



**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID  
&ALKALOID SERTA UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK  
ETANOLIK TEPUNG OTOT (*Stellaria vestita* Kurz)**

**SKRIPSI**

Oleh

**EVA WULANDARI**

**142210101063**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID &  
ALKALOID SERTA UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK  
ETANOLIK TEPUNG OTOT (*Stellaria vestita* Kurz)**

**PROPOSAL SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**EVA WULANDARI**

**142210101063**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

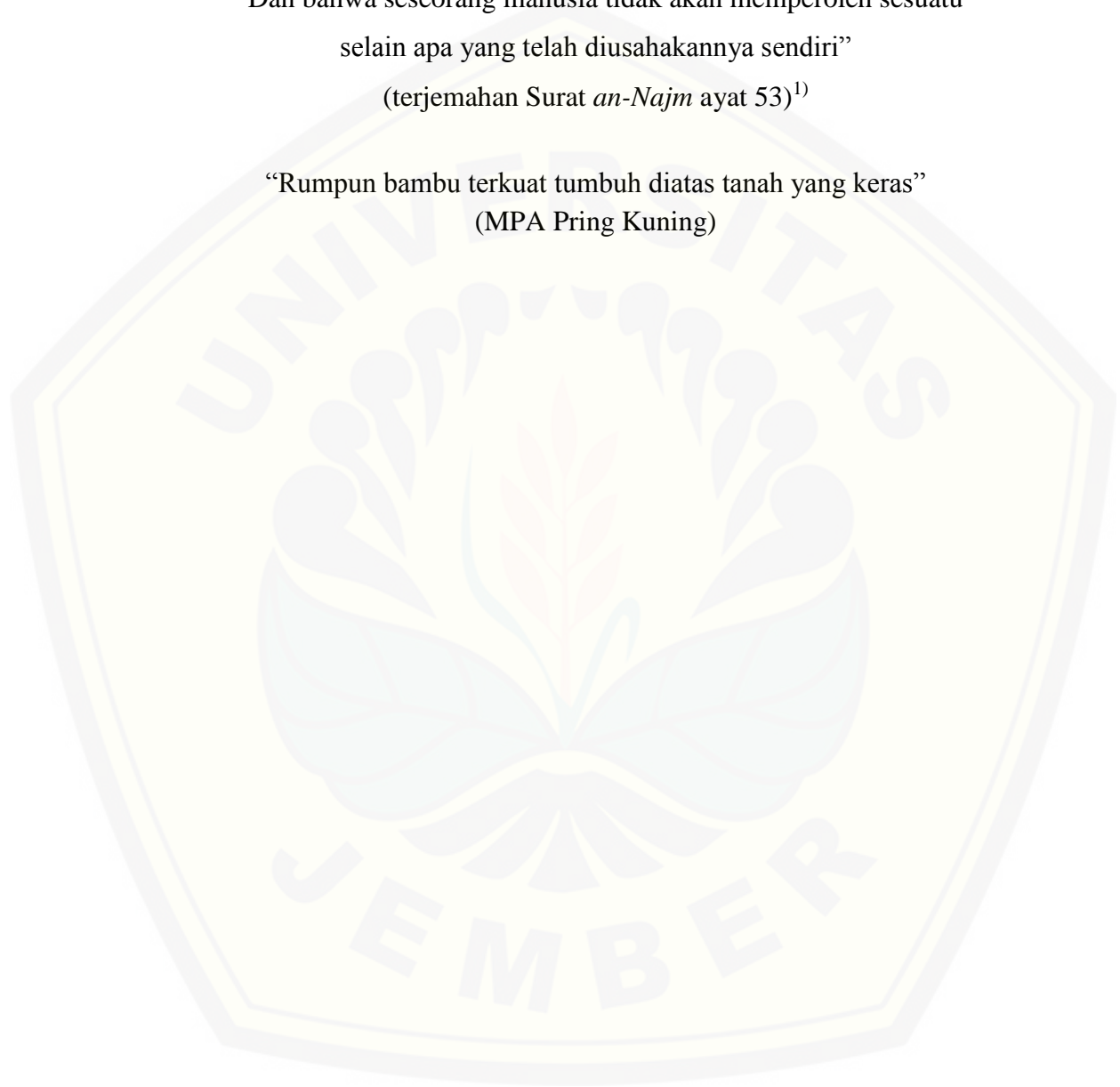
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT karena atas rahmat, hidayah dan anugerahNya sehingga diberi kelancaran dalam penyusunan skripsi ini;
2. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa, motivasi, kasih sayang dan semua hal yang takkan pernah terbalaskan;
3. Kakak-adik dan seluruh keluarga besar, terimakasih atas motivasi dan dukungan untuk mencapai jenjang pendidikan yang lebih tinggi;
4. Guru-guru saya mulai dari Taman Kanak-kanak (TK) hingga Sekolah Menengah Atas (SMA), dosen, laboran, dan segenap civitas akademika yang mendidik saya menjadi orang yang berilmu dan bertaqwa;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**HALAMAN MOTO**

“ Dan bahwa seseorang manusia tidak akan memperoleh sesuatu  
selain apa yang telah diusahakannya sendiri”  
(terjemahan Surat *an-Najm* ayat 53)<sup>1)</sup>

“Rumpun bambu terkuat tumbuh diatas tanah yang keras”  
(MPA Pring Kuning)



---

<sup>1)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

**HALAMAN PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Eva Wulandari

NIM : 142210101063

meyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria vestita* Kurz)” adalah karya saya sendiri, kecuali substansi yang telah saya sebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan atau paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,  
Yang menyatakan,

(Eva Wulandari)  
NIM 142210101063

**SKRIPSI**

**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID &  
ALKALOID SERTA UJI AKTIVITAS ANALGESIK EKSTRAK  
ETANOLIK TEPUNG OTOT (*Stellaria vestita* Kurz)**

Oleh

Eva Wulandari

NIM 142210101063

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria vestita* Kurz)” telah diuji dan disahkan pada:

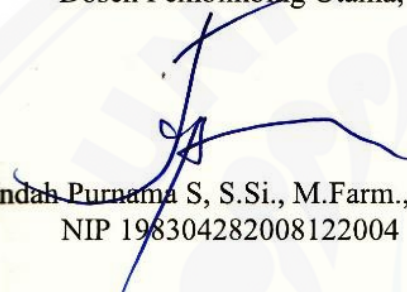
hari, tanggal : Jum’at, 14 September 2018

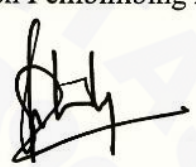
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing;**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,


  
Indah Purnama S, S.Si., M.Farm., Apt.  
NIP 198304282008122004


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

**Tim Penguji;**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

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

  
Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP 198407122008122022

Mengesahkan

Dekan,



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

## RINGKASAN

**Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria vestita* Kurz);** Eva Wulandari, 142210101063; 2018: 95 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

*International Association for the Study of Pain* (IASP) tahun 2017 mendefinisikan nyeri sebagai pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan terkait dengan kerusakan jaringan aktual dan potensial. Nyeri nosiseptif (akut) merupakan respon fisiologis normal yang disebabkan karena kerusakan aktual pada jaringan yang menyebabkan aktivasi nosiseptor (McCormick dan Law, 2016). Rasa nyeri tersebut dapat diatasi dengan menggunakan obat analgesik. Analgesik untuk mengurangi atau menekan rasa sakit tidak hanya berasal dari bahan kimia, namun juga dapat menggunakan tumbuhan obat. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk tumbuhan obat adalah tumbuhan tepung otot (*Stellaria vestita* Kurz) dari family Caryophyllaceae. Tepung otot merupakan tumbuhan yang hanya terdapat di Gunung Tengger-Semeru (Steenis, 2010) dan oleh masyarakat Suku Tengger digunakan untuk mengobati nyeri akibat keseleo atau pegal-pegal setelah bekerja. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa, kadar fenol total, flavonoid, dan alkaloid serta untuk mengetahui aktivitas analgesik ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot pada mencit yang diinduksi asam asetat 0,6%.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa ekstrak etanol 96% tepung otot. Kemudian dilakukan penetapan kadar fenol total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* pada panjang gelombang 765 nm, flavonoid menggunakan metode  $AlCl_3$  pada panjang gelombang 428 nm, dan alkaloid menggunakan metode *bromocresol green* pada panjang gelombang 352 nm. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas analgesik menggunakan hewan coba mencit jantan sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (-) dengan CMC-Na, kontrol positif (+) dengan asetosal 65 mg/kg BB, kelompok ekstrak etanol tumbuhan tepung otot dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB. Pada pengujian aktivitas analgesik mencit diberi perlakuan terlebih dahulu 30 menit sebelum induksi asam asetat. Setelah diinduksi, dihitung jumlah geliat mencit setiap 5 menit selama 30 menit. Data jumlah geliat masing-masing kelompok yang diperoleh dihitung % daya analgesik, % efektivitas analgesik kemudian dianalisis menggunakan uji analisis varians (ANOVA) satu arah.

Hasil skrining fitokimia golongan senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida saponin, triterpenoid, steroid, dan polifenol. Pada penelitian ini diperoleh hasil penetapan kadar fenol total yaitu sebesar  $4,936 \pm 0,200$  mg GAE/g



ekstrak, hasil penetapan kadar flavonoid yaitu  $10,168 \pm 1,358$  mg QE/g ekstrak dan hasil penetapan kadar alkaloid yaitu sebesar  $1,364 \pm 0,021$  mg BE/g ekstrak. Hasil uji aktivitas analgesik menunjukkan bahwa ekstrak tepung otot dosis 100 mg/kg BB tidak memiliki aktivitas analgesik sedangkan ekstrak tepung otot dosis 200 dan 400 mg/kg BB memiliki aktivitas analgesik. Dosis terbaik yang dapat digunakan sebagai alternatif analgesik yaitu ekstrak tepung otot dosis 400 mg/kg BB. Hasil uji statistik dosis 400 mg/kg BB dan kontrol positif menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan, hal ini berarti ekstrak tepung otot dosis 400 mg/kg BB dapat menurunkan jumlah geliat mencit yang setara dengan kontrol positif (asetosal 65 mg/kg BB).



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria vestita* Kurz)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih terutama kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M. Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Ema Rachmawati., S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi kepada penulis selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Ibu Indah Purnama S, S. Si., M. Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Fransiska Maria C, M. Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran serta tenaganya dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Ibu Diana Holida, S.F.,M.Farm., Apt. Dan Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,M,Farm.,Apt. Selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritikan, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Segenap dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis selama melaksanakan pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

7. Ibu Wayan , Mbak Hani, Mbak Indri, Mbak Dinik, Mbak Parka dan Ibu Widi selaku teknisi di Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu selama penelitian ini;
8. Ayah Hadri dan Ibu Haniya tercinta, Mbak Nita, Adek Pian, Adek Nabil dan seluruh keluarga besar penulis, terimakasih atas doa, dukungan, motivasi, dan kasih sayang yang tidak ada hentinya selama ini;
9. Teman dekat penulis MKR (Coro) yang setia mendoakan, mendukung dan membantu penulis mulai awal hingga terselesaikannya penyusunan dan penelitian ini;
10. Sahabatku Triowekwek (Tias Zunia Nurlaily dan Fariqotul Ulum) yang telah memberikan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini;
11. Konco Keplek (Mila Nur Azizah dan Mas'uliyatul Hukmiyah) yang menemani serta memberi keceriaan selama penyusunan dan penelitian ini;
12. Keluarga besar PHARMAGEN angkatan 2014 atas kerjasama yang terbaik selama ini;
13. Keluarga besar UKM PRING KUNING terutama angkatan VIII (Gibas, Weteng, Centang, Walet, Kapet, Brodol) atas semua persaudaraan, pengalaman, ilmu dan dukungan kepada penulis;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga menerima saran dan kritik yang membangun dari semua pihak guna kesempurnaan skripsi ini. Selain itu, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat untuk semuanya.

Jember,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMANSAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Pendahuluan</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Deskripsi Tumbuhan Tepung Otot</b> .....	6
2.1.1 Klasifikasi Tepung Otot .....	6
2.1.2 Morfologi Tepung Otot .....	6
2.1.3 Khasiat Tepung Otot .....	7
<b>2.2 Metode Ekstraksi Simplisia</b> .....	7
<b>2.3 Penapisan Fitokimia (Skrining Fitokimia)</b> .....	8
2.3.1 Flavonoid.....	9

2.3.2 Alkaloid.....	9
2.3.3 Tanin/Polifenol.....	10
2.3.4 Saponin, Triterpenoid Atau Steroid.....	10
<b>2.4 Penetapan Kadar .....</b>	<b>11</b>
2.4.1 Penetapan Kadar Fenol Total .....	11
2.4.2 Penetapan Kadar Flavonoid.....	12
2.4.3 Penetapan Kadar Alkaloid.....	12
<b>2.5 Patofisiologi Nyeri.....</b>	<b>13</b>
2.5.1 Nyeri Nosisseptif .....	16
2.5.2 Nyeri Neuropatik.....	17
<b>2.6 Deskripsi Analgesik .....</b>	<b>18</b>
2.6.1 Analgesik Opioid.....	18
2.6.2 NSAIDs (Non-Steroid Antiinflammation Drug).....	19
2.6.3 Asetosal .....	21
<b>2.7 Metode Pengujian Analgesik .....</b>	<b>22</b>
2.7.1 Metode Pengujian Secara Kimia .....	23
2.7.2 Tinjauan Tentang Asam Asetat .....	23
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Alat dan bahan penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Alat Penelitiian .....	24
3.3.2 Bahan Penelitian.....	24
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Variabel Bebas .....	25
3.4.2 Variabel Terikat.....	25
3.4.3 Variabel Terkendali.....	25
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>26</b>

<b>3.6 Rancangan Penelitian</b> .....	26
<b>3.7 Deskripsi Hewan Penelitian</b> .....	27
3.7.1 Jumlah Hewan Penelitian .....	27
3.7.2 Kriteria Hewan Penelitian .....	27
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	28
3.8.1 Identifikasi Tumbuhan .....	28
3.8.2 Pembuatan Simplisia .....	28
3.8.3 Pembuatan Ekstrak Tumbuhan Tepung Otot .....	28
3.8.4 Penapisan Fitokimia .....	29
3.8.5 Penetapan Kadar Fenol Total .....	31
3.8.6 Penetapan Kadar Flavonoid.....	33
3.8.7 Penetapan Kadar Alkaloid.....	34
3.8.8 Uji Aktivitas Analgesik .....	36
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	38
<b>3.10 Skema Kerja Penelitian</b> .....	39
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	40
<b>4.1 Hasil</b> .....	40
4.1.1. Determinasi Tumbuhan Tepung Otot.....	40
4.1.2 Pembuatan Ekstrak Tumbuhan Tepung Otot .....	40
4.1.3 Skrining Fitokimia.....	40
4.1.4 Penetapan Kadar Fenol Total .....	41
4.1.5 Penetapan Kadar Flavonoid.....	42
4.1.6 Penetapan Kadar Alkaloid.....	43
4.1.7 Pengujian Aktivitas Analgesik secara Kimia .....	44
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	46
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	51
<b>LAMPIRAN</b> .....	61

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Warna noda dan panjang gelombang (nm) senyawa golongan flavonoid.....	9
4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% tepung otot ( <i>S. vestita</i> ) .....	41
4.2 Data kadar fenol total ekstrak etanol 96% tepung otot ( <i>S. vestita</i> ).....	42
4.3 Data kadar flavonoid ekstrak etanol 96% tepung otot ( <i>S. vestita</i> ).....	43
4.4 Data kadar alkaloid ekstrak etanol 96% tepung otot ( <i>S. vestita</i> ) .....	43
4.5 Jumlah geliat, % daya analgesik dan % efektivitas analgesik.....	45

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tumbuhan tepung otot ( <i>Stellaria vestita</i> ).....	6
2.2 Reaksi pembentukan kompleks antara pereaksi <i>Folin-ciocalteu</i> dan senyawa fenol.....	11
2.3 Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dan $AlCl_3$ .....	12
2.4 Reaksi pembentukan kompleks antara alkaloid dan BCG ( <i>bromocresol green</i> ) .....	13
2.5 Empat fase terbentuknya nyeri yaitu transduksi, transmisi, modulasi dan persepsi .....	15
2.6 Obat analgesik antiinflamsi non steroid (obat AINS).....	19
2.7 Biosintesis prostaglandin .....	21
2.8 Struktur asetosal.....	22
3.1 Rancangan skematis penelitian uji analgesik .....	26
3.2 Skema kerja penelitian.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
9.1 Hasil determinasi tumbuhan tepung otot ( <i>stellaria vestita</i> ).....	61
2.1 Hasil skrining fitokimia tanin .....	62
2.2 Hasil skrining fitokimia dengan penegasan klt.....	62
3.1 Perhitungan rendemen ekstrak etanol tepung otot.....	64
3.2 Perhitungan dalam pengujian fenol total ekstrak etanol tepung otot.....	64
3.3 Perhitungan dalam pengujian flavonoid ekstrak etanol tepung otot.....	67
3.4 Perhitungan dalam pengujian alkaloid ekstrak etanol tepung otot .....	69
3.5 Perhitungan dosis .....	72
4.1 Hasil scanning panjang gelombang maksimum.....	75
5.1 Hasil optimasi waktu inkubasi standar asam galat .....	83
5.2 Hasil optimasi waktu inkubasi sampel uji fenol total .....	84
5.3 Hasil optimasi waktu inkubasi standar kuersetin.....	84
5.4 Hasil optimasi waktu inkubasi sampel uji flavonoid .....	85
6.1 Hasil analisis larutan standar asam galat .....	87
6.2 Hasil analisis larutan sampel uji fenol total .....	87
7.1 Hasil analisis larutan standar kuersetin.....	88
7.2 Hasil analisis larutan sampel uji flavonoid .....	88
8.1 Hasil analisis larutan standar berberin .....	89
8.2 Hasil analisis larutan sampel uji alkaloid.....	89
9.1 Hasil pengamatan geliat mencit .....	90
9.2 Perhitungan % daya analgesik .....	91
9.3 Perhitungan %efektivitas analgesik .....	92
10.1 Hasil analisis statistik jumlah geliat mencit.....	93
11.1 Dokumentasi penelitian .....	95

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Manusia dituntut untuk berusaha dan bekerja dengan maksud memperoleh pendapatan atau keuntungan untuk memenuhi kebutuhan hidupnya, dan hampir sebagian besar dari mereka menghabiskan waktunya di tempat kerja. Pekerjaan, alat kerja, bahan, proses maupun lingkungan kerja merupakan beberapa faktor risiko yang menyebabkan gangguan kesehatan. Risiko-risiko tersebut dapat menimbulkan berbagai penyakit pada pekerjaannya yang lebih dikenal dengan istilah Penyakit Akibat Kerja (PAK). Menurut OSHA (2017), salah satu penyakit akibat kerja yang biasanya terjadi di lingkungan kerja adalah keluhan gangguan otot rangka (*musculo skeletal diseases*). Hal ini diperkuat dengan data Kementerian Kesehatan (2016) yaitu di Indonesia sebanyak 9.482 pekerja di 12 Kabupaten/Kota dari 10 Provinsi yang disurvei, terdapat 40,5% pekerja mempunyai keluhan kesehatan, dimana 16% diantaranya adalah keluhan gangguan otot rangka (Kemenkes, 2015). Selain itu berdasarkan data badan pusat statistik nasional (2018) penyakit di rumah sakit yang menempati urutan pertama diderita oleh pasien umur 45-54 tahun 2016 adalah penyakit gangguan otot rangka (*musculoskeletal diseases*) sebanyak 11.048 pasien.

Gangguan otot rangka merupakan gangguan yang dapat menyebabkan turunnya kualitas hidup dan terganggunya fungsi umum tubuh. Gangguan ini merupakan salah satu faktor ketidakhadiran dari pekerjaan yang disebabkan karena kondisi nyeri. Nyeri dari sistem otot rangka dapat mempengaruhi sebagian besar orang selama hidupnya (Alricsson, 2012). *International Association for the Study of Pain* (IASP) (2017) mendefinisikan nyeri sebagai pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan terkait dengan kerusakan jaringan aktual dan potensial. Rasa nyeri tersebut dapat diatasi dengan menggunakan obat analgesik. Analgesik merupakan zat yang dapat menghilangkan rasa sakit tanpa menghilangkan kesadaran (Kumar dkk., 2010). Obat analgesik bekerja dengan cara menghambat

enzim yang berperan dalam sintesis prostaglandin. Prostaglandin merupakan mediator inflamasi yang dapat menyebabkan hiperalgesia karena kepekaan nosiseptor terhadap mediator tersebut (Amaya, 2013). Analgesik untuk mengurangi atau menekan rasa sakit tidak hanya berasal dari bahan kimia saja, namun juga dapat menggunakan tumbuhan obat.

Tumbuhan obat merupakan bahan obat alam yang melimpah dibandingkan hewan dan mineral sehingga sebutan obat tradisional hampir identik dengan tumbuhan obat (Katno dan Pramono, 2008). Berdasarkan data riset kesehatan dasar tahun 2013, jumlah rumah tangga di Indonesia yang memanfaatkan ramuan sebagai pelayanan kesehatan tradisional menempati urutan kedua setelah pelayanan keterampilan tanpa alat yaitu sebesar 30,4%. Alasan penggunaan ramuan oleh rumah tangga umumnya untuk menjaga kesehatan dan kebugaran. Kepercayaan masyarakat menggunakan ramuan untuk menjaga kesehatan dan kebugaran dapat mendorong untuk mengembangkan obat tradisional salah satunya yang memiliki khasiat sebagai pereda nyeri.

Salah satu tumbuhan yang telah dibuktikan memiliki aktivitas analgesik yaitu pada family Caryophyllaceae dari genus *Stellaria*. Pada penelitian Rogowska dkk, (2017) ditunjukkan bahwa ekstrak etanol tumbuhan *S. media* memiliki kandungan kimia yaitu flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Selain *S. media*, tumbuhan yang juga memiliki aktivitas antiinflamasi yaitu *S. dichotoma*. Berdasarkan penelitian Chen dkk, (2010) pada ekstrak metanol akar *S. dichotoma* memiliki kandungan kimia yaitu  $\beta$ -carboline alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi ini juga berperan dalam mengurangi atau menurunkan intensitas nyeri (Dahl dan Kehlet, 1991). Selain itu juga diperkuat dengan penelitian Oyebanji dkk. (2011) yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun segar *S. media* memiliki kandungan kimia yaitu alkaloid yang memiliki aktivitas analgesik. Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan tersebut memiliki aktivitas sebagai antinyeri.

