text{ g}$
 - Berat jenis minyak jahe merah = $0,8812 \text{ g/ml}$
 $\rho = m/v \rightarrow v = m/\rho$
 $v = 0,30 \text{ g}/0,8812 \text{ g/ml}$
 $v = 0,340 \text{ ml}$ (volume minyak jahe merah)
 - Tween yang ditambahkan (0,5%)
 $= 0,5/100 \times 15 \text{ ml}$
 $= 0,075 \text{ ml} \rightarrow 75 \mu\text{l}$

C.3 Emulsi minyak jahe merah dosis 400 mg/kg BB

- $400 \text{ mg/kgBB} \rightarrow 400 \text{ mg}/1000 \text{ g}$
- $8 \text{ mg}/20 \text{ g}$ (berat mencit secara umum)
- 1 kali injeksi untuk mencit $20 \text{ g} = 0,2 \text{ ml}$
- Maka $8 \text{ mg} \sim 0,2 \text{ ml}$
- untuk 400 mg maka : $(400 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml})/8 \text{ mg} = 10 \text{ ml}$
- Jadi 400 mg dalam 10 ml (kadar jahe merah untuk dosis 200 mg/kgBB adalah 4%)
- 1 kali injeksi $\sim 0,2 \text{ ml}$
- untuk 5 mencit selama 8 hari maka $5 \times 8 = 40$ kali injeksi
- $40 \times 0,2 \text{ ml} = 8 \text{ ml} \Leftrightarrow 15 \text{ ml}$
- Jumlah untuk 15 ml : $(15 \text{ ml} \times 400 \text{ mg})/10 \text{ ml} = 600 \text{ mg} \sim 0,60 \text{ g}$
 - Berat jenis minyak jahe merah = $0,8812 \text{ g/ml}$
 $\rho = m/v \rightarrow v = m/\rho$
 $v = 0,60 \text{ g}/0,882 \text{ g/ml}$
 $v = 0,681 \text{ ml}$ (volume minyak jahe merah)
 - Tween yang ditambahkan
 $= 0,5/100 \times 15 \text{ ml}$
 $= 0,075 \text{ ml} \rightarrow 75 \mu\text{l}$

D. Hasil pengamatan waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas

Kel	Waktu Ketahanan Terhadap Stimulus Panas (s)									
	0	1	3	5	7	Treatment	8	10	12	14
Sham (n=5)	11.3	8.7	10.6	10.3	9.0	Tween 0.5%	10.2	10.6	10.0	11.2
	7.1	4.7	4.6	6.0	6.3		7.9	7.8	7.9	9.7
	8.2	7.8	8.0	6.6	4.8		7.5	7.4	8.8	10.5
	7.9	7.4	9.5	10.3	9.1		9.8	9.1	10.3	10.9
	11.5	11.4	10.1	7.4	7.6		10.4	12.3	12.2	10.5
PSNL (n=20)	7.1	3.0	3.4	3.1	3.7	Tween 0.5%	5.4	3.5	2.0	2.5
	7.5	3.9	3.6	3.6	4.7		5.7	4.3	3.7	2.8
	6.9	4.1	3.5	3.4	4.2		4.3	3.9	3.6	3.0
	8.9	6.0	4.7	3.4	4.0		5.2	3.1	2.5	3.2
	9.6	4.1	3.6	3.2	2.7		4.2	4.2	3.8	3.5
	9.3	7.3	3.3	2.1	2.4	Minyak jahe merah dosis 100 mg/kgBB	5.3	6.7	8.0	7.1
	5.1	6.1	4.9	3.0	2.9		4.2	5.3	8.0	7.2
	7.1	3.6	3.4	3.7	4.8		6.6	6.5	6.8	6.3
	7.3	3.7	3.0	3.5	2.8		2.9	4.4	4.4	5.9
	7.1	3.5	3.1	3.5	4.6		5.0	5.9	8.1	10.2
	8.1	8.1	7.1	5.6	5.2	Minyak jahe merah dosis 200 mg/kgBB	5.3	6.8	8.3	12.6
	11.6	7.5	4	3.2	2.9		7.0	6.8	9.0	6.3
	9.3	5.1	5.4	3.9	4.6		4.5	6.4	7.0	6.3
	6.4	4.9	4.4	3.3	2.8		3.8	5.0	6.8	7.3
	6.7	3.3	3.0	2.9	3.2		4.2	4.9	6.1	9.4
	6.6	8.8	6.0	4.7	3.5	Minyak jahe merah dosis 400 mg/kgBB	4.2	4.2	5.7	6.9
	6.3	7.9	4.9	3.4	2.5		2.7	5.6	8.0	6.8
	7.2	2.7	3.8	3.8	3.7		4.0	5.0	6.8	6.9
9.6	4.2	3.7	4.0	4.8	4.9		6.3	9.9	10.2	
7.6	4.4	3.6	3.2	3.2	3.9		7.3	6.0	6.2	