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang terlibat dalam pertahanan tumbuhan terhadap lingkungan namun bukan bagian jalur biokimia primer reproduksi dan pertumbuhan sel (Makkar dkk., 2007). Metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas analgesik adalah flavonoid dan alkaloid. Flavonoid memberikan aktivitas analgesik dengan menghambat situs aktif peroksidase COX-1, COX-2 dan 5-lipooksigenase sehingga menghambat prostanoide dan produksi leukotrien (Verri dkk., 2012). Alkaloid memberikan aktivitas analgesik dengan menghambat pelepasan PGE2 dan mengurangi permeabilitas pembuluh vena (Souto dkk., 2011).

Salah satu tumbuhan genus *Stellaria* yang ada di Pulau Jawa adalah *S. vestita*. *S. vestita* merupakan tumbuhan yang hanya terdapat di Gunung Tengger-Semeru (Steenis, 2010) dan oleh masyarakat Suku Tengger dikenal sebagai tepung otot. Tumbuhan *S. vestita* secara empiris digunakan masyarakat Suku Tengger untuk mengobati nyeri akibat keseleo atau pegal-pegal setelah bekerja. *S. vestita* memiliki hubungan kekerabatan dengan *S. media* dan *S. dicotoma*, namun belum ditemukan data penelitian mengenai uji aktivitas analgesik dari *S. vestita*. Berdasarkan prinsip kemotaksonomi pada genus yang sama kemungkinan *S. vestita* memiliki kandungan kimia yang sama.

Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas analgesik pada tumbuhan *S. vestita*. Penelitian ini diawali dengan melakukan penapisan fitokimia ekstrak etanol *S. vestita* untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan tersebut. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar fenol total, flavonoid, dan alkaloid serta dilakukan uji aktivitas analgesik ekstrak etanolik *S. vestita* menggunakan metode *Sigmund* (diinduksi menggunakan kimia).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

- a. Apa saja golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*)?
- b. Berapa kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*)?
- c. Bagaimana perbedaan aktivitas analgesik ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*) pada dosis 100 mg/kgBB, 200mg/kgBB dan 400 mg/kgBB terhadap mencit yang diinduksi asam asetat?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan antara lain:

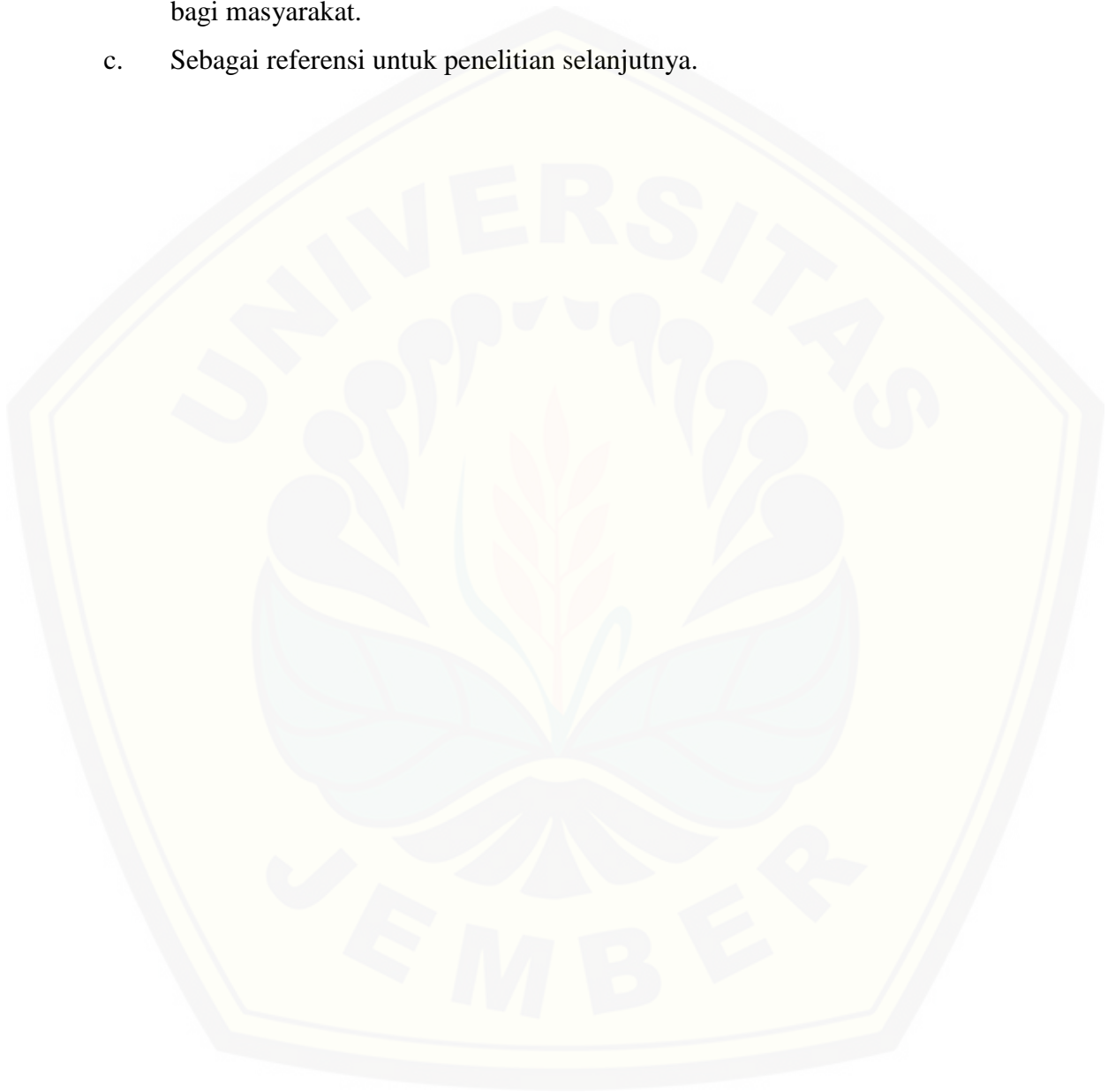
- a. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*).
- b. Untuk mengetahui kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*).
- c. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas analgesik ekstrak etanolik tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) pada dosis 100 mg/kgBB, 200mg/kgBB dan 400 mg/kgBB terhadap mencit yang diinduksi asam asetat.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai, manfaat dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

- a. Memberikan informasi tentang efek analgesik ekstrak etanolik tepung otot (*S. vestita*) terhadap mencit yang diinduksi asam asetat.

- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi untuk pengembangan tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) sebagai aktivitas analgesik bagi masyarakat.
- c. Sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Tumbuhan Tepung Otot

Tinjauan mengenai tumbuhan ini meliputi klasifikasi tepung otot, morfologi, khasiat dan kandungan kimia yang dijelaskan sebagai berikut:

#### 2.1.1 Klasifikasi Tepung Otot

Klasifikasi tumbuhan tepung otot adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheophyta
Filum	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Caryophyllaceae
Genus	: <i>Stellaria</i>
Spesies	: <i>Stellaria vestita</i> Kurz

(iNaturalist, 2017)

#### 2.1.2 Morfologi Tepung Otot



Gambar 2.1 Tumbuhan Tepung Otot (*Stellaria vestita*) (sumber: iNaturalis, 2017)

Tepung otot (*S. vestita*) merupakan tumbuhan terna bertahunan yang merayap, menggantung atau bersandar dengan panjang 0,5-2 m. Tumbuhan ini berbentuk malang-melintang (tidak beraturan) dengan batang persegi empat dan bercabang-cabang. Tepung otot (*S. vestita*) memiliki bentuk perbungaan yang renggang (tidak rapat) dan berbulu membintang dengan kelopak yang tidak berkelenjar. Secara makroskopis tumbuhan ini memiliki daun berwarna kelabu hijau ketika masih muda. Helai daun mahkota membelah dua dalam sekali dengan panjang 6-8 mm dan memiliki 10 benang sari. Batang tua tepung otot (*S. vestita*) yang dikeringkan yaitu jaringan luar batang yang berwarna kekuning-kuningan seperti jerami dan mengkilat akan memisahkan diri dari jaringan inti yang kuat membentuk fragmen seperti tabung (Steenis, 2010).

### 2.1.3 Khasiat Tepung Otot

Tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) secara empiris digunakan untuk meredakan nyeri tulang, batuk, perdarahan, reumatik dan luka (Chandra dan Rawat, 2015). Berdasarkan hasil interview kepada masyarakat Suku Tengger Desa Wonokerso, tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) digunakan untuk mengobati nyeri akibat keseleo atau pegal-pegal setelah bekerja.

## 2.2 Metode Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi adalah pemisahan senyawa aktif menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar (Kostova dkk., 2010). Tujuan ekstraksi yaitu memisahkan metabolit tumbuhan yang dapat larut, meninggalkan bagian yang tidak larut (residu). Metabolit tumbuhan yang larut selanjutnya dilakukan penguapan sehingga diperoleh suatu ekstrak kental. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati, hewani, dengan cara yang cocok tanpa pengaruh cahaya matahari langsung (Kemenkes, 2011). Proses ekstraksi dapat dilakukan



dengan dua cara yaitu cara dingin dan cara panas. Pada penelitian ini menggunakan cara dingin yaitu maserasi.

Dalam metode maserasi, simplisia direndam dengan pelarut dan ditempatkan dalam wadah tertutup serta dibiarkan bertahan pada suhu kamar minimal 3 hari dengan pengadukan yang sering sampai zat yang terlarut tertarik semua. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan pelarut dapat disaring. Dalam metode konvensional ini, pemilihan pelarut akan menentukan jenis senyawa yang diekstraksi dari sampel (Kostova dkk, 2010). Prinsip dari metode maserasi yaitu cairan penyari menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam rongga sel sehingga mendesak zat aktif untuk keluar dari dalam sel. Zat aktif atau larutan yang pekat didesak keluar dari dalam karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Peristiwa tersebut terjadi secara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Sasidharan dkk., 2011). Pada penelitian ini dipilih metode ekstraksi remaserasi karena pengerjaannya mudah, alat yang digunakan sederhana, cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas, dan jumlah rendemen yang diperoleh banyak karena dilakukan remaserasi dengan pelarut baru. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 96% karena bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa polar seperti alkaloid dan flavonoid.

### **2.3 Penapisan Fitokimia**

Penapisan fitokimia merupakan metode untuk mengetahui kandungan senyawa/golongan senyawa dalam suatu tanaman atau ekstrak tanaman. Penapisan fitokimia merupakan metode yang sederhana, cepat dan selektif untuk mengidentifikasi golongan senyawa serta mengetahui keberadaan senyawa-senyawa aktif biologis yang terdistribusi dalam jaringan tanaman. Prinsip dalam melakukan penapisan fitokimia yaitu mula-mula dilakukan ekstraksi pada tanaman sehingga diperoleh suatu ekstrak. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diteliti golongan

kandungannya dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Prinsip deteksi masing-masing golongan adalah sebagai berikut.

### 2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder polifenol yang memiliki berat molekul rendah, mengandung gula dan gugus hidroksil yang menyebabkan larut dalam air serta golongan metil dan isopentil membuat flavonoid bersifat lipofilik sehingga cenderung bersifat polar (Samanta, 2011). Identifikasi golongan flavonoid menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)  $F_{254}$  dengan fase gerak butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5). Lempeng silika disemprot dengan penampak noda sitroborat atau uap amonia untuk mendeteksi adanya flavonoid. Flavonoid mengandung sistem konjugat aromatis sehingga menunjukkan noda absorbansi pada area UV dan visibel. Warna noda tanpa pereaksi dan dengan penampak noda uap amonia dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Harborne, 1984).

Tabel 2.1 Warna Noda dan Panjang Gelombang (nm) Senyawa Golongan Flavonoid  
(Sumber: Harborne, 1984)

Golongan Flavonoid	Visibel	Warna pada lampu UV	
		Tanpa Pereaksi	Dengan Amonia
Antosianin	Orange, merah, ungu muda	Orange pucat	Biru
Flavonol	Kuning pucat	Coklat tua	Kuning terang atau kuning kecoklatan
Kalkon	-	-	Merah gelap atau orange terang
Flavon	Kuning terang	Coklat gelap atau hitam	Coklat gelap atau hitam
Auron		Kuning terang atau kuning kehijauan	Orange terang atau merah

### 2.3.2 Alkaloid

Alkaloid mengandung atom nitrogen pada cincin heterosikliknya serta mengandung substituen seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar (Kaur dan Arora, 2015). Identifikasi golongan flavonoid

menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)  $F_{254}$  dengan fase gerak asetat-metanol-air (9:2:2). Lempeng silika disemprot dengan penampak noda dragendorf untuk mendeteksi adanya alkaloid. Setelah di semprot dengan pereaksi akan terjadi *coupling* antara pereaksi dragendorf (*potassium bismuth iodide*) dengan nitrogen yang terdapat pada alkaloid membentuk pasangan ion. Pereaksi akan membentuk kompleks berwarna orange-merah ketika bereaksi dengan alkaloid, meskipun beberapa warna juga telah diketahui seperti kuning/orange, merah/hitam, merah muda hingga ungu tergantung spesies dan genus (Katavic, 2015). Konfirmasi keberadaan dari alkaloid dapat diukur dengan lampu UV dengan rentang panjang gelombang 250-303 nm (harborne, 1984).

### 2.3.3 Tanin/Polifenol

Tanin merupakan senyawa golongan polifenol yang memiliki berat molekul relatif tinggi dan memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan karbohidrat dan protein. Identifikasi golongan tanin menggunakan uji gelatin sedangkan identifikasi polifenol menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)  $F_{254}$  dengan fase gerak kloroform-etil asetat (1:9). Pengujian tanin menggunakan uji gelatin akan menyebabkan protein pada gelatin mengendap atau membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air, serta penambahan NaCl dapat meningkatkan penggaraman dari tanin (Latanzio, 2013). Sedangkan pengujian polifenol dilakukan dengan penambahan  $FeCl_3$  10% dan diperkirakan akan menimbulkan warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan. Terbentuknya warna hitam kehijauan dikarenakan senyawa fenol yang terkandung membentuk senyawa kompleks dengan  $Fe^{3+}$  (Harborne, 1984).

### 2.3.4 Saponin, Triterpenoid atau Steroid

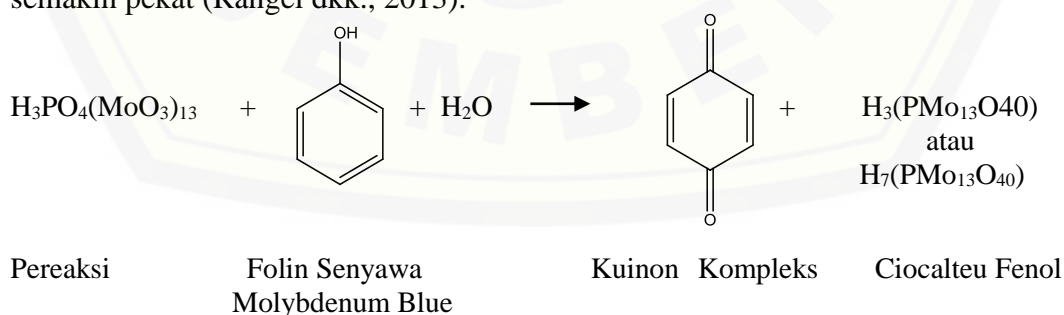
Identifikasi golongan ini menggunakan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)  $F_{254}$  dengan fase gerak heksana:etil asetat (4:1), sedangkan

penampak noda yang digunakan adalah pereaksi anisaldehyd asam sulfat dan antimon klorida. Lempeng KLT yang telah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat menunjukkan adanya noda berpendar berwarna merah ungu, sedangkan KLT yang telah disemprot dengan pereaksi antimon klorida menunjukkan adanya noda berpendar berwarna merah muda. Keduanya berpendar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Harborne, 1984).

## 2.4 Penetapan Kadar

### 2.4.1 Penetapan Kadar Fenol Total

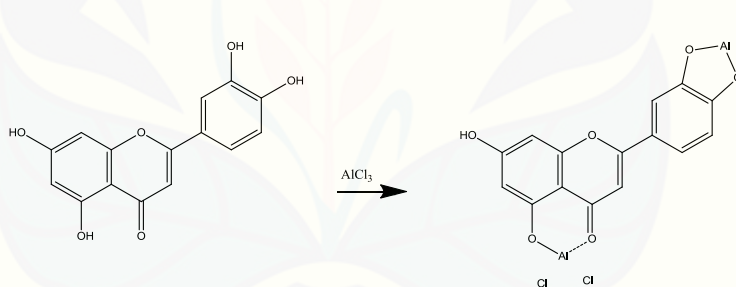
Penetapan kadar fenol total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Reaksi antara pereaksi *Folin-Ciocalteu* dengan senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.2. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin membentuk warna yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm (Ainsworth dan Gillespie, 2007). Senyawa fenolik yang terkandung akan bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Kondisi basa dapat diperoleh dengan menggunakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* akan bereaksi dengan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa fenolik dan membentuk kompleks molibdenum-tungsten warna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka warna biru akan semakin pekat (Rangel dkk., 2013).



Gambar 2.2 Reaksi Pembentukan Kompleks antara Pereaksi Folin-Ciocalteu dan Senyawa Fenol (Sumber: Stahl, 1985)

### 2.4.2 Penetapan Kadar Flavonoid

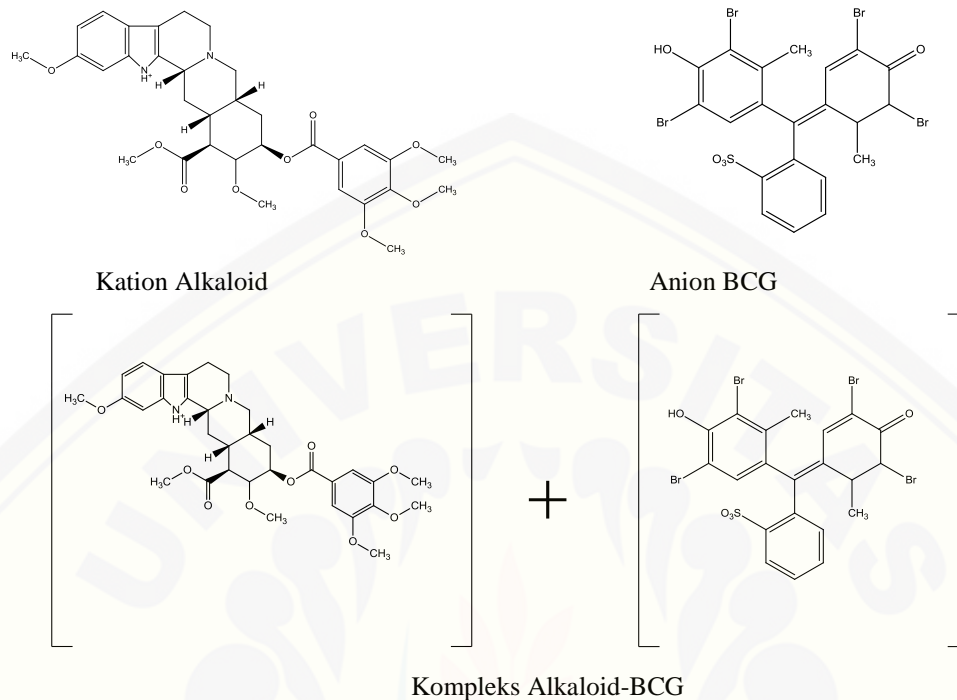
Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode  $\text{AlCl}_3$ , dimana prinsip dari metode ini adalah pembentukan kompleks warna dengan reagen anorganik yang ditambahkan (Pejic dkk., 2003). Reaksi pembentukan kompleks warna dapat dilihat pada Gambar 2.3. Pada saat penambahan aluminium klorida maka terjadi reaksi pembentukan kompleks pada C-4 gugus keto, C-3 atau C-4 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid. Senyawa kompleks yang terbentuk akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis. Selain  $\text{AlCl}_3$ , Reagen yang dapat digunakan untuk penetapan kadar flavonoid antara lain  $\text{SbCl}_3$  dan  $\text{ZrOCl}$  (Nikolovska C, 1996). Beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan kompleks flavonoid- $\text{AlCl}_3$  antara lain waktu reaksi, konsentrasi reagen ( $\text{AlCl}_3$  dan kandungan flavonoid/bahan tanaman), dan struktur kimia polifenol (Fernandes dkk, 2012).



Gambar 2.3 Reaksi Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dan  $\text{AlCl}_3$   
(Sumber: Chang, 2002)

### 2.4.3 Penetapan Kadar Alkaloid

Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode *bromocresol green* (BCG). Prinsip metode ini adalah reaksi pembentukan kompleks antara alkaloid dengan *bromocresol green* (BCG) sehingga membentuk senyawa berwarna kuning, yang dapat diekstraksi dengan kloroform pada pH 4,7 dan diukur pada panjang gelombang 415 nm (Patel dkk., 2015). Reaksi pembentukan kompleks dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi Pembentukan Kompleks antara Alkaloid dan BCG  
(Sumber: Patel dkk., 2015)

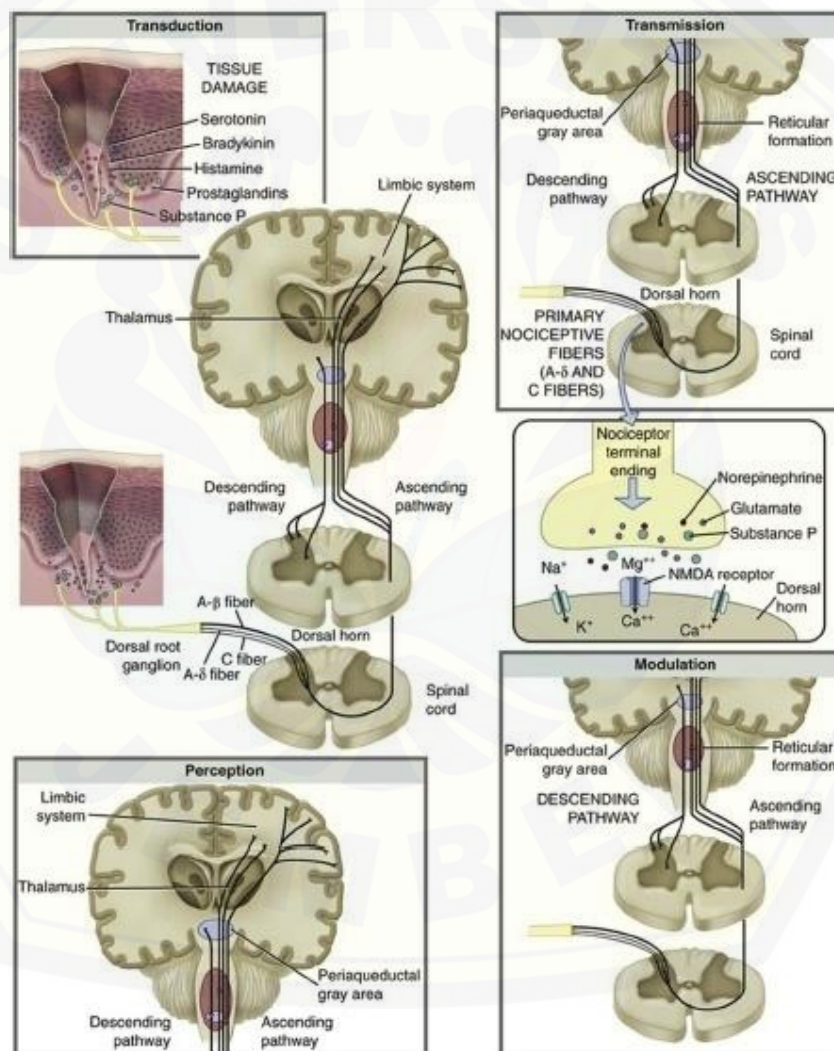
## 2.5 Patofisiologi Nyeri

*International Association for the Study of Pain (IASP)* (2017) mendefinisikan nyeri sebagai pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan terkait dengan kerusakan jaringan aktual dan potensial. Perasaan emosional yang tidak menyenangkan merupakan komponen nyeri berdasarkan kualitas sensorik yang terkait dengan kerusakan jaringan seperti kondisi sakit atau trauma fisik (Price, 2000). Nyeri merupakan pengalaman subjektif yang tidak dapat diukur dengan mudah (Steeds, 2016). Seseorang yang mengalami nyeri dapat berada dalam keadaan distress (sakit) akut yang nyata (nyeri trauma) atau tidak mengalami keluhan (kronis/menetap). Nyeri dapat digambarkan sebagai rasa tajam yang menusuk, pusing, panas seperti terbakar, menyengat, pedih, nyeri yang menghambat, rasa nyeri yang hilang dan timbul, serta dapat dirasakan pada tempat yang berbeda-beda (Sukandar dkk., 2008).

Tahap awal yang menyebabkan timbulnya rasa nyeri yaitu terjadi aktivasi pada ujung saraf bebas (nosiseptor). Nosiseptor merupakan neuron perifer yang peka terhadap noxious stimuli. Kecepatan transmisi dari nosiseptor tergantung dari diameter akson dan ada tidaknya selubung myelin. Nosiseptor yang menghantarkan transmisi secara lambat, berdiameter kecil dan tanpa myelin disebut C-fibers, sedangkan nosiseptor yang onset nyerinya cepat, berdiameter besar dan bermyelin disebut dengan A $\delta$ -fiber (Dubin dan Patapoutian, 2010). C-fiber merupakan reseptor yang sensitif terhadap suhu panas dan dingin yang ekstrim serta meneruskan nyeri melalui serabut tak bermyelin hingga menghantarkannya ke korda spinal. C-fiber akan berujung di *dorsal horn* pada korda spinal dan melepaskan asam amino eksitatorik glutamat, aspartat, substansi P, neurokinin A, galanin dan *calcitonin gene-related peptida* (CGRP) yang akan menghasilkan nyeri tumpul, panas dan menyebar (Ikawati, 2014). A $\delta$ -Fiber merupakan reseptor yang merespon jenis stimulus seperti rangsangan mekanik atau suhu panas dan suhu dingin yang membahayakan. Reseptor ini akan melepaskan asam amino yaitu glutamat yang dapat mengaktifkan reseptor AMPA di syaraf *dorsal horn* dan menghasilkan nyeri yang tajam dan menusuk (Milner dan Doherty, 2015).

Sel yang mengalami kerusakan akibat noxious stimuli akan mengalami empat fase yaitu transduksi, transmisi, persepsi, dan modulasi yang dapat dilihat pada Gambar 2.5. Pada fase transduksi akan terjadi pelepasan mediator inflamasi seperti bradikinin, prostaglandin, histamin, asetilkolin, serotonin, dan *substance P* yang dapat meningkatkan kepekaan dan atau aktivasi nosiseptor. Proses ini melibatkan pengubahan rangsangan kuat menjadi energi listrik di nosiseptor yang nantinya akan ditransmisikan sepanjang serabut saraf aferen ke korda spinal, batang otak, talamus dan kortek oleh C-fiber dan A $\delta$ -fiber (Vanderah, 2006). Selanjutnya mengalami fase transmisi yaitu potensial aksi berlanjut dari terminal perifer melewati sepanjang akson menuju terminal pusat di korda spinal. Konduksi merupakan transfer input sinap dari satu neuron ke neuron lainnya. Konduksi impuls nyeri berjalan sepanjang

C-fiber dan A $\delta$ -fiber hingga ke *dorsal horn* pada korda spinal. Selanjutnya impuls melewati garis tengah korda spinal dan naik ke otak melalui dua jalur spinothalamikus yang berbeda yaitu neospinothalamikus membawa impuls cepat untuk nyeri tajam akut dan paleospinothalamikus membawa impuls lambat untuk nyeri kronis. Kemudian impuls diproyeksikan ke korteks somatosensori untuk interpretasi dan ke area otak lainnya untuk menggabungkan respon nyeri (Ellison, 2017).



Gambar 2.5 Empat Fase Terbentuknya Nyeri yaitu Transduksi, Transmisi, Modulasi dan Persepsi (Sumber: Ellison, 2017)



Fase ketiga dalam proses nyeri yaitu modulasi. Tubuh memodulasi rasa nyeri melalui sejumlah proses yang kompleks. Pertama yang dikenal sebagai sistem opioid endogen yang terdiri dari neurotransmitter (misalnya, opioid endogen, serotonin, norepinefrin, asam  $\gamma$ -aminobutyric (GABA), dan neurotensin) dan reseptor (misalnya,  $\mu$ ,  $\delta$ , dan  $\kappa$ ) yang ditemukan di seluruh sistem saraf pusat (SSP). Opioid endogen terikat pada situs reseptor opioid dan memodulasi transmisi impuls nyeri yang menyebabkan peningkatan kepekaan terhadap sinyal nyeri. SSP memiliki sistem descending untuk mengontrol transmisi nyeri. Sistem ini dapat menghambat transmisi nyeri sinaptik *dorsal horn* (Babos dkk., 2013). Fase keempat yang terlibat dalam proses nyeri yaitu persepsi. Persepsi mengacu pada hasil interpretasi di otak yang memunculkan pengalaman sensorik tertentu atau kesadaran terhadap rasa sakit. Persepsi rasa sakit dipengaruhi berbagai faktor diantaranya riwayat penyakit, jenis kelamin dan aktivitas sehari-hari (Meeks dkk., 2015).

Berdasarkan patofisiologinya nyeri dibagi menjadi nyeri akut (nosiseptif) dan nyeri kronik (neuropatik).

### 2.5.1 Nyeri Nosiseptif

Nyeri nosiseptif (akut) merupakan respon fisiologis normal yang disebabkan karena kerusakan aktual pada jaringan yang menyebabkan aktivasi nosiseptor (McCormick dan Law, 2016). Nyeri nosiseptif memainkan peran penting ketika terjadi kerusakan di dalam tubuh. Jenis nyeri ini biasanya menyertai kondisi seperti cedera traumatis, pascaoperasi, kerusakan jaringan dan inflamasi (Anwar, 2016). Nyeri nosiseptif bersifat subyektif dan memerlukan diagnosa yang didasarkan atas gambaran dan riwayat penyakit yang diceritakan pasien. Nyeri ini seringkali akut, terlokalisasi, dapat digambarkan dengan jelas, dan dapat membaik dengan analgesik konvensional. Nyeri dapat menyebabkan hipertensi, takikardi, diaforesis, midriatik, pallor (pucat) namun gejala tersebut tidak dapat digunakan untuk memastikan diagnosa nyeri (Sukandar dkk, 2008).

Nyeri nosiseptif berdasarkan tempatnya dibagi menjadi nyeri viseral dan nyeri somatik. Nyeri viseral merupakan nyeri akibat aktivasi nosiseptor dari organ viseral seperti toraks, pelfik, dan abdomen. Nyeri viseral berasal dari distensi, peradangan atau iskemia (Kansal dan Hughes, 2016). Nyeri somatik merupakan nyeri yang berasal dari kulit, tulang, sendi, otot, atau jaringan ikat. Nyeri nosiseptif biasanya terjadi beberapa saat terjadinya lesi atau kerusakan jaringan dan berlangsung kurang dari 3-6 bulan (Montgomery dkk., 2017). Rasa nyeri pada nyeri akut akan timbul dalam waktu 0,1 detik setelah diberi rangsangan nyeri. Contoh nyeri akut antara lain tertusuk jarum, tersayat pisau atau kulit terbakar secara akut (Hartwig dan Wilson, 2006).

#### 2.5.2 Nyeri Neuropatik

Nyeri neuropatik (kronik) adalah nyeri yang disebabkan karena lesi atau penyakit sistem saraf somatosensori (McCormick dan Law, 2016). Nyeri neuropatik berlangsung lebih dari 6 bulan, patogenesisnya tidak jelas, dan lama pemulihannya tidak dapat diprediksi. Nyeri ini dapat bersifat nosiseptif, neuropatik, atau keduanya dan dapat disebabkan karena cedera, kondisi ganas, atau berbagai kondisi seperti arthritis, fibromyalgia, dan neuropati (Katz & Rothenberg, 2005). Penderita nyeri kronis umumnya merasakan reaksi hipersensitivitas yang tidak proporsional terhadap rangsangan (hiperalgesia), kondisi abnormal dan sensasi tertusuk jarum (hiperpatia) dan mengalami respons nosiseptif terhadap rangsangan yang tidak berbahaya (allodynia) (Okafor dkk., 2014).

Nyeri neuropatik dapat dibedakan menjadi 4 tipe yaitu nyeri yang menetap lebih dari waktu sembuh normal untuk luka akut, nyeri akibat penyakit kronis, nyeri yang tidak jelas organ penyebabnya, dan nyeri akut atau kronis yang disebabkan oleh kanker (Sukandar dkk, 2008). Nyeri neuropatik disebabkan karena kerusakan atau disfungsi dalam sistem saraf akibat trauma, infeksi, iskemia, kanker atau penyebab lain seperti kemoterapi (Fornasari, 2012). Kerusakan saraf yang disebabkan

rangsangan terus menerus dapat menyebabkan sirkuit/lintasan nyeri menimbulkan rangsangan saraf secara spontan, rangsangan saraf otonom dan dapat meningkatkan pelepasan bahan-bahan dari dorsal horn secara progresif (Tansley dkk., 2018)

## 2.6 Deskripsi Analgesik

Analgesik merupakan suatu senyawa yang dapat menekan fungsi sistem saraf pusat (SSP) atau mengurangi rasa nyeri tanpa mempengaruhi kesadaran. Berdasarkan mekanisme kerjanya analgesik dibagi menjadi analgesik opioid dan analgesik non opioid.

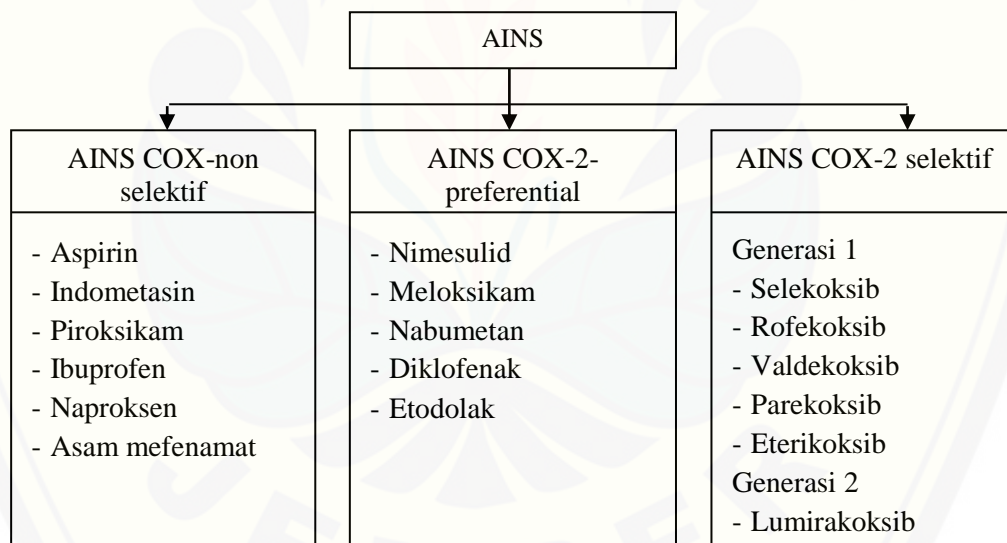
### 2.6.1 Analgesik Opioid

Analgesik opioid merupakan kelompok obat yang memiliki sifat seperti opium. Opium alkaloid seperti morfin berasal dari getah *Papaver somniferum*. Analgesik opioid juga disebut sebagai analgesik berkhasiat kuat dan memiliki warna coklat gelap yang terbuat dari resin yang diperoleh dari kapsul poppy. Golongan opioid antara lain alkaloid opium, alkaloid semisintetik (modifikasi struktur morfin) seperti heroin, metadon, benzomorfan, semisintetik turunan tebain (McDonald dan Lambert, 2016). Opioid digunakan untuk meredakan nyeri kronik atau nyeri yang tidak dapat diobati dengan analgesik non-opioid (Jamison dan Mao, 2015).

Reseptor opioid terdapat pada situs pre dan postsinaps di *dorsal horn* pada korda spinal, batang otak, thalamus, korteks. Reseptor opioid diklasifikasikan menjadi tiga reseptor utama yaitu mu ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ), dan delta ( $\delta$ ). Reseptor tersebut termasuk pada jenis reseptor yang berpasangan dengan protein G, dan memiliki sub tipe mu<sub>1</sub>, mu<sub>2</sub>, delta<sub>1</sub>, delta<sub>2</sub>, kappa<sub>1</sub>, kappa<sub>2</sub> dan kappa<sub>3</sub> (Pergolizzi, 2017). Reseptor mu ( $\mu$ ) merupakan reseptor yang memiliki konsentrasi paling tinggi dan terlibat dalam antinosiseptif. Reseptor ini berinteraksi dengan sebagian besar analgesik opioid untuk menghasilkan persepsi nyeri dan memperantarai efek analgesik mirip morfin, depresi napas, euforia dan menurunnya motilitas saluran cerna. Reseptor kappa ( $\kappa$ ) yang mengalami perangsangan akan menimbulkan analgesi spinal, miosis dan

sekresi. Sedangkan reseptor delta ( $\delta$ ) yang mengalami perangsangan akan menimbulkan halusinasi, disforia dan stimulasi pusat vasomotor (Yaksh, 1997). Efek analgesik ditimbulkan sebagai akibat kerja opioid pada reseptor  $\mu$ . Opioid berikatan dengan reseptor opioid yang ada di sistem saraf pusat dan medula spinalis yang berperan pada transmisi dan modulasi nyeri. Agonis opioid melalui reseptor  $\mu$ ,  $\kappa$ , dan  $\delta$  pada ujung prasinaps aferen primer nosiseptif mengurangi pelepasan transmitter, dan selanjutnya menghambat saraf yang mentransmisikan nyeri di kornu dorsalis medula spinalis. Dengan demikian opioid memiliki efek analgesik yang kuat melalui pengaruh pada medula spinalis (Gunawan, 2016).

#### 2.6.2 AINS (Antiinflamasi Non Steroid)

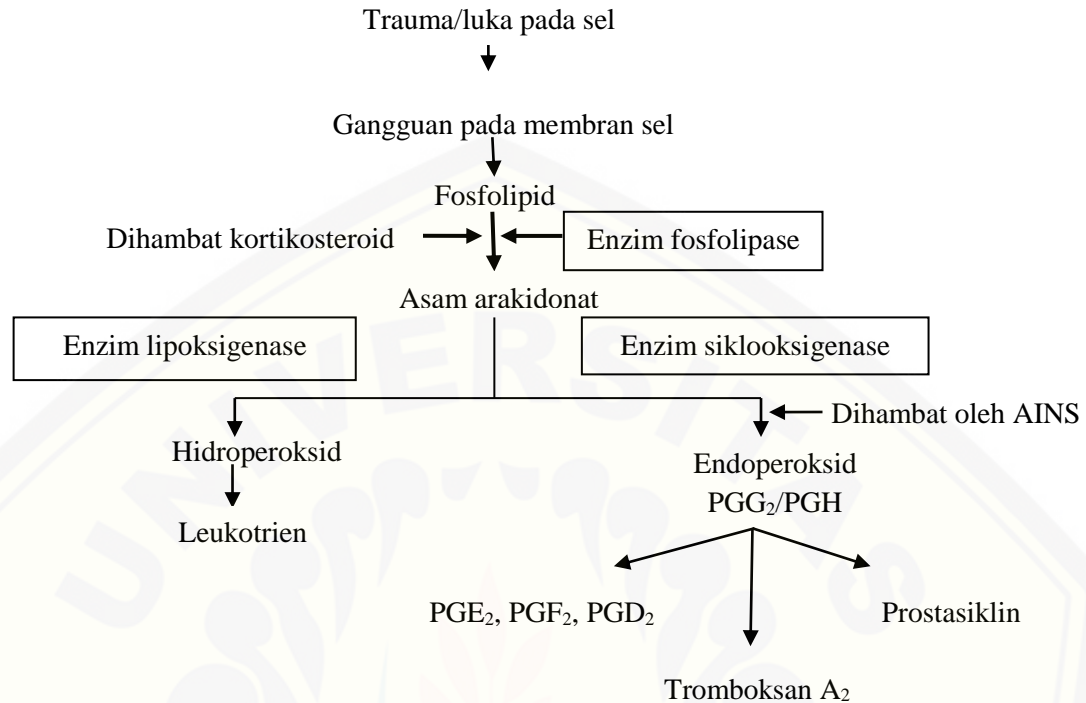


Gambar 2.6 Obat Analgesik Antiinflamasi Non Steroid (Obat AINS)  
(Sumber: Gunawan, 2016)

Obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) merupakan salah satu obat analgesik yang paling banyak digunakan didunia dengan atau tanpa menggunakan resep dokter. Klasifikasi AINS berdasarkan selektivitasnya terhadap siklooksigenase (COX) dapat

dilihat pada Gambar 2.6. Prototip obat golongan ini adalah asetosal, sehingga disebut juga obat mirip asetosal (*asetosal-like drugs*) (Kowalski dan Stevenson, 2013). AINS memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antiurisemik, antiplatelet dan antinyeri (Hebbes, 2016). Obat golongan ini memiliki efek analgesik namun hanya efektif terhadap nyeri rendah hingga sedang misalnya sakit kepala, mialgia, antralgia, dan nyeri lain yang berasal dari integumen serta efektif untuk nyeri yang berkaitan dengan inflamasi. Obat golongan mengubah persepsi modalitas sensorik nyeri tanpa mempengaruhi sensorik lain (Richard dan Graham, 2013).

Golongan obat ini bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakidonat menjadi PGG<sub>2</sub> terganggu (Munir dkk., 2009). Proses biosintesis prostaglandin dapat dilihat pada Gambar 2.7. Enzim siklooksigenase terdapat dalam dua bentuk yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 esensial dalam pemeliharaan berbagai fungsi dalam kondisi normal di berbagai jaringan khususnya ginjal, saluran cerna dan trombosit. Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. COX-2 diinduksi berbagai stimulus inflamator, termasuk sitokin, endotoksin dan faktor pertumbuhan). Tromboksan A<sub>2</sub> yang disintesis trombosit oleh COX-1, menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi, dan proliferasi otot polos. Sebaliknya prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) yang disintesis oleh COX-2 di endotel makrovaskular melawan efek tersebut dan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasodilatasi, dan efek antiproliferatif (Gunawan, 2016).

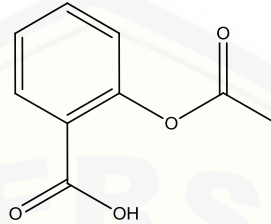


Gambar 2.7 Biosintesis Prostaglandin (Sumber: Gunawan dkk, 2016)

### 2.6.3 Asetosal

Asetosal atau asam asetilsalisilat memiliki rumus kimia  $C_9H_8O_4$ . Struktur asetosal dapat dilihat pada gambar 2.8. Asetosal merupakan senyawa yang berbentuk seperti kristal, berwarna putih, tidak berbau, larut dalam air, alkohol, kloroform, dan eter. Asetosal diperoleh melalui sintesis kimia asam salisilat secara asetilasi dengan asetat anhidrida (Ritu dkk., 2012). Asetosal merupakan asam organik sederhana dengan pKa 3,0 sehingga asetosal diabsorpsi secara cepat di saluran gastrointestinal dan di dinding usus. 80-90% asetosal terikat dengan protein plasma dan didistribusikan secara luas. Volume distribusi pada orang dewasa sebesar 170 ml/kg. Salisilat dieliminasi melalui metabolisme hepatic dalam bentuk asam salisilurik, salisilfenolikglukoronida, salisil asil glukoronida, asam gentisik, dan asam gentisurik. Dosisasetosal sebagai analgesik yaitu 325-625 mg dengan waktu paruh salisilat dalam plasma sekitar 2-3 jam, namun asetosal dosis tinggi menyebabkan

waktu paruh meningkat menjadi 15-30 jam. Salisilat diekskresikan dalam bentuk tidak berubah dalam urin (Sweetman, 2009).



Gambar 2.8 Struktur Asetosal

Asetosal merupakan golongan obat AINS yang memiliki efek sebagai analgesik, antipiretik, antiinflamasi dan antiplatelet (Torpy dan Livingston, 2013). Mekanisme kerja asetosal yaitu dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga mencegah produksi prostaglandin. Asetosal sebagai inhibitor sintesis prostaglandin dapat menyebabkan iritasi pada mukosa lambung dan asetosal dosis rendah dapat meningkatkan perdarahan dengan menghambat agregasi trombosit. Selain itu, Efek samping lain dari penggunaan asetosal adalah gangguan gastrointestinal seperti mual, dispepsia, muntah, ulserasi, hematemesis, dan melena (Kwok dan Loke, 2010)

## 2.7 Metode Pengujian Analgesik

Metode pengujian analgesik bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu obat atau ekstrak tumbuhan dalam menekan atau menghilangkan nyeri yang disebabkan karena rangsangan kimia, mekanik, termal atau elektrik pada hewan coba. Daya kerja analgesik suatu obat atau ekstrak tumbuhan pada hewan coba dapat dilihat berdasarkan peningkatan stimulus nyeri yang diberikan hingga ada respon nyeri atau jangka waktu ketahanan hewan coba terhadap stimulus nyeri. Pengujian aktivitas analgesik dapat dilakukan salah satunya dengan induksi nyeri secara kimia.