E. Hasil rata-rata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-0 sampai hari ke-14

E.1 Rata-rata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-0 sampai hari ke-7

Report

kelompok		Hari0	Hari1	Hari3	Hari5	Hari7
sham	Mean	9.200	8.000	8.560	8.120	7.360
	Std. Error of Mean	.9165	1.0803	1.0819	.9173	.8201
psnl	Mean	7.765	5.110	4.120	3.525	3.660
	Std. Error of Mean	.3398	.4227	.2430	.1578	.1998

E.2 Rata-rata waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada hari ke-8 sampai hari ke-14

Report

kelompok		hari8	hari10	hari12	hari14
sham	Mean	9.160	9.440	9.840	10.560
	Std. Error of Mean	.6071	.9081	.7298	.2522
kneg	Mean	4.960	3.800	3.120	3.000
	Std. Error of Mean	.3010	.2236	.3652	.1703
100	Mean	4.800	5.760	7.060	7.340
	Std. Error of Mean	.6124	.4190	.7068	.7554
200	Mean	4.960	5.980	7.440	8.380
	Std. Error of Mean	.5662	.4271	.5278	1.1972
400	Mean	3.940	5.680	7.280	7.400
	Std. Error of Mean	.3558	.5324	.7664	.7120
Total	Mean	5.564	6.132	6.948	7.336
	Std. Error of Mean	.4282	.4360	.5124	.5824

F. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan *independent t-test*

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
								95% Confidence Interval of the Difference		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Hari0	Equal variances assumed	1.757	.198	1.767	23	.090	1.4350	.8120	-.2448	3.1148
	Equal variances not assumed			1.468	5.154	.200	1.4350	.9775	-1.0552	3.9252
Hari7	Equal variances assumed	6.736	.016	6.634	23	.000	3.7000	.5578	2.5462	4.8538
	Equal variances not assumed			4.383	4.486	.009	3.7000	.8441	1.4531	5.9469

G. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan *dependent t-test*

G.1 Hasil uji analisis *dependent t-test* waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas kelompok *sham*

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 baseline	9.200	5	2.0494	.9165
hari7	7.360	5	1.8338	.8201

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	baseline - hari7	1.8400	2.0744	.9277	-.7357	4.4157	1.983	4	.118

G.2 Hasil uji analisis *dependent t-test* waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas kelompok PSNL

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	baseline	7.530	20	1.2312	.2753
	hari7	3.650	20	.9035	.2020

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	baseline - hari7	3.8800	1.3281	.2970	3.2584	4.5016	13.065	19	.000

H. Hasil uji analisis waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas menggunakan *Two Way ANOVA*

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
perlakuan	1.0 kneg	20
	2.0 dosis 100	20
	3.0 dosis 200	20
	4.0 dosis 400	20
hari	1.0 hari 8	20
	2.0 hari 10	20
	3.0 hari 12	20
	4.0 hari 14	20

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:lattime

F	df1	df2	Sig.
1.884	15	64	.052

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + perlakuan + hari + perlakuan * hari