### 2.7.1 Metode Induksi Secara Kimia (Metode Sigmund)

Uji aktivitas analgesik dengan menggunakan metode induksi kimia bertujuan untuk mengetahui potensi efek analgesik dari tumbuhan yang diteliti dengan menggunakan induksi asam asetat (Patel dkk., 2017). Prinsip metode induksi secara kimia yaitu hewan coba diinduksi menggunakan asam asetat 1%. Hewan coba yang telah diinduksi akan bereaksi terhadap stimulus nyeri dalam bentuk gerakan geliat yaitu berupa tarikan kaki ke belakang, penarikan kembali abdomen, dan kejang tetani dengan membengkokkan kepala dan kaki ke belakang. Satu geliatan mencit dinyatakan apabila mencit telah melakukan kontraksi dan relaksasi kembali (kembali pada keadaan semula) (Milind dan Monu, 2012).

### 2.7.2 Tinjauan Tentang Asam Asetat

Asam asetat atau dikenal sebagai asam cuka ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) merupakan suatu senyawa yang berbentuk cairan, tak berwarna, berbau menyengat, memiliki rasa asam yang tajam dan larut di dalam air, alkohol, gliserol, dan eter. Pada tekanan atmosferik titik didihnya  $118\text{ }^\circ\text{C}$  (PHE, 2016). Asam asetat murni (asam asetat glasial) merupakan cairan yang tidak berwarna dan memiliki bau khas yang menusuk dengan titik beku  $16,7\text{ }^\circ\text{C}$ . Asam asetat glasial mengandung  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$  tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% b/b (Depkes, 1995).

Pemilihan asam asetat sebagai penginduksi nyeri karena dapat memberikan rangsangan nyeri yang baik terhadap hewan uji dengan cara memicu respon inflamasi lokal sehingga menyebabkan pelepasan mediator inflamasi seperti prostaglandin yang dapat meningkatkan kepekaan nosiseptor (Gawade, 2012). Peningkatan kadar prostaglandin akibat induksi asam asetat menyebabkan nyeri inflamasi dengan meningkatkan permeabilitas kapiler dalam rongga peritoneum (Milind dan Monu, 2012).



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *True Eksperimental Laboratories* dengan melakukan uji aktivitas analgesik pada mencit yang diinduksi asam asetat.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-selesai di Laboratorium Kimia Analisis, Laboratorium Analisis Instrumen dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Pada penelitian penapisan fitokimia, penetapan kadar fenol total, alkaloid, dan flavonoid serta uji aktivitas analgesik ekstrak etanol tepung otot (*S. vestita*) menggunakan alat dan bahan penelitian sebagai berikut:

#### 3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat penggiling, timbangan analitik, toples maserasi, set alat gelas, corong *buchner*, *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), oven (Memmert), spatula, *pipet filler*, pinset, mikropipet, bejana kromatografi, pencampur pusaran (*vortex mixer*), *hotplate*, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), kandang hewan, timbangan hewan, mortir dan stamper, alat-alat suntik untuk injeksi (*One Med Disposable syringe*), sonde, stopwatch.

#### 3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tumbuhan tepung otot yang diambil dari Desa Wonokerso Kecamatan Sumber Kabupaten Probolinggo, etanol 96%, HCl 2N, NaCl, NH<sub>4</sub>OH 28%, kloroform, metanol, lempeng KLT (kiesel

gel GF 254), etil asetat, akuades pereaksi *dragendorf*, heksana, butanol, asam asetat glasial, pereaksi sitroborat, amonia, pereaksi anisaldehyd asam sulfat, pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , gelatin, toluena, aseton, asam formiat, asam galat, reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat, kuersetin, reagen  $\text{AlCl}_3$ , *bromocresol green* (BCG),  $\text{NaOH}$  2N,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,2 M,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  0,2 M, standar berberin klorida, CMC Na, asam asetat 0,6%,  $\text{CaCO}_3$ , asetosal.

### 3.4 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan tiga variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkontrol yang dijelaskan sebagai berikut:

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu jumlah geliatan mencit yang diinduksi asam asetat setelah dikontakkan dengan ekstrak tumbuhan tepung otot dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB.

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu tempat pengambilan sampel; metode ekstraksi, suhu, eluen; metode penetapan kadar; jenis, jenis kelamin, umur, pemeliharaan mencit meliputi pemberian pakan dan minum.

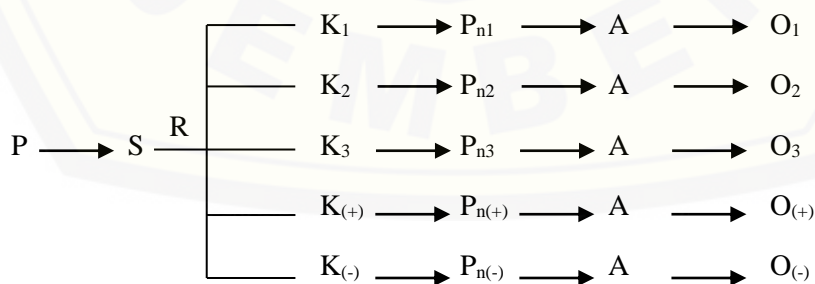
### 3.5 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian ini antara lain:

- Tumbuhan tepung otot yang digunakan dengan nama ilmiah *Stellaria vestita* Kurz yang dikumpulkan dari Desa Wonokerso, Kecamatan Sumber, Kabupaten Probolinggo yang telah diidentifikasi oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan. Tepung otot yang digunakan yaitu seluruh bagian tumbuhan mulai dari daun, bunga, batang dan akar.
- Respon geliat mencit akibat induksi asam asetat berupa tarikan kaki ke belakang, penarikan kembali abdomen, dan kejang tetani dengan membengkokkan kepala dan kaki ke belakang. Satu geliatan mencit dinyatakan apabila mencit telah melakukan kontraksi dan relaksasi kembali (kembali pada keadaan semula) (Milind dan Monu, 2012).
- Ekstrak dikatakan memiliki aktivitas analgesik apabila mampu menurunkan jumlah geliat mencit  $\geq 50\%$  dari jumlah geliat pada perlakuan kontrol negatif (Turner, 1965).

### 3.6 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang diterapkan adalah *the Post Test Only Control Group Design*.



Gambar 3.1 Rancangan Skematis Penelitian Uji Analgesik

Keterangan gambar :

- P : Populasi  
 S : Sampel  
 R : Randomisasi  
 K : Kelompok  
 P<sub>n</sub> : Perlakuan pada sampel secara per oral  
 A : Pemberian asam asetat 0,6 % secara intraperitoneal 0,2 ml/20 g BB  
 O : Observasi pada sampel dengan mengamati jumlah geliat  
 1 : Ekstrak etanol 96% tepung otot (*S. vestita*) dosis 100 mg/kgBB  
 2 : Ekstrak etanol 96% tepung otot (*S. vestita*) dosis 200 mg/kgBB  
 3 : Ekstrak etanol 96% tepung otot (*S. vestita*) dosis 400 mg/kgBB  
 (+) : Kontrol positif (Suspensi CMC-Na 1%)  
 (-) : Kontrol negatif (Suspensi asetosal dosis 65 mg/kgBB)

### 3.7 Deskripsi Hewan Penelitian

Pada penelitian uji aktivitas analgesik menggunakan hewan uji dengan jumlah dan kriteria sebagai berikut :

#### 3.7.1 Jumlah Hewan Penelitian

Jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan :

- n : Jumlah sampel  
 p : Jumlah kelompok kontrol dalam perlakuan

Apabila  $p = 5$ , maka

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi pada penelitian ini digunakan mencit sebanyak 25 ekor dimana 5 ekor untuk masing-masing kelompok perlakuan.

#### 3.7.2 Kriteria Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) putih jantan strain Balb-C sehat sebanyak 25 ekor, berumur 2-3 bulan dengan BB 20-30 gram.

### 3.8 Prosedur Penelitian

Prosedur Penelitian ini meliputi identifikasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak tepung otot, penapisan fitokimia, penetapan kadar fenol total, alkaloid, dan flavonoid serta uji aktivitas analgesik. Prosedur penelitian tersebut akan dijelaskan sebagai berikut:

#### 3.8.1 Identifikasi Tumbuhan (Determinasi)

Bahan yang digunakan adalah tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) yang diperoleh dari desa Wonokerso, Kecamatan Sumber, Kabupaten Probolinggo. Untuk memastikan kebenaran dari simplisia yang digunakan maka dilakukan determinasi di LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Purwodadi. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut merupakan *Stellaria vestita* Kurz dari genus Caryophyllaceae.

#### 3.8.2 Pembuatan Simplisia

Tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) dikumpulkan dan disediakan untuk pembuatan simplisia kering. Tepung otot (*S. vestita*) yang digunakan dicuci hingga bersih dan ditiriskan, kemudian dilakukan pengeringan tanpa terkena sinar matahari. Setelah kering selanjutnya digiling hingga menjadi serbuk, serbuk yang diperoleh disimpan di wadah bersih.

#### 3.8.3 Pembuatan Ekstrak Tumbuhan Tepung Otot

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia kering tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) sebanyak 400 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 kali bobot serbuk dan dilakukan pengadukan secara terus menerus selama 5 hari. Setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan corong *buchner* dan maserat yang diperoleh dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu 50 °C hingga kering.

Perhitungan rendemen ditentukan berdasarkan presentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Kemenkes, 2000).

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{beratekstrakyangdiperoleh}}{\text{beratbahanyangdiekstrak}} \times 100\%$$

#### 3.8.4 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia pada penelitian ini meliputi identifikasi senyawa golongan flavonoid, alkaloid, polifenol, steroid dan triterpenoid, steroid bebas, antraknon dan tanin. Prinsip identifikasi senyawa golongan tersebut menurut Harborne (1984) adalah sebagai berikut:

a. Identifikasi senyawa golongan alkaloid

Penyiapan sampel untuk identifikasi alkaloid yaitu 0,3 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 mL HCl 2N, kemudian dipanaskan menggunakan penangas air selama 2-3 menit. Setelah dingin ditambahkan 0,3 gram NaCl dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2N dan selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditambahkan dengan NH<sub>4</sub>OH 28% hingga larutan menjadi basa dan didiamkan hingga 30 menit. Setelah itu, diekstraksi dengan 5 mL kloroform dan disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kering dan dilarutkan dengan metanol. Selanjutnya dilakukan uji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam dengan kondisi uji sebagai berikut:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase Gerak : etil asetat-metanol-air (9:2:2)

Lempeng hasil eluasi disemprot dengan penampak noda *dragendorf*, jika mengandung alkaloid noda akan tampak berwarna jingga.

b. Identifikasi senyawa golongan flavonoid

Penyiapan sampel untuk identifikasi flavonoid yaitu 0,3 gram ekstrak dikocok dengan 1 mL heksana hingga tidak berwarna, kemudian residu dilarutkan dengan etanol. Selanjutnya dilakukan uji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam dengan kondisi uji sebagai berikut:

Fase diam : kiesel Gel GF F254

Fase gerak : butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5)

Lempeng hasil eluasi diberi penampak noda sitroborat, jika mengandung flavonoid noda akan nampak berwarna kuning.

c. Identifikasi sapogenin glikosida saponin, steroid dan triterpenoid

Penyiapan sampel untuk identifikasi saponin, steroid dan triterpenoid yaitu 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 5 mL HCl 2N, dididihkan dan ditutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin, dinetralkan dengan amonia, kemudian diekstraksi dengan 3 mL heksana sebanyak 3 kali, lalu diuapkan sampai tinggal 0,5 mL dan siap dilakukan pemeriksaan dengan KLT. Selanjutnya dilakukan uji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam dengan kondisi uji sebagai berikut:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase gerak : heksana-etil asetat (4:1)

Lempeng hasil eluasi diberi penampak noda anisaldehyd asam sulfat (dipanaskan). Jika mengandung sapogenin, terpenoid atau steroid maka noda akan tampak berwarna merah ungu.

d. Identifikasi senyawa golongan polifenol

Penyiapan sampel untuk identifikasi polifenol yaitu 0,3 gram ekstrak tepung otot ditambahkan dengan 10 mL akuades panas, dan didinginkan. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl dan disaring. Selanjutnya dilakukan uji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam dengan kondisi uji sebagai berikut:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase gerak : toluena:aseton:asam formiat (6:1:1)

Lempeng hasil eluasi diberi penampak noda  $\text{FeCl}_3$ , jika mengandung polifenol maka noda akan tampak berwarna coklat tua.

e. Identifikasi senyawa golongan tanin

Penyiapan sampel untuk identifikasi tanin yaitu 0,05 gram ekstrak ditambahkan dengan 10 mL akuades panas, dan didinginkan. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl diaduk dan disaring. Campuran larutan dibagi menjadi 2 bagian masing-masing 4mL yaitu larutan A dan larutan B kemudian dilakukan pemeriksaan dengan uji gelatin. Larutan A ditambahkan dengan gelatin dan 5 mL larutan NaCl 10%. Bila ada endapan putih maka akan menunjukkan adanya tanin. Larutan B ditambahkan dengan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$ , apabila berubah menjadi hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

### 3.8.5 Penetapan Kadar Fenol Total

Metode penentuan kadar fenol total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* (Singh dkk., 2014).

a. Pembuatan larutan standar asam galat

Larutan induk asam galat dibuat dengan menimbang 30 mg asam galat dan dilarutkan ad 100 mL menggunakan akuades sehingga diperoleh konsentrasi 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Kemudian larutan induk 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  diencerkan hingga diperoleh seri konsentrasi yaitu 30, 60, 90 dan 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

b. Penentuan panjang gelombang maksimal

Larutan standar asam galat dipipet sebanyak 0,5 mL lalu direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian larutan tersebut ditambahkan natrium karbonat sebanyak 4 mL dan dikocok selama 15. Kemudian dilakukan *scanning* panjang gelombang dengan menggunakan salah satu konsentrasi standar dan dilihat spektranya menggunakan spektrofotometer UV-



Vis. Titik puncak spektra yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimal terpilih adalah absorbansi yang terbesar.

c. Penentuan waktu inkubasi

Larutan standar asam galat dipipet 0,5 mL direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian campuran larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat dan dikocok selama 15 detik. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang terpilih dengan spektrofotometer UV-Vis mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

d. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak etanol tepung otot ditimbang 90 mg dan direplikasi tiga kali. Kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dengan etanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 9000 µg/mL.

e. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar dipipet 0,5 mL kemudian direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama waktu inkubasi optimal. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih.

f. Pengujian fenol total

Larutan sampel dipipet 0,5 mL direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat dan dikocok selama 25 detik kemudian didiamkan selama waktu inkubasi optimal. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih. Kadar fenol total dinyatakan dalam mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 1 gram ekstrak.

### 3.8.6 Penetapan Kadar Flavonoid

Berikut metode penetapan kadar flavonoid menggunakan metode  $\text{AlCl}_3$  (Ordenez dkk., 2006).

a. Pembuatan larutan standar flavonoid

Pembuatan larutan induk kuersetin dengan cara menimbang 20 mg dan 40 mg kuersetin kemudian masing-masing dilarutkan dengan menggunakan metanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 2000 dan 4000  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kuersetin dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk hingga diperoleh konsentrasi 20, 80, 100 dan 140  $\mu\text{g/mL}$ .

b. Penentuan panjang gelombang maksimal

Larutan standar dipipet 0,5 mL kemudian direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 100  $\mu\text{L}$  reagen  $\text{AlCl}_3$ , 100  $\mu\text{L}$  reagen kalium asetat, dan 2,8 mL akuades. Selanjutnya dipilih salah satu larutan standar untuk *scanning* panjang gelombang dan dilihat spektranya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi terbesar merupakan titik puncak spektra yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimal terpilih.

c. Penentuan waktu inkubasi

Larutan standar kuersetin dipipet 0,5 mL dan direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 100  $\mu\text{L}$  reagen  $\text{AlCl}_3$ , 100  $\mu\text{L}$  reagen kalium asetat, dan 2,8 mL akuades.. Kemudian campuran larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih dengan spektrofotometer UV-Vis mulai dari menit ke-0 sampai ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

d. Pembuatan larutan sampel

Ekstrak etanol tepung otot ditimbang sebanyak 50 mg dan direplikasi tiga kali. Selanjutnya masing-masing ekstrak dilarutkan dengan metanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 5000  $\mu\text{g/mL}$ .

e. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar dipipet 0,5 mL dan direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 100  $\mu\text{L}$  reagen  $\text{AlCl}_3$ , 100  $\mu\text{L}$  reagen kalium asetat, dan 2,8 mL akuades. Kemudian

campuran larutan didiamkan selama waktu inkubasi optimal dalam kuvet. Setelah itu larutan dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih.

f. Pengujian flavonoid

Larutan sampel dipipet 0,5 mL dan direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 100  $\mu$ L reagen  $AlCl_3$ , 100  $\mu$ L reagen kalium asetat, dan 2,8 mL akuades. Kemudian campuran larutan didiamkan selama waktu inkubasi optimal dalam kuvet. Setelah itu larutan dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih. Kadar flavonoid dinyatakan dalam mg QE (ekuivalensi kuersetin) dalam 1 gram ekstrak.

### 3.8.7 Penetapan Kadar Alkaloid

Berikut metode penetapan kadar flavonoid menggunakan *bromocresol green* (BCG) (Patel dkk., 2015).

a. Pembuatan larutan *bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$

Larutan *bromocresol green* (BCG) dibuat dengan mencampur 69,8 mg *bromocresol green* dengan 3 mL NaOH 2N dan 5 mL akuades, kemudian dipanaskan pada suhu 50-60 °C selama 15 menit hingga larutan sempurna. Kemudian larutan campuran dilarutkan dengan 1 liter akuades.

b. Pembuatan dapar fosfat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dengan mencampurkan ( $Na_2HPO_4$ ) 0,2 M dengan sitrat ( $C_6H_8O_7$ ) 0,2 M hingga dihasilkan pH 4,7.

c. Preparasi larutan standar berberin klorida 100  $\mu$ g/mL

Larutan induk standar berberin klorida 100  $\mu$ g/mL dibuat dengan menimbang 1 mg berberin klorida kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL hingga tepat tanda. Diambil sejumlah 0,4; 0,6; 0,8; 1; dan 1,4 mL larutan induk standar berberin klorida 100  $\mu$ g/mL, kemudian masing-masing dimasukkan dimasukkan ke dalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH

4,7 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$  M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform kemudian diambil dan dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Sehingga menghasilkan konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 14  $\mu\text{g/mL}$ .

d. Penentuan panjang gelombang maksimum

Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan pada standar berberin 10  $\mu\text{g/mL}$  dan larutan sampel yang telah dipreparasi dengan *bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$  M. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm.

e. Preparasi kurva larutan standar berberin

Konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 14  $\mu\text{g/mL}$  hasil pengenceran larutan induk diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan menggunakan blanko yang terdiri dari reagen tanpa larutan standar. Setelah itu diambil fase kloroformnya. Kurva kalibrasi dan persamaan regresi dibuat antara data absorbansi dan konsentrasi standar berberin.

f. Penetapan kadar alkaloid total

Larutan sampel dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak etanol tepung otot, dilarutkan dalam asam klorida (HCl) 2N dan disaring. Larutan uji diambil kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat 4,7 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$  M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Pembuatan larutan sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak, kemudian diambil fase kloroformnya. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar alkaloid total ditentukan berdasarkan interpolasi absorbansi analit ke dalam persamaan regresi linear standar berberin sehingga didapatkan konsentrasi (x) dalam satuan  $\mu\text{g/mL}$ . Kadar alkaloid dinyatakan dalam mg BE (ekuivalensi berberin) dalam 1 gram ekstrak..