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:lattime

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	213.858 ^a	15	14.257	8.085	.000	.655
Intercept	2582.128	1	2582.128	1464.206	.000	.958
perlakuan	106.626	3	35.542	20.154	.000	.486
hari	43.807	3	14.602	8.280	.000	.280
perlakuan * hari	63.424	9	7.047	3.996	.000	.360
Error	112.864	64	1.763			
Total	2908.850	80				
Corrected Total	326.722	79				

a. R Squared = ,655 (Adjusted R Squared = ,574)

Post Hoc Tests

perlakuan

Multiple Comparisons

lattice

Tukey HSD

(I) perlakuan (J) perlakuan		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kneg	dosis 100	-2.520 [*]	.4199	.000	-3.628	-1.412
	dosis 200	-2.970 [*]	.4199	.000	-4.078	-1.862
	dosis 400	-2.355 [*]	.4199	.000	-3.463	-1.247
dosis 100	kneg	2.520 [*]	.4199	.000	1.412	3.628
	dosis 200	-.450	.4199	.708	-1.558	.658
	dosis 400	.165	.4199	.979	-.943	1.273
dosis 200	kneg	2.970 [*]	.4199	.000	1.862	4.078
	dosis 100	.450	.4199	.708	-.658	1.558
	dosis 400	.615	.4199	.465	-.493	1.723
dosis 400	kneg	2.355 [*]	.4199	.000	1.247	3.463
	dosis 100	-.165	.4199	.979	-1.273	.943
	dosis 200	-.615	.4199	.465	-1.723	.493

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,764.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Post Hoc Tests

hari

Multiple Comparisons

lattice

Tukey HSD

(I) hari	(J) hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
hari 8	hari 10	-.640	.4199	.429	-1.748	.468
	hari 12	-1.560*	.4199	.002	-2.668	-.452
	hari 14	-1.865*	.4199	.000	-2.973	-.757
hari 10	hari 8	.640	.4199	.429	-.468	1.748
	hari 12	-.920	.4199	.137	-2.028	.188
	hari 14	-1.225*	.4199	.025	-2.333	-.117
hari 12	hari 8	1.560*	.4199	.002	.452	2.668
	hari 10	.920	.4199	.137	-.188	2.028
	hari 14	-.305	.4199	.886	-1.413	.803
hari 14	hari 8	1.865*	.4199	.000	.757	2.973
	hari 10	1.225*	.4199	.025	.117	2.333
	hari 12	.305	.4199	.886	-.803	1.413

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,764.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

I. Dokumentasi



(a)



(b)



(c)



(d)

(a) Rimpang jahe merah; (b) Irisan jahe merah; (c) Alat destilasi; (d) Minyak jahe merah

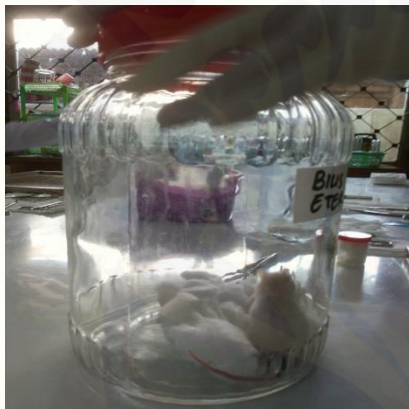
Gambar 1. Proses hidrodestilasi stahl minyak jahe merah



Gambar 2. Uji berat jenis minyak jahe merah



Gambar 3. Pembuatan emulsi minyak jahe merah



(a)



(b)



(c)



(d)

(a) Anastesi gewan coba; (b) Induksi PSNL; (c) Pengamatan waktu latensi; (d) Pemberian emulsi minyak jahe merah / tween secara oral

Gambar 4. Perlakuan pada hewan coba

J. Hasil identifikasi tanaman



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
 Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. 1457 /IPH.6/HM/X/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Afifah, NIM : 122210101077

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 16 Oktober 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume III, tahun 1968, halaman 44,46 dan buku PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 13; Spices, editor C.C.de Guzman dan J.S. Siemonsma, tahun 1999, halaman 238, nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Zingiber*
 Species : *Zingiber officinale* Roscoe

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Liliopsida*
 Subclass : *Zingiberidae*
 Ordo : *Zingiberales*
 Family : *Zingiberaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 23 Oktober 2015
 An.Kepala
 Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si