### 3.8.8 Uji Aktivitas Analgesik

Penelitian uji aktivitas analgesik meliputi penyiapan hewan uji, pembuatan CMC Na 1%, larutan asam asetat 0,6%, suspensi asetosal, dan suspensi ekstrak serta induksi senyawa kimia dan pengamatan geliat mencit. Prinsip kerja uji aktivitas analgesik dijelaskan sebagai berikut:

a. Penyiapan hewan uji

Hewan uji diadaptasikan selama 7 hari pada kandang yang memiliki ventilasi baik dan selalu dijaga kebersihannya, diberikan makan dan minum secukupnya. Pemuasaan dilakukan selama semalam 16-18 jam sebelum dilakukan pemejanaan terhadap hewan uji.

b. Pembuatan CMC Na 1 %

Pembuatan CMC Na 1% dengan menimbang 1 g CMC Na kemudian ditaburkan diatas air panas (20 kali berat CMC Na) dan didiamkan hingga mengembang. Kemudian diaduk hingga homogen dan ditambahkan air hingga volume 100 mL.

c. Pembuatan larutan asetat 0,6%

Larutan asam asetat 0,6% dibuat dengan cara memipet 1 mL larutan asam asetat glasial dan ditambahkan akuades steril ad 50 mL. Kemudian dipipet 3 mL dan ditambahkan akuades steril ad 10 mL. Dosis larutan asam asetat yaitu 10mg/kg BB dengan volume pemberian 0,2 mL/kg BB. Perhitungan pembuatan larutan asam asetat 0,6% dapat dilihat pada lampiran 3.5.

d. Pembuatan suspensi asetosal

Suspensi asetosal dibuat dengan cara menimbang asetosal sebanyak 65 mg dan disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga volume 10 ml (untuk sediaan peroral). Perhitungan pembuatan larutan suspensi asetosal dapat dilihat pada lampiran 3.5.

e. Pembuatan suspensi ekstrak

Suspensi ekstrak etanol tepung otot dibuat dengan cara menimbang 100 mg, 200 mg, dan 400 mg ekstrak yang kemudian disuspensikan ke dalam CMC-Na 1%

sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen sampai volume 10 mL untuk dosis ekstrak 100, 200, dan 400 mg/Kg BB. Perhitungan pembuatan suspensi ekstrak dapat dilihat pada lampiran 3.5.

f. Induksi senyawa kimia

Sebelum perlakuan, mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 16-18 jam dengan tetap diberi minum secukupnya. Induksi asam asetat dilakukan dengan cara mencit diberi senyawa uji (kontrol positif, kontrol negatif, dan ekstrak dengan berbagai konsentrasi) secara intraperitoneal. Selang waktu 10 menit, mencit diinduksi nyeri nosiseptif, dengan diberikan larutan asam asetat 0,6%. Lalu dilakukan perhitungan jumlah geliat yang ditandai dengan tarikan kaki ke belakang, penarikan kembali abdomen, dan kejang tetani dengan membengkokkan kepala dan kaki ke belakang tiap selang waktu 5 menit selama 30 menit (Chao Ma dan Zhang, 2011).

g. Pengamatan geliat mencit

Geliat mencit diamati untuk menentukan efek daya analgesik terhadap rangsangan kimia. Respon geliat setiap hewan uji bervariasi. Jumlah geliat setiap hewan uji tiap selang waktu 5 menit selama 30 menit dicatat dan dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut (Turner, 1965) yaitu:

$$\% \text{ Daya analgesik} = 100 - \left[ \frac{P}{K} \times 100 \right]$$

Keterangan:

P : Jumlah kumulatif geliat mencit setelah perlakuan

K : Jumlah kumulatif geliat mencit kelompok negatif

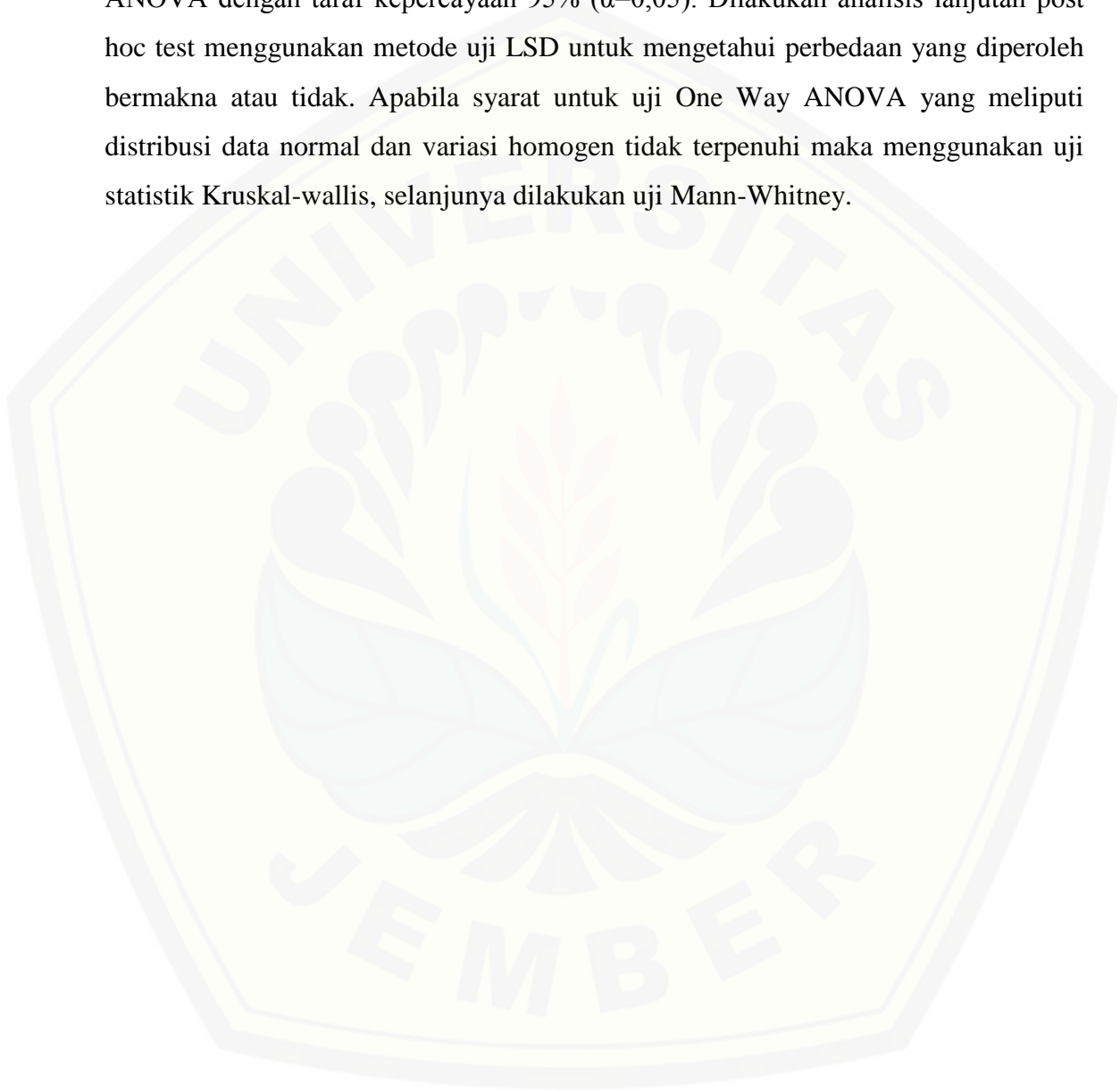
Efektivitas analgesik ditentukan untuk mengetahui keefektifan ekstrak tumbuhan tepung otot (*S. vestita*) dalam berbagai dosis yang dibandingkan dengan asetosal yaitu :

$$\% \text{Efektivitas analgesik} = \left[ \frac{\text{Rata-rata daya analgesik kelompok perlakuan}}{\text{Rata-rata daya analgesik kelompok asetosal}} \times 100\% \right]$$

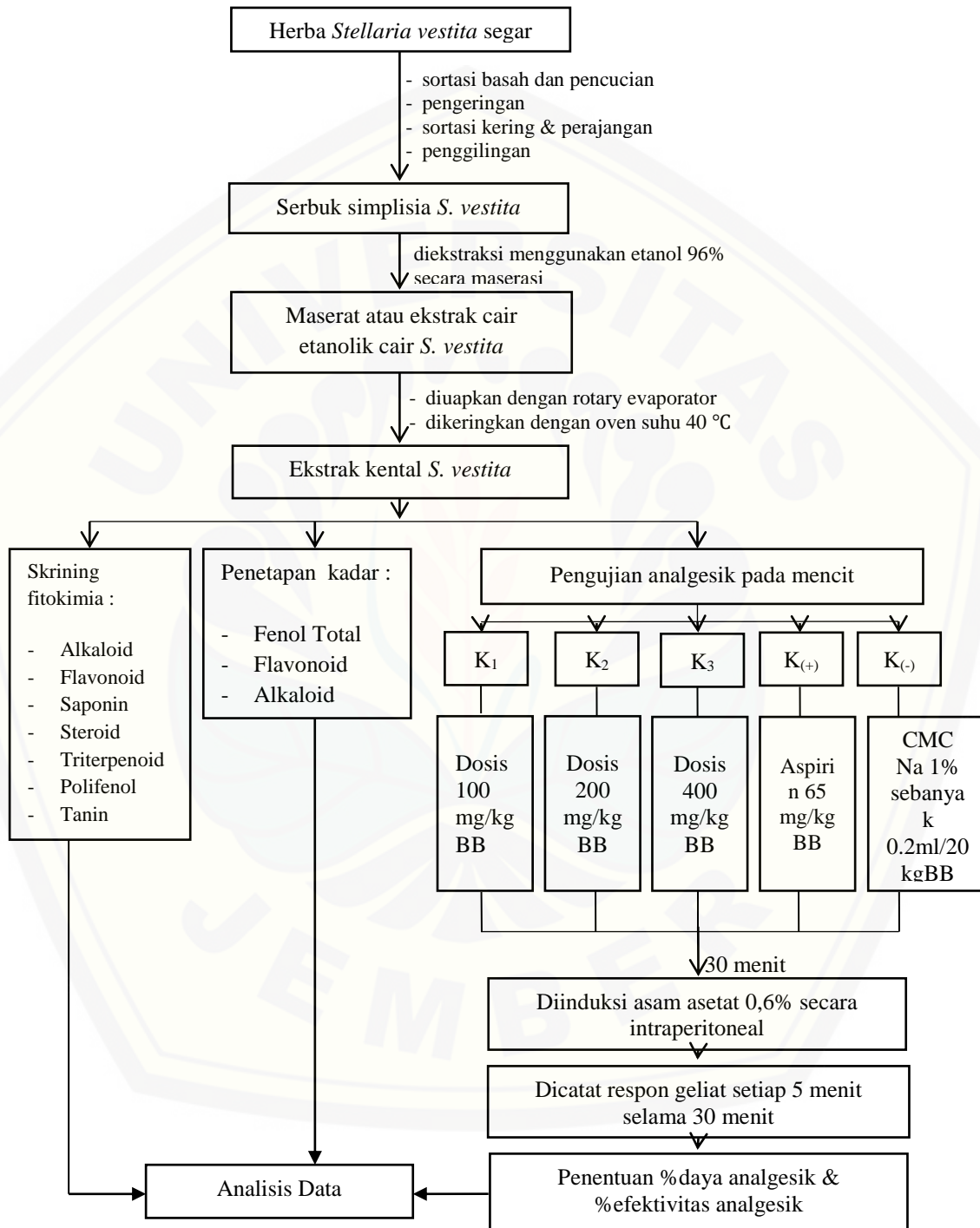
(Pudjiastuti dkk dalam Puspitasari, 2003)

### 3.9 Analisis Data

Data jumlah geliat mencit dianalisis menggunakan uji statistik One Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Dilakukan analisis lanjutan post hoc test menggunakan metode uji LSD untuk mengetahui perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak. Apabila syarat untuk uji One Way ANOVA yang meliputi distribusi data normal dan variasi homogen tidak terpenuhi maka menggunakan uji statistik Kruskal-wallis, selanjunya dilakukan uji Mann-Whitney.



### 3.10 Skema Kerja Penelitian



Gambar 3.2 Skema Kerja Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN & SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% tepung otot (*S. vestita*) mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, fenol total, glikosida saponin, triterpenoid, dan steroid.
2. Kadar fenol total dalam ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot yaitu sebesar  $4,936 \pm 0,200$  mg GAE/g ekstrak, kadar flavonoid dalam ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot yaitu  $10,168 \pm 1,358$  mg QE/g ekstrak, sedangkan kadar alkaloid dalam ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot yaitu  $1,364 \pm 0,021$  mg BE/g ekstrak.
3. Ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot pada dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB mampu memberikan aktivitas analgesik pada mencit yang diinduksi asam asetat 0,6% dengan persentase daya analgesik masing-masing sebesar 94,05% dan 79,46%, sedangkan pada dosis 100 mg/kg BB tidak memiliki aktivitas analgesik.

### 5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas ekstrak tumbuhan tepung otot pada hewan uji untuk mengevaluasi batas keamanan ekstrak apabila digunakan dalam jangka yang panjang.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan senyawa tumbuhan tepung otot yang memiliki aktivitas analgesik.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abu-Ziada, M.E., G. A. El Shaebery, dan H. M. Al-Jubawy. Autecology and bioactive metabolites of *Stellaria pallida* growing in north east nite delta, egypt. *Journal of Biological Science*. 15(1): 25-32, 2015.
- Ainsworth, E. A., dan K.M. Gillespie. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using folin-ciocalteu reagent. *Journal Physiological and Molecular Plant Biology*. 2(4): 875-877.
- Amaya, F., Y. Izumi, M. Matsuda, dan M. Sasaki. 2013. Tissue injury and related mediator of pain exacerbation. *Journal of Neuropharmacology*. 11(6): 592-597.
- Anwar, K. 2016. Pathophysiology of pain. *Journal of Desease-a-Month*. 4: 1-5.
- Alricsson, M. 2012. *Musculoskeletal Disorder*. Croatia: InTech.
- Babos, M. B., B. Grady, W. Wisnoff, dan C. McGhee. 2013. Pathophysiology of pain. *Journal of Disease-a-Month*. 59: 330-358.
- Badan Pusat Statistik. 2018. Daftar 20 Penyakit Terbanyak yang Diderita Pasien Umur 44-54. Online. [<https://bps.go.idstatictable/2018/01/12/623/daftar-20-penyakit-terbanyak-yang-diderita-pasien-umur-44-54>].
- Chandra, S., dan D. Rawat. 2015. Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. *Integrative Medicine Research*. 4(3):123-131.
- Chao Ma dan J. M. Zhang. 2011. *Animal Models of Pain*. Vol. 49. London: Humana Press

- Chang, C., M. Yang, H. Wen, dan J. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3): 178-182.
- Chen Y., P. C. Kuo, H. H. Chan, I. J Kuo, F. W. Lin, C. R. Su, M. L. Yang, D. T. Li, dan T. S. Wu. 2010.  $\beta$ -Carboline alkaloid from *Stellaria dichotoma* var. *Lanceolata* and their anti-inflammatory activity. *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy*. 73(12): 1993-1998.
- Coleska-Nikolovska, Z., Klisarova, L., Suturkova, L., & Dorevski, K. 1996. First and second derivative spectrophotometric determination of flavonoids chrysin and quercetin. *Journal of Analytical*. 14:5-55.
- Dahl, J. B., dan H. Kehlet. 1991. Non Steroidal anti-inflammatory drugs: rationale for use in severe postoperative pain. *British Journal of Anaesthesia*. 66: 703-712.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dubin A. E., dan A. Patapoutian. 2010. Nociceptor: the sensors of pain pathway: *The Journal of Clinical Investigation*. 120(11): 3760-3772.
- Ellison, D. L. 2017. Physiology of pain. *Critical Care Nursing* . 1: 1-12.
- Ercisli, S. 2007. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry* 104(2007): 1379-1384
- Fernandes, A. J. D., M. R. A. Ferreira, K. P. Randau, T. P. Souza, dan L. A. L. Soares. 2012. Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). *The Scientific World Journal*. 13:1-7.

- Fornasari, D. 2012. Pain mechanisms in patients with chronic pain. *Journal of Pharmacology*. 32(1): 45-52.
- Gawade, S. P. 2012. Acetic acid induced painful endogeneous infliction in writhing test on mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 3(4): 348-349.
- Gunawan, G. G. 2016. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 6. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Second Edition. USA: Chapman and Haltd.
- Hartwig, M. S. and L. M. Wilson. 2006. Nyeri: *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Vol 2. Jakarta: EGC.
- Hebbes, C., 2016. Non-opioid analgesics. *Journal Anaesthesia and Intensive Care medicine*. 3: 1-4.
- IASP. 2017. IASP Terminology. Online. [<https://iasp-pain.org>, diakses pada 30 April 2018].
- Ikawati, Z. 2014. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Syaraf Pusat*. Yogyakarta: Bursa ilmu.
- iNaturalist. 2017. Taxonomy of *Stellaria vestita*. Online. [<http://www.inaturalist.org/taxa/544070-Stellaria-vestita>, diakses pada 30 April 2018].
- Jamison, R. N., dan J. Mao. 2015. Opioid Analgesics. *Journal of Anesthesiology, Perioperative and Pain Medicine*. 90(7): 957-968.

Kansal, A., dan J. Hughes. 2016. Visceral pain. *Journal of Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 13(8): 1-5.

Katavic, P. L. 2015. Chemical investigations of the alkaloids from the plants of the family Elaeocarpaceae. *Griffith University submitted*.

Katno dan S. Pramono. 2008. *Tingkat manfaat dan keamanan obat tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmang dan Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.

Katz, W. A. dan R. Rothenberg. 2005. The nature of pain: Pathophysiology. *Journal of Clinical Rheumatology*. 11(2): 11-15.

Katzung, Bertram G. 2002. *Basic and Clinical Pharmacology*. 9th Ed. Boston: McGraw Hill.

Kaur, R., dan S. Arora. 2015. Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Journal of critical Reviews*. 2(3): 1-8.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Ditjen POM.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen 2: Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2013)*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

Kostova, I., T. Ojala, A. Lady, R. O'Kennedy, J. Widelski, E. Melliou, dan M. S.

- Butler. 2010. Natural product chemistry for drug discovery. *Journal of Natural Product*. 5(7): 440.
- Kowalski, M. L., dan D. D. Stevenson. 2013. Classification of reactions to nonsteroidal Antiinflammatory drugs. *Immunology Allergy Clinics*. 33 (2013): 135-145
- Kumar, M., A. Shete, dan Z. Akbar. 2010. A review on analgesic: From natural sources. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 1(2): 95-100.
- Kwok, C. S., dan Y. K. Loke. 2010. Critical overview on the benefits and harm of aspirin. *Journal Pharmaceuticals*. 3: 1491-1506.
- Latanzio, V. 2013. Phenolic compounds: Introduction. *Journal of Science Agriculture, Food and Environment*. 17: 1543-1579.
- Makkar, H. P. S., P. Siddhuraju, dan K. Becker. 2007. *Plant Secondary Metabolites*. Germany: Humana Press Inc.
- Martinez, V., S. Takur, J. S. Mogil, Y. Tache dan E. A. Mayer. 1999. Differential effect of chemical and mechanical colonic irritation on behavioral pain response to intraperitoneal acetic acid in mice. *Pain*. 81 (1999): 179-186
- Mitsatkova, P., E. Ancheeva, K. Hejtmankova, L. Teslov, dan O. Lapcik. 2014. Determination of flavonoid in stellaria by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Letters*. 47: 2317-2331
- McCormick, T., dan S. Law. 2016. Assessment of acute and chronic pain. *Journal Anaesthesia and Intensive Care medicine*. 17(9) : 421-423.
- McDonald, J., dan D. G. Lambert. 2016. Opioid mechanism and opioid drugs. *Journal of Pharmacology*. 17(9): 464-468.

- Meeks, N. M., J. S. Glass, dan B. T. Carroll. 2015. Acute pain management in dermatology: Mechanism and pathway. *American Academy of Dermatology*. 73: 533-540.
- Milind, P., dan Y. Monu. 2012. Laboratory models for screening analgesics. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(1): 15-19.
- Milner, R., dan C. Doherty. 2015. Pathophysiology of pain in the peripheral nervous system. *Nerves and Nerve Injury*. 2: 3-22.
- Montgomery, P., B. C. Shank, dan A. C. Black. 2017. Classification system in pain management. *Critical Care Nursing*: 7: 1-12.
- Munir, M. A., N. Enany, dan J. M. Zhang. 2009. Nonopioid analgesics. *Perioperative Nursing Clinics*. 91(1): 377-389.
- Okafor, R. O. S., B. D. Remi-Adewunmi, S. T. Faradason, J.O. Ayo, and S.M. Muhammed. 2014. Pathophysiological mechanisms of pain in animals-A review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. 6(5): 123-130.
- Ordonez, A. A. L., J. D. Gomez, M. A. Vattuone, dan M. I. Isla. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* Swart extract. *Food Chemistry*. 97: 425-458.
- Occupational Safety and Health. 2017. Ergonomic: Musculoskeletal disorder (MSDs). Online. [www.oshs.gov/SLTC/ergonomic/musculoskeletal-disorder-MSDs/](http://www.oshs.gov/SLTC/ergonomic/musculoskeletal-disorder-MSDs/).
- Oyebanji, O. B., Saba, dan A. Bernard. 2011. Phytochemistry and in vitro antioxidant activities of *Stellaria media*, *Cajanus cajan* and *Tetracera potatoria* methanolic extract. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(30): 6622-6627.
- Pal, D., S. Sannigrahi, dan U. K. Mazumder. 2009. Analgesic and anticonvulsant effect of saponins isolated from leaves of *Clenrodendrum infortunatum* Linn. In Mice. *Indian Journal of Experimental Biology*. 1(47): 743-747

- Patel, P. K., J. Sahu, dan S. S. Chandel. 2017. A detailed review on nociceptive models for the screening of analgesic activity in experimental animals. *International Journal of Neurologic Physical Therapy*. 2(6): 44-50.
- Patel, R. K., J. B. Patel, dan P. D. Trivedi. 2015. Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloid in the *Tinospora cordifolia* M. and its herbal formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(10): 249-251.
- Pejic, N., V. Kuntic, Z. Vujic, dan S. Micic. 2003. Direct spectrophotometric determination of quercetin in the presences of ascorbic acid. *IL Farmaco*. 59(1): 21-24.
- Pergolizzi, J. V., J. A. LeQuang, G.K. Berger, dan R. B. Raffa. 2017. The basic pharmacology of opioid informs the opioid discourse about misuse and abuse: A review. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 6: 1-16.
- Price, D. P. 2000. Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. *Journal of Neuroscience*. 288: 1769-1772.
- Puspitasari, H., S. Listyawati dan T. Widiyani. 2003. Aktivitas analgetik ekstrak umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) pada mencit putih (*Mus muscular* L.) jantan. *Biofarmasi*. 1(2):50-57
- Ramirez M.R., L. Guterres, O. E. Dickel, M. R. de Casto, A. T. Henriques, M. M. de Souza dan D. M. Barros. 2010. Preliminary studies on the antinociceptive ctivity of *Vaccinum asheiberry* in experimental animal models. *Journal of Medicinal Food*. 13(2): 336-342
- Rangel, J. C. S., J. Benavides, J. B. Heredia, L. C. Zevallos, dan D. A. J. Velazquez. 2013. The folin-ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*. 5: 5990-5999.
- Ritu, N., S. Asheesh, dan B. Dinesh. 2012. Aspirin: An overview of randomized



controlled trials. *International Journal of Research in Pharmacy and Science*. 2(1): 53-67.

Rogowska, M., M. Lenart, S. Srecec, M. Ziada, A. Parzonko, dan A. Bazylko. 2017. Chemical composition, antioxidative and enzyme inhibition activities of chickweed herb (*Stellaria media* L. Vill) ethanolic and aqueous extracts. *Industrial Crops and Products*. 97: 448-454.

Samanta, A., G. Das, and S. K. Das. Roles of flavonoids in plants. 2011. *Internasional Journal Science Technology*. 6(1): 13-35.

Sarmah, P., A. Sarma, D. Kashyap, M. Mahanta, dan P. Medhi. 2014. Nutraceutical properties of *Stellaria media* (L.) Vill. And *Persicaria chinensis* (L.) H. Gross under Brahmaputra valley agro-climatic condition. *Annals of Plants Sciences*. 3(08): 779-782

Sasidharan, S., Y. Chen, D. Saravanan, K. M. Sundram, dan L. Y. Latha. 2011. Extraction, isolation, and characterization of bioactive compounds from plants extracts. *African Journal Traditional Complement Alternatif Medicine*. 8(1): 1-10.

Singh, A. S. Maholtra, dan R. Subban. 2008. Antiinflammatory and Analgesic Agents from Indian Medical Plants. *International Journal of Integrative Biology*. 3(1): 57-72.

Souto, A. L., J. F. Tavares, M. S. da Sliva, M. de F. M. Diniz, P. F. de A. Filho, dan J. M. B. Filho. 2011. Anti-inflammatory activity of alkaloid: an update from 200 to 2010. *Journal of molecules*. 16: 8515-8534.

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB.

Steeds, C. E. 2016. The anatomy and physiology of pain. *Journal Anaesthesia and Pain Medicine*. 34(2): 55-59.

- Steenis, C. G. J. V. 1972. *The Mountain Flora Of Java*. Netherlands. Terjemahan oleh J. A. Kartawinata. 2010. *Flora Pegunungan Jawa*. Jakarta: SMK Grafika Desa Putera.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA Anugrah Utama Raharja.
- Sukandar, E. Y., R. Andrajati, J. I. Sigit, I. K. Adnyana, A. A. P. Setiadi, dan Kusnandar. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale The Complete Drug Reference*. Thirty Six Edition. London: Pharmaceutical Press.
- Tansley, S. N., C. Wong, S. Uttam, J. S. Mogil, dan A. Khoutorsky. 2018. Translation regulation in the spinal dorsal horn: A key mechanism for development of chronic pain. *Journal of Neurobiology of Pain*. 19:1-7.
- Taskin, B dan L. Bitis. 2013. Antioxidant activity of *Silene alba* subsp. *Divaricata* and *Stellaria media* subsp. *Media* from Caryophyllaceae. *Journal of Spatula DD*. 3(1): 1-5
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1): 98-106
- Torpy, J. M., dan E. H. Livingston. 2013. Aspirin Therapy. *The Journal of American Medical Association*. 309(15): 1645.
- Turner, R. A. 1965. *Screening Methods in Pharmacology*. New York: Academic Press.
- Vanderah, T. W. 2006. Pathophysiology of Pain. *Journal of Pharmacology and Anesthesiology*. 91: 1-12.

Verri, W. A., F. T. M. C. Vicentini, M. M. Baracat, S. R. Georgetti, R. D. R. Cardoso, T. M. Cunha, S. H. Ferreira, F. Q. Cunha, M. J. V. Fonseca, dan R. Casagrande. 2012. Flavonoid as anti-inflammatory and analgesic drugs: Mechanisms of action and perspective of pharmaceutical form. *Bioactive Natural Product*. 36: 297-330.

Wemay, M. A., Fatmawati, dan F. Wehantouw. 2013. Uji fitokimia dan aktivitas analgesik ekstrak etanol tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) pada tikus putih betina galur wistarv (*Rattus novogicus* L). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(3): 4-8

Xiao, X. X. Wang, X. Gui, L. Chen, dan B. Huang. 2016. Natural flavonoids as promising analgesic candidates: a systematic review. *African Journal Traditional Complement Alternatif Medicine*. 6(3): 1-37

Yaksh, T. L. 1997. Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity. *Journal of Anesthesiology*. 41: 94-111.

## LAMPIRAN 1

### HASIL DETERMINASI

#### 1.1 Hasil Determinasi Tumbuhan Tepung Otot (*Stellaria vestita*)



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



#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 153 /IPH.06/HM/IX/2017

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

Nama : Eva Wulandari  
 NIM : 142210101063  
 Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember  
 Tanggal material : 18 September 2017  
 diterima

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Subclass : Caryophyllidae  
 Ordo : Caryophyllales  
 Family : Caryophyllaceae  
 Genus : *Stellaria*  
 Species no.1 : *Stellaria vestita* Kurz  
 Species no.2 : *Stellaria media* (L.) Vill

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.III. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 644
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIV
3. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.III. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 207

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 25 September 2017  
 An. Kepala  
 Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan

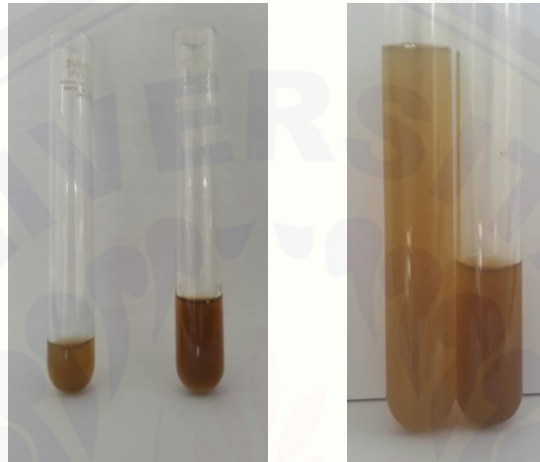


Deden Mudjana, S.Hut., M.

## LAMPIRAN 2

### SKRINING FITOKIMIA

#### 2.1 Hasil Skrining Fitokimia Tanin



(a)

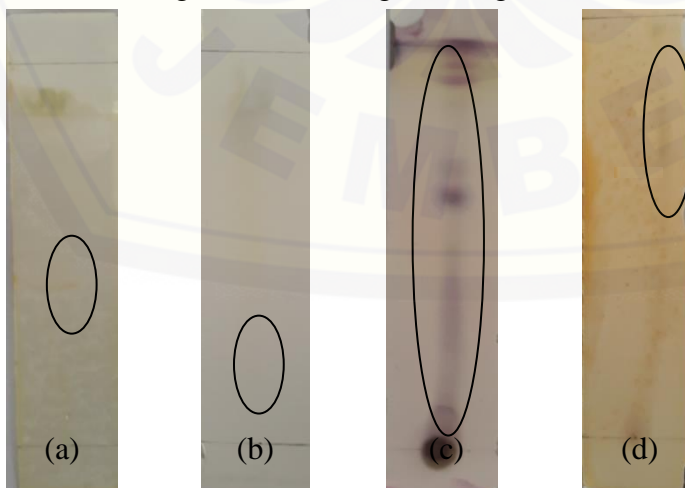
(b)

Gambar Skrining Senyawa Golongan Tanin

Keterangan : (a) Blanko-Uji ferriklorida menunjukkan perubahan warna menjadi coklat kehitaman

(b) Uji gelatin tidak menunjukkan adanya endapan

#### 2.2 Hasil Skrining Fitokimia dengan Penegasan KLT



(a)

(b)

(c)

(d)

- Keterangan :
- (a) KLT-Alkaloid (Terdapat noda berwarna jingga)
  - (b) KLT-Flavonoid (Terdapat noda berwarna kuning)
  - (c) KLT-Glikosida Saponin, Triterpenoid, dan Steroid (Terdapat noda berwarna ungu)
  - (d) KLT-Polifenol (Terdapat noda berwarna hitam)



### LAMPIRAN 3

#### PERHITUNGAN

#### 3.1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Tepung Otot (*S. vestita*)

Berat ekstrak yang diperoleh : 10,208 gram

Berat bahan yang diekstrak : 400 gram

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang di ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{10,208 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,55\% \end{aligned}$$

#### 3.2 Perhitungan dalam Pengujian Fenol Total Ekstrak Etanol Tepung Otot

##### 1. Pembuatan larutan folin

Folin sebanyak 1 mL diencerkan dengan akuades hingga 10 mL.

##### 2. Pembuatan $\text{Na}_2\text{CO}_3$

$\text{Na}_2\text{CO}_3$  sebanyak 7,5 gram dilarutkan dalam 100 mL akuades.

##### 3. Pembuatan larutan standar asam galat

- Larutan induk standar asam galat

$$\frac{0,0313 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 313 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

- Pengenceran larutan induk standar asam galat

a)  $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 = 31,3 \text{ } \mu\text{g/mL}$

b)  $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 = 62,6 \text{ } \mu\text{g/mL}$

c)  $\frac{1,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 = 93,9 \text{ } \mu\text{g/mL}$

d)  $\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 = 125,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$

## 4. Pembuatan ekstrak uji

$$\frac{90 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 9000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Ekstrak sebanyak 90 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% sehinggadiperoleh konsentrasi 9000  $\mu\text{g/mL}$ . Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

## 5. Pembuatan larutan blanko

0,5 mL etanol ditambahkan dengan 5 mL Folin kemudian didiamkan selama 5 menit di dalam tabung reaksi. Setelah itu, ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan dikocok 15 detik. Campuran larutan didiamkan selama 45 menit.

## 6. Perhitungan kadar fenol total

## • Replikasi 1

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,407 = 0,005x + 0,185$$

$$x = \frac{0,407 - 0,185}{0,005}$$

$$x = 44,4 \text{ } \mu\text{g GAE/mL}$$

$$\text{Kadar fenol total} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 44,4 \text{ } \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0923 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4810,401 \text{ } \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4,810 \text{ } \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

## • Replikasi 2

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,424 = 0,005x + 0,185$$

$$x = \frac{0,424 - 0,185}{0,005}$$

$$x = 47,8 \text{ } \mu\text{g GAE/mL}$$

$$\text{Kadar fenol total} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$



$$\text{Kadar fenol total} = 47,8 \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0925 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 5167,568 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 5,167 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

- Replikasi 3

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,408 = 0,005x + 0,185$$

$$x = \frac{0,424 - 0,185}{0,005}$$

$$x = 44,6 \mu\text{g GAE/mL}$$

$$\text{Kadar fenol total} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 44,6 \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0923 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4832,069 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4,832 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Rata-rata \%b/b} = \frac{4,810 + 5,167 + 4,832}{3}$$

$$= 4,936 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

Jadi, setiap satu gram ekstrak etanolik 96% tepung otot (*S. vestita*) mengandung senyawa fenol total yang setara dengan 4,936  $\mu\text{g}$  asam galat.

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{(4,936 - 4,810)^2 + (4,936 - 5,167)^2 + (4,936 - 4,832)^2}}{3-1}$$

$$= \sqrt{\frac{0,016 + 0,053 + 0,011}{2}}$$

$$= 0,200$$

$$\text{CV} = \frac{0,200}{4,936} \times 100 = 4$$

### 3.3 Perhitungan dalam Pengujian Flavonoid Ekstrak Etanol Tepung Otot

#### 1. Pembuatan $AlCl_3$

$AlCl_3$  sebanyak 2,5 gram dilarutkan dalam etanol 96% hingga 25 mL.

#### 2. Pembuatan kalium asetat

Kalium asetat sebanyak 0,98 gram dilarutkan dalam akuades hingga 10 mL.

#### 3. Pembuatan larutan standar kuersetin

- Larutan induk standar kuersetin

$$\frac{20,9 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 2090 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{40,7 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 4070 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

- Pengenceran larutan induk standar kuersetin

$$\text{a) } \frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2090 = 20,9 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4070 = 81,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{c) } \frac{0,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2090 = 104,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\text{d) } \frac{0,7 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2090 = 146,3 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

#### 4. Pembuatan ekstrak uji

$$\frac{0,0500 \text{ g}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Ekstrak sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 9000  $\mu\text{g/mL}$ . Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

#### 5. Perhitungan kadar kuersetin

- Replikasi 1

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,492 = 0,005x + 0,277$$

$$x = \frac{0,492 - 0,277}{0,005}$$

$$x = 43 \text{ } \mu\text{g QE/mL}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 43 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0500 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 8600 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 8,600 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

- Replikasi 2

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,552 = 0,005x + 0,277$$

$$x = \frac{0,552 - 0,277}{0,005}$$

$$x = 55 \mu\text{g QE/mL}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 55 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 10934 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 10,934 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

- Replikasi 3

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,554 = 0,005x + 0,277$$

$$x = \frac{0,554 - 0,277}{0,005}$$

$$x = 55,4 \mu\text{g QE/mL}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 55,4 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0505 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 10970 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 10,970 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Rata-rata \%b/b} = \frac{8,600 + 10,934 + 10,970}{3}$$

$$= 10,168 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

Jadi, setiap satu gram ekstrak etanolik 96% tepung otot (*S. vestita*) mengandung flavonoid yang setara dengan 10,168  $\mu\text{g}$  kuersetin.

$$\begin{aligned}
 SD &= \frac{\sqrt{(10,168-8,600)^2+(10,168-10,934)^2+(10,168-10,970)^2}}{3-1} \\
 &= \sqrt{\frac{2,459+0,587+0,643}{2}} \\
 &= 1,358 \\
 CV &= \frac{1,358}{10,168} \times 100 = 13,35
 \end{aligned}$$

### 3.4 Perhitungan dalam Pengujian Alkaloid Ekstrak Etanol Tepung Otot

#### 1. Bromocresol green (BCG) $10^{-4}$ M

$$N = \frac{m}{Mr} \times \frac{1}{V(L)} \times e$$

$$2 \text{ mol/L} = \frac{m}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,025} \times 1$$

$$m = 2 \text{ gram}$$

*Bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$ M sebanyak 2 gram dilarutkan dengan 1 liter akuades.

#### 2. Dapar fosfat

→ Natrium fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 2 M

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$2 \text{ M} = \frac{m}{358,2 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$m = 71,6 \text{ gram}$$

→ Asam sitrat monohidrat 0,2 M

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{m}{210,14} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$m = 42,028 \text{ gram}$$

#### 3. NaOH 2N

$$N = \frac{m}{Mr} \times \frac{1}{V(L)} \times e$$

$$2 N = \frac{m}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,025L} \times 1$$

$$m = 2 \text{ gram}$$

#### 4. HCl 2N

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 N \times V_1 = 2N \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2N \times 50 \text{ mL}}{12 N}$$

$$V_1 = 8,33 \text{ mL}$$

#### 5. Pembuatan larutan standar berberin

- Larutan induk standar berberin

$$\frac{1,02 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 102 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

- Pengenceran larutan induk standar berberin

$$\text{a) } \frac{1,02 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 = 4,08 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{b) } \frac{0,6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 = 6,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{c) } \frac{0,8 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 = 8,16 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{d) } \frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 = 10,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{e) } \frac{1,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 = 14,28 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

#### 6. Pembuatan ekstrak uji

$$\frac{0,0500 \text{ g}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Ekstrak sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 5000  $\mu\text{g/mL}$ . Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

#### 7. Perhitungan kadar berberin

- Replikasi 1

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,376 = 0,069x - 0,091$$

$$x = \frac{0,376 + 0,091}{0,069}$$

$$x = 6,768 \mu\text{g BE/mL}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 6,768 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1345 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,345 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

- Replikasi 2

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,393 = 0,069x - 0,091$$

$$x = \frac{0,393 + 0,091}{0,069}$$

$$x = 7,014 \mu\text{g BE/mL}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 7,014 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0506 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1386 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,386 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

- Replikasi 3

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,383 = 0,069x - 0,091$$

$$x = \frac{0,383 + 0,091}{0,069}$$

$$x = 6,869 \mu\text{g BE/mL}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 6,869 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0504 \text{ gram}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1362 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,362 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Rata-rata \%b/b} = \frac{1,345 + 1,386 + 1,362}{3}$$

$$= 1,364 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

Jadi, setiap satu gram ekstrak etanolik 96% tepung otot (*S. vestita*) mengandung alkaloid yang setara dengan 1,364  $\mu\text{g}$  berberin.

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \frac{\sqrt{(1,364-1,345)^2+(1,364-1,386)^2+(1,364-1,362)^2}}{3-1} \\ &= \sqrt{\frac{3,61 \times 10^{-4} + 4,84 \times 10^{-4} + 4 \times 10^{-6}}{2}} \\ &= 0,021 \\ \text{CV} &= \frac{0,021}{1,364} \times 100 = 1,539 \end{aligned}$$

### 3.5 Perhitungan Dosis

#### a. Dosis Asetosal

Dosis asetosal orang dewasa : 500 mg/kgBB

Konversi dosis ke mencit :

$$\begin{aligned} 500 \text{ mg asetosal pada manusia} &\sim 500 \text{ mg} \times 0,0026 \text{ pada mencit} \\ &= 1,3 \text{ mg}/20 \text{ gBB} \\ &= 65 \text{ mg}/\text{KgBB} \end{aligned}$$

Volume pemberian ke mencit 0,2 mL/20 gBB

Volume pembuatan sediaan asetosal yaitu 10 mL

$$1,3 \text{ mg}/20 \text{ gBB} \sim 0,2 \text{ mL}/20 \text{ gBB}$$

$$\frac{1,3 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 65 \text{ mg}$$

Pembuatan sediaan asetosal dengan cara menimbang 65 mg asetosal dan ditambahkan dengan CMC Na 1% hingga 10 mL.

#### b. Dosis Ekstrak

Dosis ekstrak etanol 96% tepung otot (*S. vestita*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB.

## 1. Dosis 100 mg/kgBB

$$\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 2 \text{ mg}$$

$$\frac{2 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 100 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 100 mg/kgBB adalah menimbang ekstrak sebanyak 100 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.

## 2. Dosis 200 mg/kgBB

$$\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 4 \text{ mg}$$

$$\frac{4 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 200 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 200 mg/kgBB adalah menimbang ekstrak sebanyak 200 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.

## 3. Dosis 400 mg/kgBB

$$\frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 8 \text{ mg}$$

$$\frac{8 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 400 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 400 mg/kgBB adalah menimbang ekstrak sebanyak 400 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.



c. Dosis Asam Asetat 0,6%

$$\frac{1 \text{ ml}}{50 \text{ ml}} \times 100\% = 2\%$$

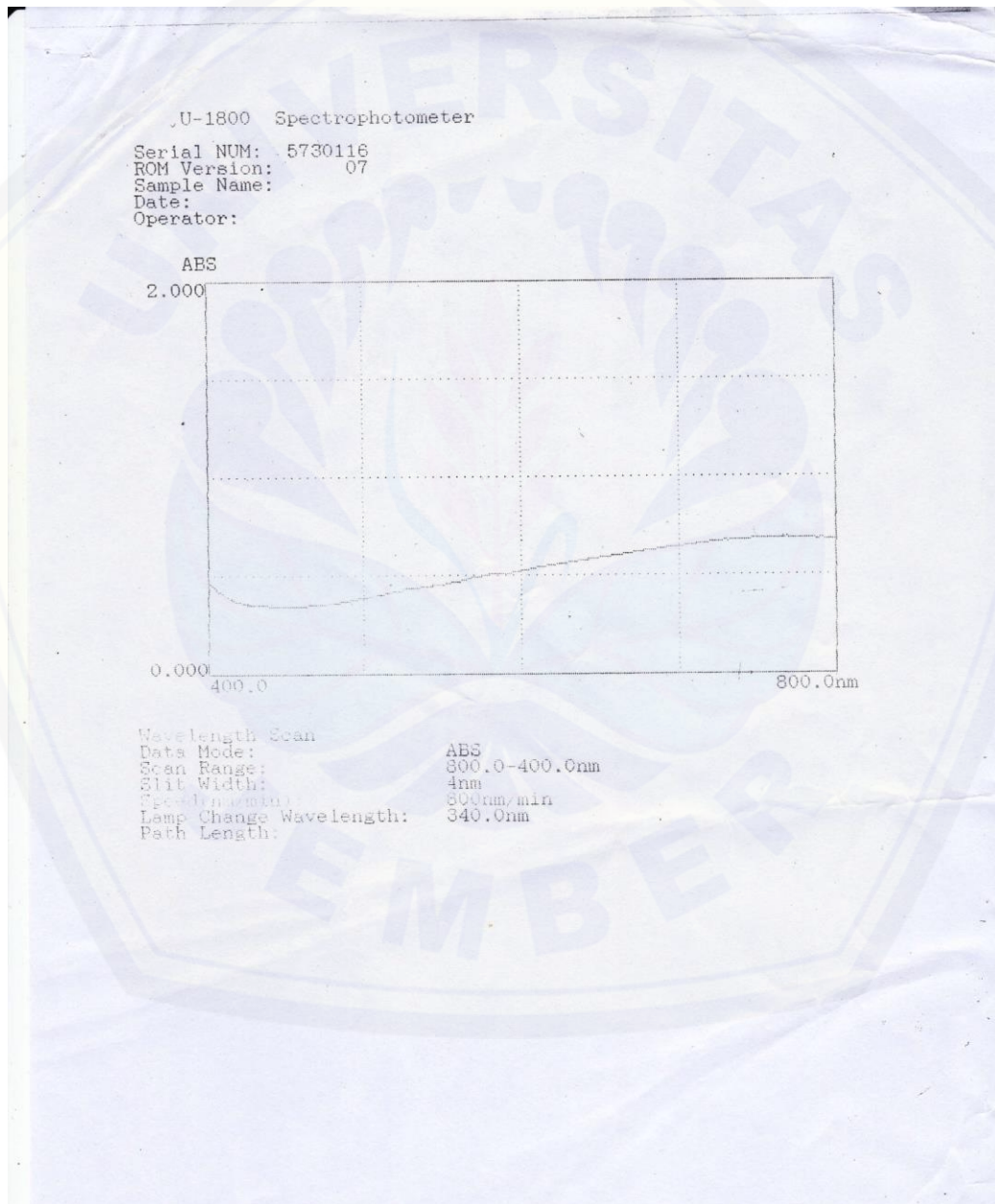
$$\frac{3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2\% = 0,6\%$$

Pembuatan larutan asam asetat 0,6% dengan cara memipet 1 mL larutan asam asetat glasial yang ditambahkan dengan akuades steril ad 50 mL. Kemudian dipipet 3 mL ditambahkan akuades ad 10 mL.



## LAMPIRAN 4

## HASIL SCANNING PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM

4.1 Hasil *Scanning* Panjang Gelombang Standara. Hasil *Scanning* Panjang Gelombang Standar Asam Galat 60  $\mu\text{g/mL}$ 

U-1800 Spectrophotometer

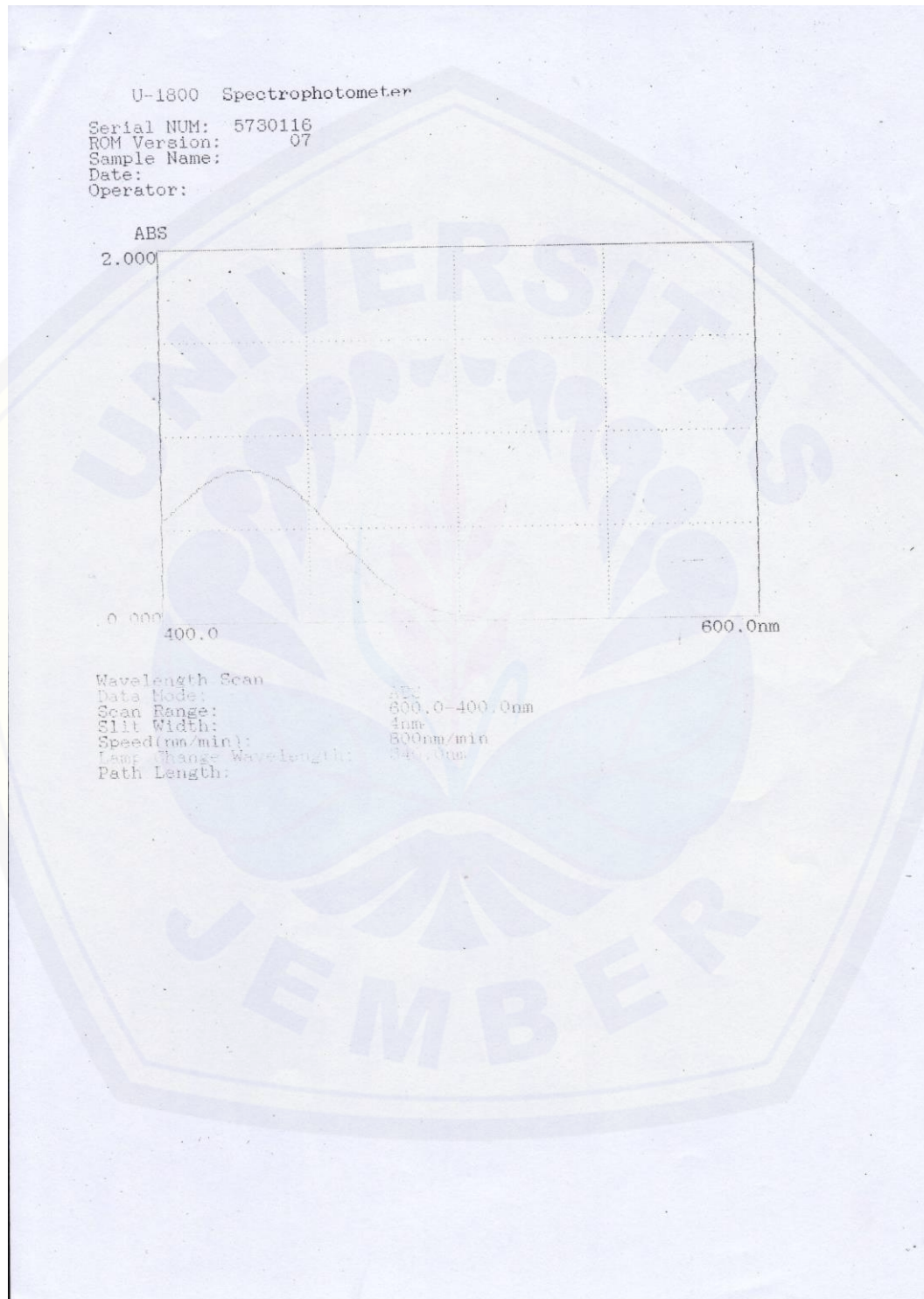
Serial NUM: 5730116  
 ROM Version: 07  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

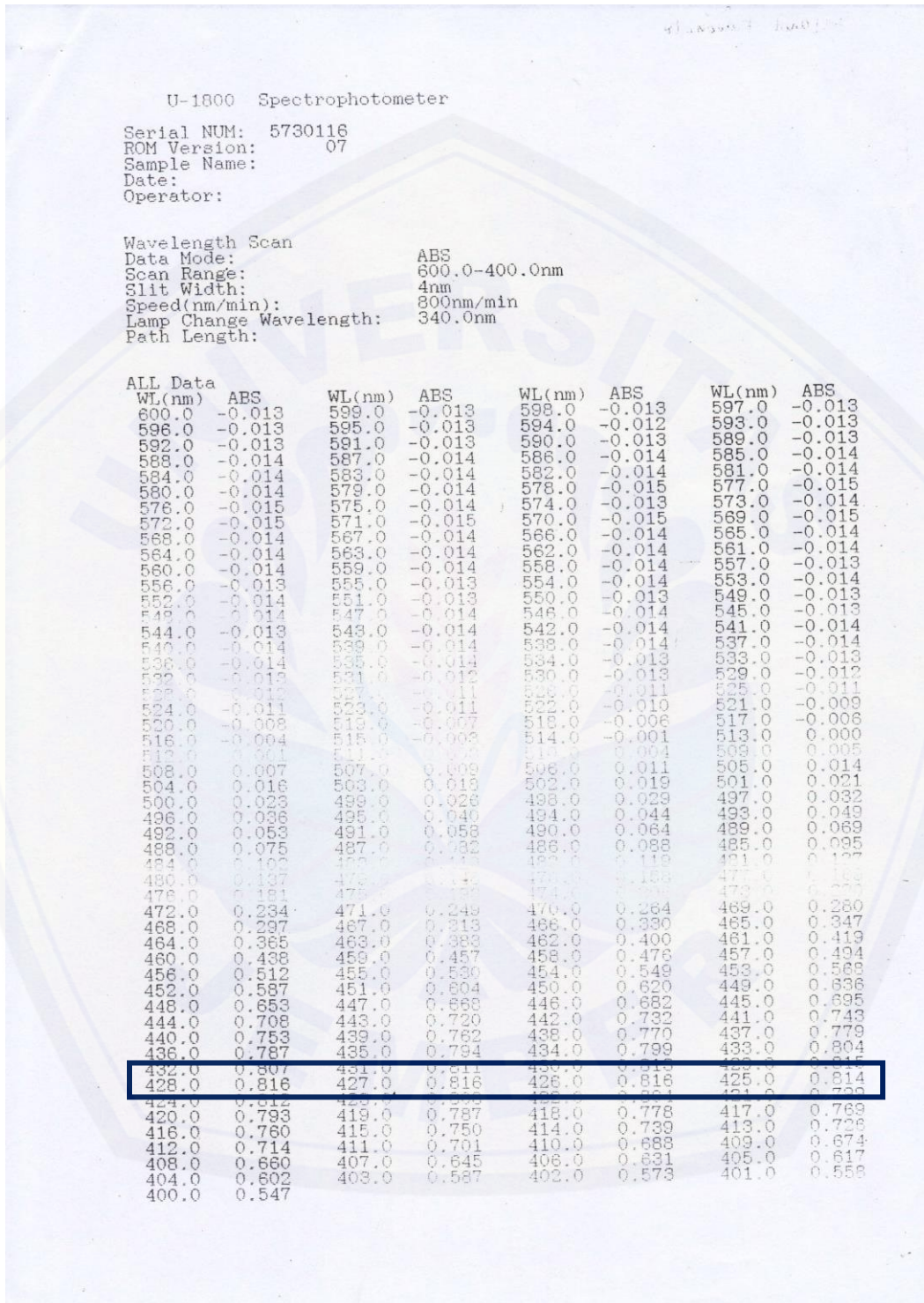
Wavelength Scan  
 Data Mode: ABS  
 Scan Range: 800.0-400.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 800nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

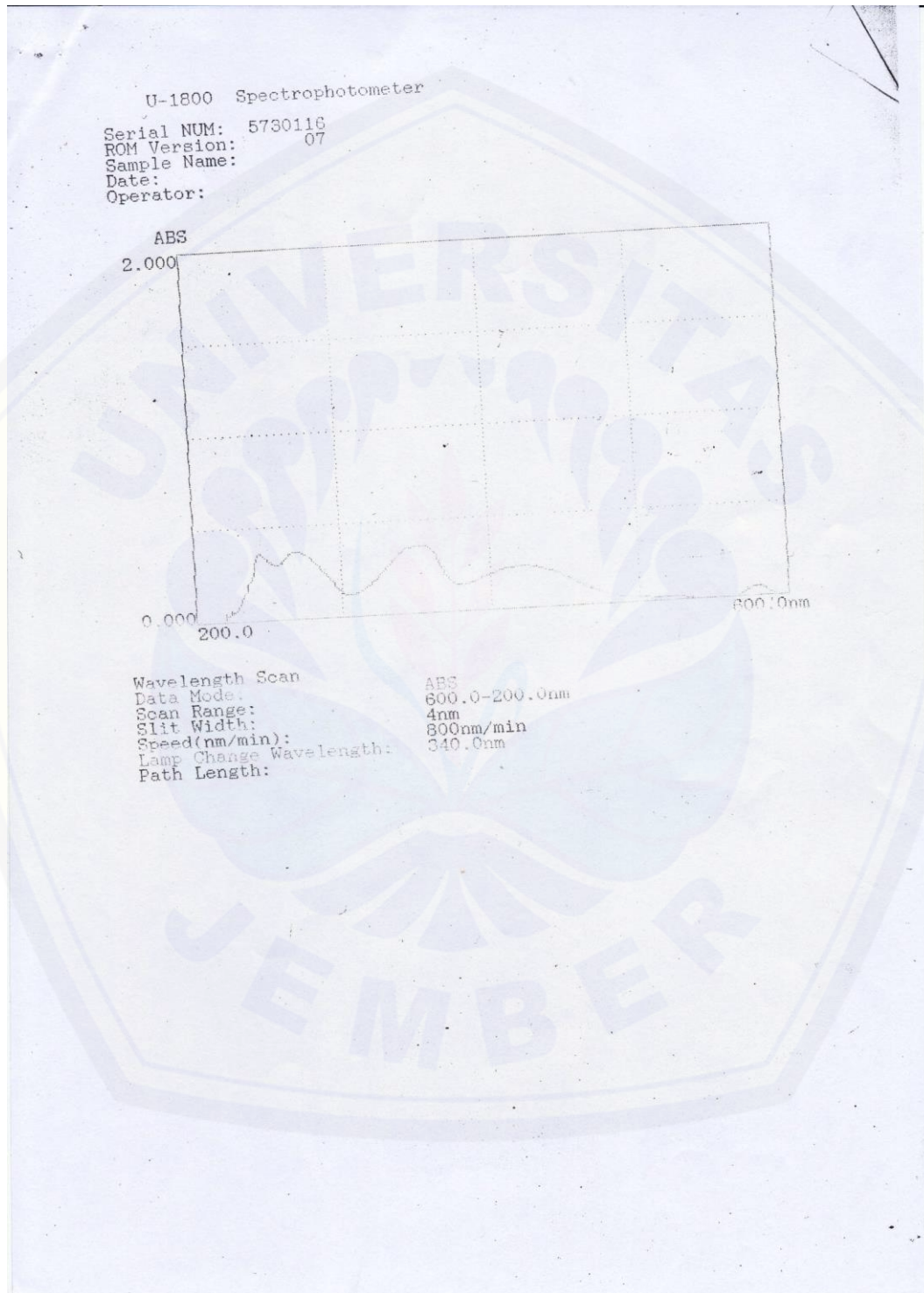
ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.673	799.0	0.673	798.0	0.674	797.0	0.674
796.0	0.675	795.0	0.675	794.0	0.676	793.0	0.676
792.0	0.677	791.0	0.680	790.0	0.680	789.0	0.678
788.0	0.677	787.0	0.678	786.0	0.679	785.0	0.679
784.0	0.680	783.0	0.681	782.0	0.683	781.0	0.684
780.0	0.683	779.0	0.683	778.0	0.683	777.0	0.683
776.0	0.682	775.0	0.681	774.0	0.682	773.0	0.683
772.0	0.682	771.0	0.682	770.0	0.683	769.0	0.683
768.0	0.686	767.0	0.686	766.0	0.686	765.0	0.686
764.0	0.686	763.0	0.686	762.0	0.686	761.0	0.686
760.0	0.685	759.0	0.684	758.0	0.684	757.0	0.684
756.0	0.684	755.0	0.684	754.0	0.683	753.0	0.683
752.0	0.682	751.0	0.681	750.0	0.680	749.0	0.678
748.0	0.678	747.0	0.679	746.0	0.679	745.0	0.678
744.0	0.677	743.0	0.677	742.0	0.677	741.0	0.676
740.0	0.675	739.0	0.675	738.0	0.673	737.0	0.672
736.0	0.672	735.0	0.671	734.0	0.671	733.0	0.671
732.0	0.670	731.0	0.669	730.0	0.669	729.0	0.670
728.0	0.670	727.0	0.669	726.0	0.668	725.0	0.667
724.0	0.666	723.0	0.665	722.0	0.665	721.0	0.664
720.0	0.663	719.0	0.662	718.0	0.661	717.0	0.660
716.0	0.659	715.0	0.658	714.0	0.657	713.0	0.656
712.0	0.655	711.0	0.654	710.0	0.653	709.0	0.652
708.0	0.651	707.0	0.649	706.0	0.648	705.0	0.647
704.0	0.646	703.0	0.645	702.0	0.644	701.0	0.644
700.0	0.644	699.0	0.644	698.0	0.642	697.0	0.641
696.0	0.639	695.0	0.639	694.0	0.637	693.0	0.637
692.0	0.637	691.0	0.635	690.0	0.634	689.0	0.633
688.0	0.632	687.0	0.631	686.0	0.630	685.0	0.629
684.0	0.627	683.0	0.626	682.0	0.625	681.0	0.624
680.0	0.623	679.0	0.622	678.0	0.621	677.0	0.620
676.0	0.619	675.0	0.618	674.0	0.616	673.0	0.615
672.0	0.614	671.0	0.612	670.0	0.611	669.0	0.610
668.0	0.609	667.0	0.607	666.0	0.607	665.0	0.605
664.0	0.604	663.0	0.603	662.0	0.601	661.0	0.600
660.0	0.599	659.0	0.598	658.0	0.597	657.0	0.596
656.0	0.595	655.0	0.594	654.0	0.593	653.0	0.591
652.0	0.590	651.0	0.589	650.0	0.588	649.0	0.586
648.0	0.585	647.0	0.584	646.0	0.583	645.0	0.582
644.0	0.581	643.0	0.579	642.0	0.578	641.0	0.577
640.0	0.576	639.0	0.575	638.0	0.574	637.0	0.572
636.0	0.571	635.0	0.570	634.0	0.569	633.0	0.568
632.0	0.566	631.0	0.564	630.0	0.562	629.0	0.561
628.0	0.561	627.0	0.559	626.0	0.558	625.0	0.557
624.0	0.556	623.0	0.555	622.0	0.554	621.0	0.552
620.0	0.551	619.0	0.550	618.0	0.548	617.0	0.547
616.0	0.546	615.0	0.545	614.0	0.543	613.0	0.541
612.0	0.540	611.0	0.539	610.0	0.537	609.0	0.536
608.0	0.535	607.0	0.533	606.0	0.531	605.0	0.528
604.0	0.527	603.0	0.526	602.0	0.525	601.0	0.524
600.0	0.521	599.0	0.517	598.0	0.515	597.0	0.514
596.0	0.512	595.0	0.512	594.0	0.511	593.0	0.510
592.0	0.509	591.0	0.509	590.0	0.508	589.0	0.507
588.0	0.506	587.0	0.506	586.0	0.505	585.0	0.505
584.0	0.505	583.0	0.506	582.0	0.505	581.0	0.504
580.0	0.504	579.0	0.503	578.0	0.501	577.0	0.500
576.0	0.498	575.0	0.495	574.0	0.493	573.0	0.491
572.0	0.489	571.0	0.488	570.0	0.487	569.0	0.488
568.0	0.488	567.0	0.484	566.0	0.479	565.0	0.478
564.0	0.477	563.0	0.475	562.0	0.473	561.0	0.471
560.0	0.469	559.0	0.467	558.0	0.466	557.0	0.464
556.0	0.462	555.0	0.460	554.0	0.459	553.0	0.458

552.0	0.455	551.0	0.452	550.0	0.451	549.0	0.450
548.0	0.449	547.0	0.448	546.0	0.447	545.0	0.446
544.0	0.445	543.0	0.444	542.0	0.443	541.0	0.442
540.0	0.441	539.0	0.440	538.0	0.439	537.0	0.438
536.0	0.436	535.0	0.436	534.0	0.435	533.0	0.433
532.0	0.431	531.0	0.430	530.0	0.431	529.0	0.433
528.0	0.435	527.0	0.435	526.0	0.432	525.0	0.428
524.0	0.422	523.0	0.419	522.0	0.418	521.0	0.417
520.0	0.415	519.0	0.414	518.0	0.413	517.0	0.411
516.0	0.409	515.0	0.407	514.0	0.406	513.0	0.404
512.0	0.403	511.0	0.401	510.0	0.400	509.0	0.398
508.0	0.398	507.0	0.395	506.0	0.393	505.0	0.392
504.0	0.390	503.0	0.388	502.0	0.386	501.0	0.384
500.0	0.382	499.0	0.381	498.0	0.380	497.0	0.379
496.0	0.378	495.0	0.376	494.0	0.374	493.0	0.373
492.0	0.372	491.0	0.370	490.0	0.368	489.0	0.365
488.0	0.362	487.0	0.361	486.0	0.362	485.0	0.362
484.0	0.361	483.0	0.359	482.0	0.357	481.0	0.357
480.0	0.356	479.0	0.355	478.0	0.354	477.0	0.353
476.0	0.352	475.0	0.351	474.0	0.350	473.0	0.350
472.0	0.349	471.0	0.348	470.0	0.347	469.0	0.346
468.0	0.346	467.0	0.345	466.0	0.344	465.0	0.344
464.0	0.344	463.0	0.343	462.0	0.342	461.0	0.342
460.0	0.342	459.0	0.341	458.0	0.341	457.0	0.341
456.0	0.341	455.0	0.341	454.0	0.341	453.0	0.341
452.0	0.340	451.0	0.341	450.0	0.342	449.0	0.342
448.0	0.342	447.0	0.341	446.0	0.342	445.0	0.342
444.0	0.342	443.0	0.342	442.0	0.342	441.0	0.342
440.0	0.342	439.0	0.343	438.0	0.343	437.0	0.343
436.0	0.344	435.0	0.344	434.0	0.344	433.0	0.345
432.0	0.345	431.0	0.346	430.0	0.346	429.0	0.347
428.0	0.348	427.0	0.349	426.0	0.350	425.0	0.351
424.0	0.353	423.0	0.354	422.0	0.355	421.0	0.357
420.0	0.360	419.0	0.363	418.0	0.365	417.0	0.367
416.0	0.369	415.0	0.373	414.0	0.377	413.0	0.381
412.0	0.386	411.0	0.390	410.0	0.395	409.0	0.400
408.0	0.406	407.0	0.412	406.0	0.418	405.0	0.424
404.0	0.431	403.0	0.439	402.0	0.447	401.0	0.455
400.0	0.482						

b. Hasil *Scanning* Panjang Gelombang Standar Kuersetin 20  $\mu\text{g/mL}$ 



c. Hasil *Scanning Panjang Gelombang* Standar Berberin 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116  
 ROM Version: 07  
 Sample Name:  
 Date:  
 Operator:

Wavelength Scan  
 Data Mode: AES  
 Scan Range: 600.0-200.0nm  
 Slit Width: 4nm  
 Speed(nm/min): 800nm/min  
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm  
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	-0.015	599.0	-0.023	598.0	-0.026	597.0	-0.025
596.0	-0.024	595.0	-0.022	594.0	-0.020	593.0	-0.016
592.0	-0.011	591.0	-0.006	590.0	-0.000	589.0	0.005
588.0	0.011	587.0	0.017	586.0	0.023	585.0	0.030
584.0	0.035	583.0	0.040	582.0	0.045	581.0	0.049
580.0	0.050	579.0	0.049	578.0	0.042	577.0	0.046
576.0	0.043	575.0	0.039	574.0	0.035	573.0	0.031
572.0	0.026	571.0	0.021	570.0	0.017	569.0	0.014
568.0	0.011	567.0	0.008	566.0	0.005	565.0	0.002
564.0	-0.000	563.0	-0.003	562.0	-0.006	561.0	-0.008
560.0	-0.011	559.0	-0.014	558.0	-0.016	557.0	-0.018
556.0	-0.020	555.0	-0.022	554.0	-0.024	553.0	-0.025
552.0	-0.026	551.0	-0.026	550.0	-0.025	549.0	-0.025
548.0	-0.026	547.0	-0.025	546.0	-0.023	545.0	-0.021
544.0	-0.018	543.0	-0.016	542.0	-0.015	541.0	-0.012
540.0	-0.010	539.0	-0.008	538.0	-0.006	537.0	-0.004
536.0	-0.002	535.0	-0.000	534.0	0.002	533.0	0.004
532.0	0.005	531.0	0.007	530.0	0.009	529.0	0.009
528.0	0.010	527.0	0.011	526.0	0.012	525.0	0.013
524.0	0.013	523.0	0.013	522.0	0.013	521.0	0.015
520.0	0.014	519.0	0.013	518.0	0.012	517.0	0.013
516.0	0.013	515.0	0.013	514.0	0.014	513.0	0.014
512.0	0.014	511.0	0.014	510.0	0.015	509.0	0.015
508.0	0.016	507.0	0.016	506.0	0.017	505.0	0.018
504.0	0.018	503.0	0.018	502.0	0.018	501.0	0.018
500.0	0.018	499.0	0.018	498.0	0.019	497.0	0.020
496.0	0.021	495.0	0.022	494.0	0.023	493.0	0.024
492.0	0.026	491.0	0.027	490.0	0.028	489.0	0.029
488.0	0.030	487.0	0.030	486.0	0.031	485.0	0.032
484.0	0.034	483.0	0.036	482.0	0.038	481.0	0.040
480.0	0.043	479.0	0.046	478.0	0.048	477.0	0.051
476.0	0.051	475.0	0.053	474.0	0.055	473.0	0.058
472.0	0.065	471.0	0.069	470.0	0.071	469.0	0.073
468.0	0.078	467.0	0.081	466.0	0.084	465.0	0.088
464.0	0.092	463.0	0.095	462.0	0.099	461.0	0.103
460.0	0.107	459.0	0.112	458.0	0.116	457.0	0.120
456.0	0.124	455.0	0.128	454.0	0.132	453.0	0.137
452.0	0.141	451.0	0.146	450.0	0.150	449.0	0.154
448.0	0.158	447.0	0.161	446.0	0.165	445.0	0.169
444.0	0.173	443.0	0.176	442.0	0.180	441.0	0.184
440.0	0.187	439.0	0.189	438.0	0.192	437.0	0.195
436.0	0.198	435.0	0.200	434.0	0.203	433.0	0.205
432.0	0.207	431.0	0.209	430.0	0.211	429.0	0.213
428.0	0.215	427.0	0.216	426.0	0.217	425.0	0.219
424.0	0.219	423.0	0.220	422.0	0.220	421.0	0.220
420.0	0.220	419.0	0.220	418.0	0.219	417.0	0.219
416.0	0.218	415.0	0.217	414.0	0.217	413.0	0.218
412.0	0.215	411.0	0.214	410.0	0.212	409.0	0.210
408.0	0.209	407.0	0.207	406.0	0.204	405.0	0.202
404.0	0.200	403.0	0.197	402.0	0.194	401.0	0.191
400.0	0.189	399.0	0.186	398.0	0.183	397.0	0.180
396.0	0.177	395.0	0.174	394.0	0.171	393.0	0.168
392.0	0.165	391.0	0.162	390.0	0.159	389.0	0.156
388.0	0.152	387.0	0.148	386.0	0.145	385.0	0.143
384.0	0.140	383.0	0.137	382.0	0.135	381.0	0.134
378.0	0.134	379.0	0.135	378.0	0.135	377.0	0.136
376.0	0.137	375.0	0.139	374.0	0.143	373.0	0.148
372.0	0.155	371.0	0.164	370.0	0.174	369.0	0.188

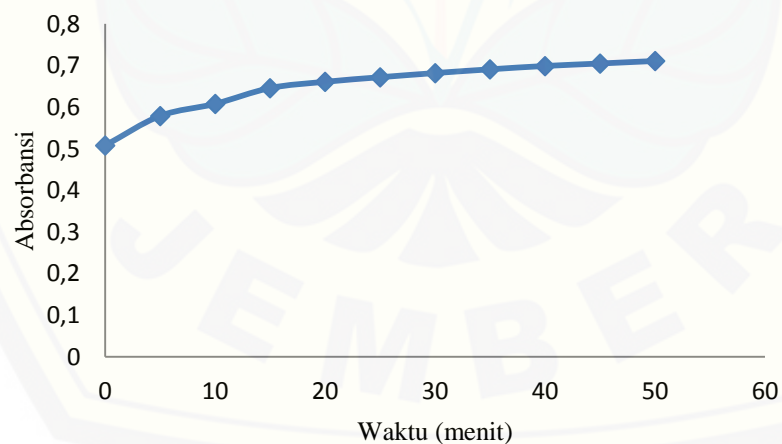


368.0	0.199	367.0	0.213	368.0	0.228	365.0	0.246
364.0	0.263	363.0	0.280	362.0	0.297	361.0	0.312
360.0	0.324	359.0	0.335	358.0	0.343	357.0	0.350
356.0	0.333	355.0	0.336	354.0	0.333	353.0	0.333
352.0	0.359	351.0	0.357	350.0	0.356	349.0	0.354
348.0	0.333	347.0	0.332	346.0	0.331	345.0	0.329
344.0	0.348	343.0	0.346	342.0	0.343	341.0	0.340
340.0	0.334	339.0	0.326	338.0	0.318	337.0	0.311
336.0	0.304	335.0	0.296	334.0	0.287	333.0	0.278
332.0	0.269	331.0	0.261	330.0	0.253	329.0	0.245
328.0	0.237	327.0	0.229	326.0	0.221	325.0	0.214
324.0	0.206	323.0	0.198	322.0	0.191	321.0	0.183
320.0	0.176	319.0	0.169	318.0	0.163	317.0	0.157
316.0	0.152	315.0	0.146	314.0	0.141	313.0	0.135
312.0	0.130	311.0	0.126	310.0	0.123	309.0	0.119
308.0	0.116	307.0	0.114	306.0	0.112	305.0	0.111
304.0	0.111	303.0	0.112	302.0	0.114	301.0	0.116
300.0	0.120	299.0	0.124	298.0	0.129	297.0	0.135
296.0	0.142	295.0	0.152	294.0	0.162	293.0	0.174
292.0	0.167	291.0	0.199	290.0	0.212	289.0	0.223
288.0	0.233	287.0	0.241	286.0	0.250	285.0	0.258
284.0	0.266	283.0	0.274	282.0	0.283	281.0	0.292
280.0	0.300	279.0	0.308	278.0	0.315	277.0	0.323
276.0	0.329	275.0	0.335	274.0	0.341	273.0	0.345
272.0	0.349	271.0	0.353	270.0	0.356	269.0	0.358
268.0	0.358	267.0	0.357	266.0	0.354	265.0	0.350
264.0	0.344	263.0	0.336	262.0	0.329	261.0	0.321
260.0	0.313	259.0	0.305	258.0	0.300	257.0	0.296
256.0	0.293	255.0	0.290	254.0	0.290	253.0	0.292
252.0	0.294	251.0	0.298	250.0	0.305	249.0	0.312
248.0	0.320	247.0	0.329	246.0	0.340	245.0	0.349
244.0	0.355	243.0	0.356	242.0	0.347	241.0	0.331
240.0	0.307	239.0	0.271	238.0	0.234	237.0	0.208
236.0	0.193	235.0	0.184	234.0	0.167	233.0	0.147
232.0	0.137	231.0	0.114	230.0	0.090	229.0	0.087
228.0	0.071	227.0	0.056	226.0	0.048	225.0	0.038
224.0	0.049	223.0	0.051	222.0	0.031	221.0	0.031
220.0	0.041	219.0	0.020	218.0	-0.012	217.0	-0.023
216.0	-0.012	215.0	-0.012	214.0	-0.035	213.0	-0.035
212.0	-0.023	211.0	-0.035	210.0	-0.059	209.0	-0.062
208.0	-0.038	207.0	-0.049	206.0	-0.072	205.0	-0.059
204.0	-0.035	203.0	-0.001	202.0	0.008	201.0	-0.016
200.0	-0.013						

**LAMPIRAN 5**  
**HASIL OPTIMASI WAKTU INKUBASI**

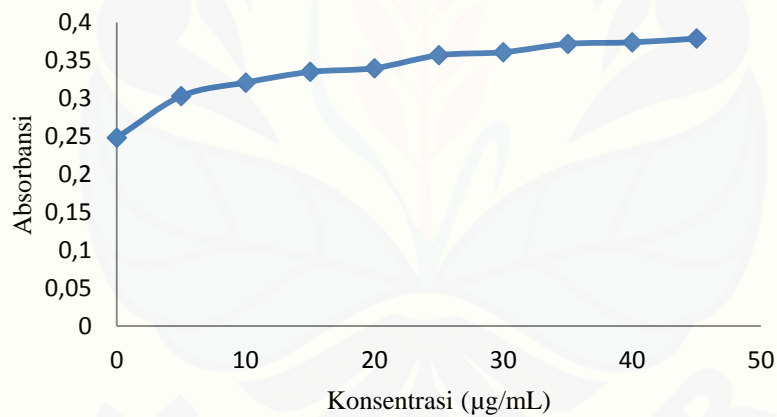
5.1 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Asam Galat 90  $\mu\text{g/mL}$

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,508
5	0,579
10	0,608
15	0,646
20	0,661
25	0,672
30	0,682
35	0,691
40	0,699
45	0,705
50	0,711
55	0,715
60	0,720



## 5.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Uji Fenol Total

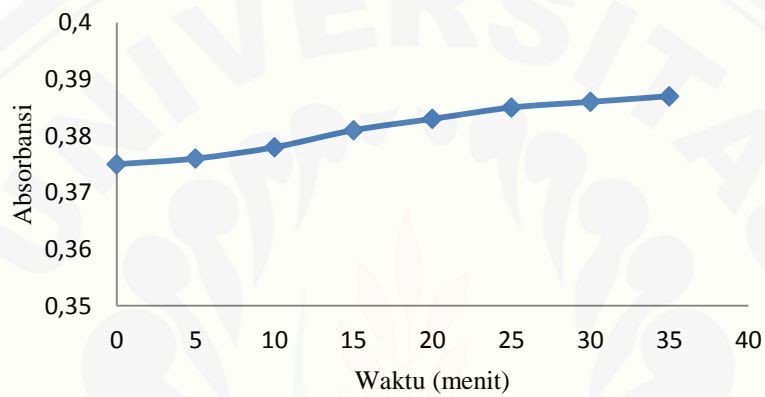
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,248
5	0,303
10	0,321
15	0,335
20	0,34
25	0,357
30	0,361
35	0,372
40	0,374
45	0,379
50	0,385
55	0,391
60	0,392



## 5.3 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin 20 µg/mL

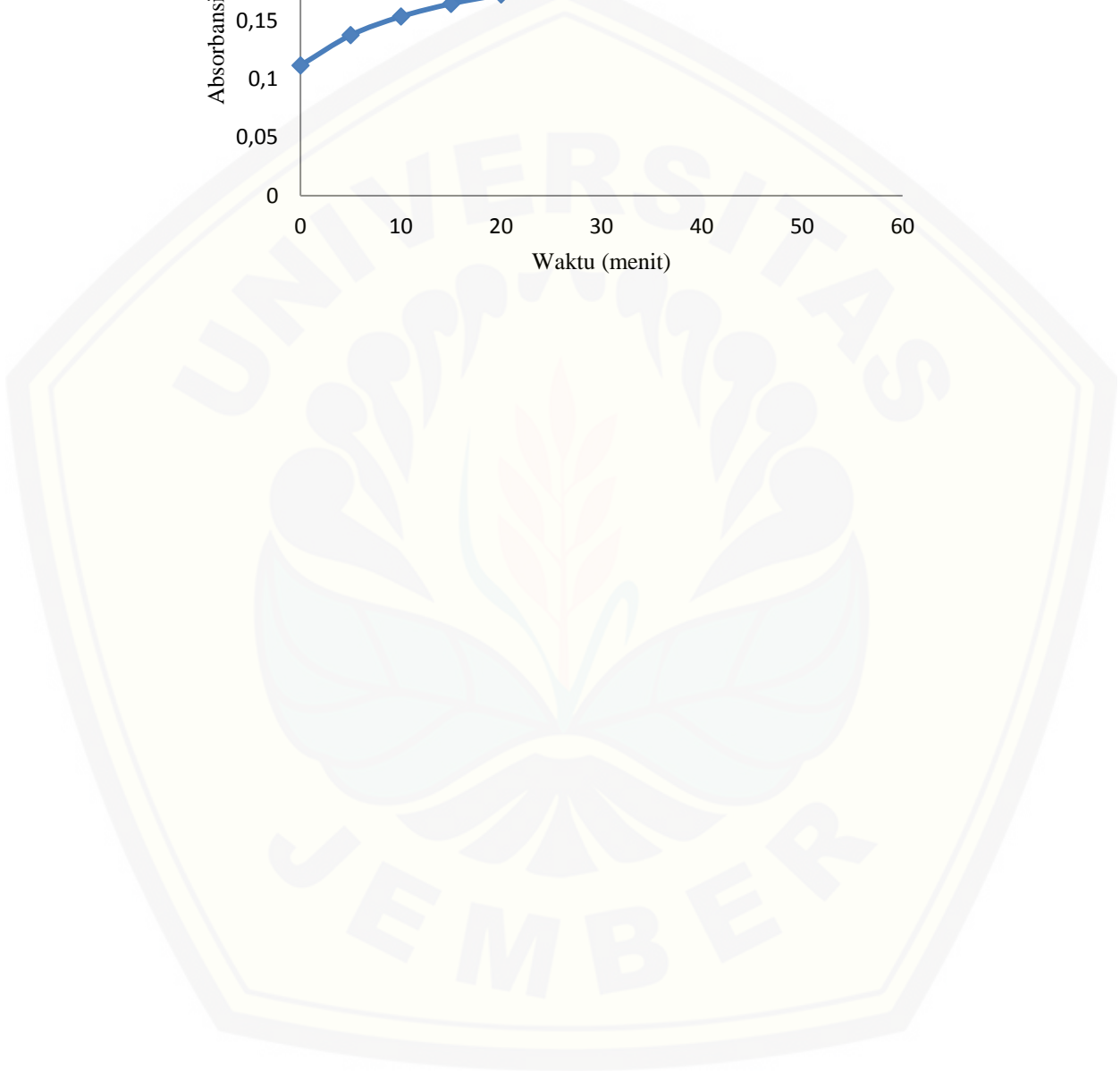
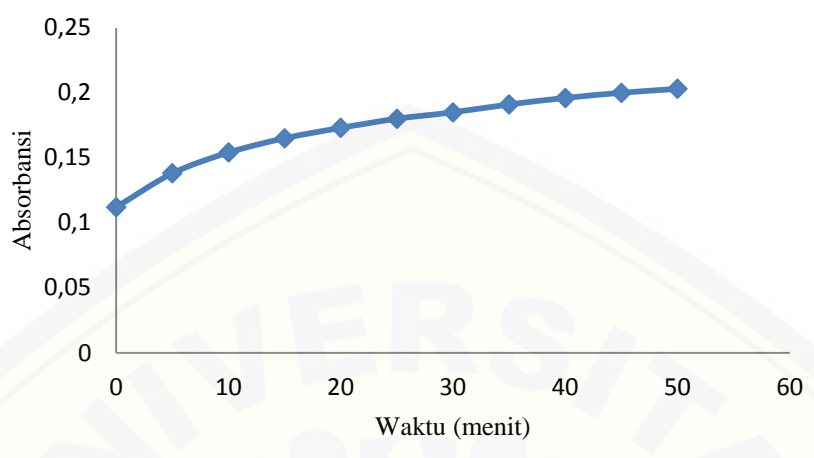
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,375
5	0,376
10	0,378
15	0,381
20	0,383
25	0,385

30	0,386
35	0,387
40	0,389
45	0,390
50	0,392
55	0,394
60	0,395



#### 5.4 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Uji Flavonoid

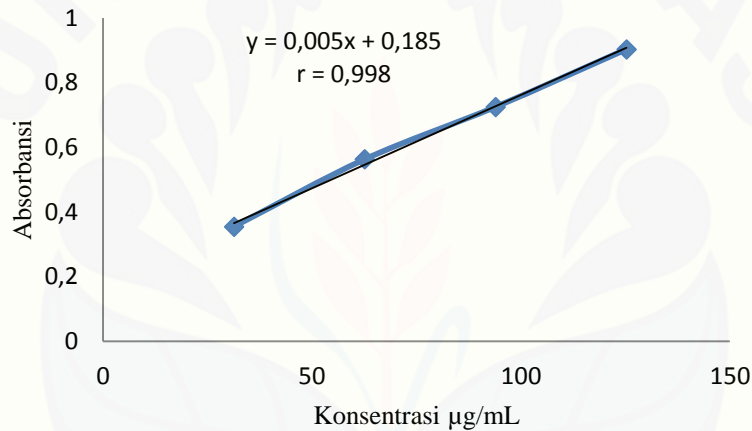
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,112
5	0,138
10	0,154
15	0,165
20	0,173
25	0,18
30	0,185
35	0,191
40	0,196
45	0,2
50	0,203
55	0,212
60	0,221



**LAMPIRAN 6**  
**DATA ANALISIS KANDUNGAN FENOL TOTAL**

6.1 Hasil Analisis Larutan Standar Asam Galat

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi
31,3	0,355
62,6	0,563
93,9	0,725
125,2	0,903



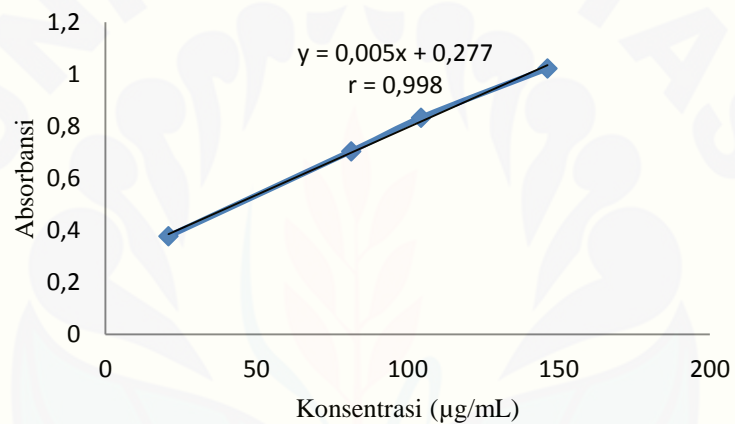
6.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Uji Fenol Total

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi	Kadar Fenol Total (mg GAE/g ekstrak)
1.	0,0923	0,407	44,4	4,810
2.	0,0924	0,424	47,8	5,167
3.	0,0923	0,408	44,6	4,832

**LAMPIRAN 7**  
**DATA ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID**

7.1 Hasil Analisis Larutan Standar Kuersetin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi
20,9	0,378
81,4	0,705
104,5	0,834
146,3	1,023



7.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Uji Flavonoid

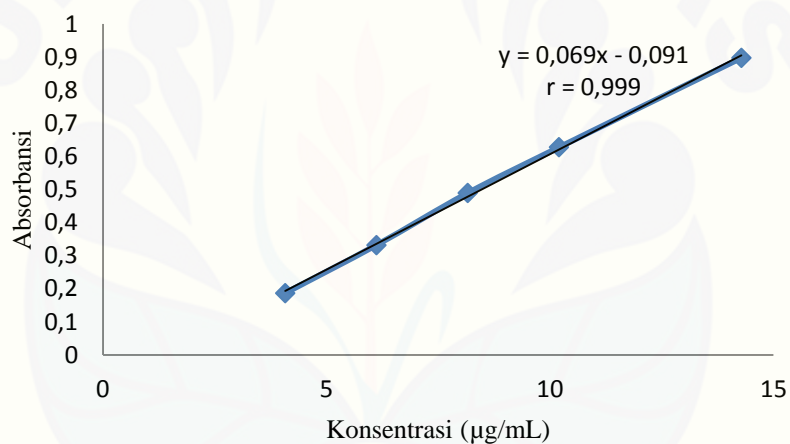
Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi	Kadar Fenol Total (mg QE/g ekstrak)
1.	0,0500	0,492	43	8,600
2.	0,0503	0,552	55	10,934
3.	0,0505	0,554	55,4	10,970

## LAMPIRAN 8

### DATA ANALISIS KANDUNGAN ALKALOID

#### 8.1 Hasil Analisis Larutan Standar Berberin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi
4,08	0,187
6,12	0,332
8,16	0,489
10,20	0,627
14,28	0,897



#### 8.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Uji Alkaloid

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi	Kadar Fenol Total (mg BE/g ekstrak)
1.	0,0503	0,376	6,768	1,345
2.	0,0506	0,393	7,014	1,386
3.	0,0504	0,383	6,869	1,362



## LAMPIRAN 9

## HASIL PENGAMATAN UJI AKTIVITAS ANALGESIK

## 9.1 Hasil Pengamatan Geliat Mencit

Kelompok	Menit ke-	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
Kontrol Negatif (CMC-Na 1%)	5	1	0	0	1	1
	10	11	14	9	17	7
	15	19	21	13	18	16
	20	17	12	24	10	18
	25	7	5	7	3	8
	30	4	2	2	2	6
	Total	59	54	55	51	56
Rata-rata $\pm$ SD	55 $\pm$ 2,91					

Kelompok	Menit ke-	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
Kontrol Positif (Asetosal)	5	0	1	0	0	0
	10	5	3	3	7	4
	15	7	8	6	8	5
	20	3	5	4	3	5
	25	3	1	3	1	2
	30	2	1	0	1	0
	Total	20	19	16	20	16
Rata-rata $\pm$ SD	18 $\pm$ 1,78					

Kelompok	Menit ke-	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
Ekstrak Uji 1 (Dosis 100 mg/kg BB)	5	0	1	0	0	0
	10	6	4	9	2	4
	15	9	12	7	11	10
	20	10	6	5	6	8
	25	4	5	3	4	4
	30	2	2	3	1	3
	Total	31	30	27	25	29

	Rata-rata±SD	28,4±2,41
--	--------------	-----------

Kelompok	Menit ke-	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
Ekstrak Uji 2 (Dosis 200 mg/kg BB)	5	1	0	0	0	0
	10	5	8	2	4	5
	15	11	9	9	8	8
	20	7	2	7	7	8
	25	6	1	4	3	4
	30	4	1	2	1	1
	Total	34	21	24	24	26
	Rata-rata±SD	25,6±4,51				

Kelompok	Menit ke-	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
Ekstrak Uji 3 (Dosis 400 mg/kg BB)	5	1	0	0	0	0
	10	5	3	7	4	1
	15	8	9	5	6	8
	20	6	5	3	4	5
	25	2	3	3	3	4
	30	0	3	2	1	1
	Total	22	22	20	18	19
	Rata-rata±SD	20,2±1,79				

## 9.2 Perhitungan % Daya Analgesik

Kelompok	% Daya Analgesik
Kontrol (-) 1 g/Kg BB	0
Kontrol (+) 65 mg/kg BB	67,27
Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	48,36
Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	53,45
Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	63,27

Daya Analgesik (%) :

$$\frac{\text{Jumlah geliat (Kelompok kontrol)} - \text{Jumlah geliat (kelompok perlakuan)}}{\text{Jumlah geliat (kelompok kontrol)}} \times 100$$

Daya Analgesik (%) Kontrol Postif

$$= \frac{55-18}{55} \times 100\% = 67,27\%$$

Daya Analgesik (%) Ekstrak uji dosis 1

$$= \frac{55-28,4}{55} \times 100\% = 48,36\%$$

Daya Analgesik (%) Ekstrak uji dosis 2

$$= \frac{55-25,6}{55} \times 100\% = 53,45\%$$

Inhibition (%) Ekstrak uji dosis 3

$$= \frac{55-20,2}{55} \times 100\% = 63,27\%$$

### 9.3 Perhitungan %Efektivitas Analgesik

Kelompok	% Efektivitas analgesik
Kontrol (-) 1 g/Kg BB	0
Kontrol (+) 65 mg/kg BB	100,0
Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	71,88
Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	79,46
Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	94,05

$$\% \text{Efektivitas analgesik} = \left[ \frac{\text{Rata-rata daya analgesik kelompok perlakuan}}{\text{rata-rata daya analgesik kelompok asetosal}} \right] \times 100\%$$

1. Efektivitas analgesik kelompok kontrol positif

$$= \left[ \frac{67,27}{67,27} \right] \times 100\% = 100\%$$

2. Efektivitas analgesik kelompok dosis 100 mg/kg BB

$$= \left[ \frac{48,36}{67,27} \right] \times 100\% = 71,88\%$$

3. Efektivitas analgesik kelompok dosis 200 mg/kg BB

$$= \left[ \frac{53,45}{67,27} \right] \times 100\% = 79,46\%$$

4. Efektivitas analgesik kelompok dosis 400 mg/kg BB

$$= \left[ \frac{63,27}{67,27} \right] \times 100\% = 94,05\%$$

## LAMPIRAN 10

### DATA ANALISIS STATISTIK

#### 10.1 Hasil Analisis Statistik Jumlah Geliat Mencit

##### a. Test of Normality

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DayaAnalgesik	,120	20	,200*	,946	20	,317

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

##### a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai sig > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data sampel tersistribusi normal.

##### b. Test of Homogeneity of Variance

#### Test of Homogeneity of Variances

DayaAnalgesik

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,770	3	16	,528

Makna : Nilai sig > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan (*homogen*).

##### c. One F ANOVA

#### ANOVA

DayaAnalgesik

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1102,763	3	367,588	23,014	,000
Within Groups	255,562	16	15,973		
Total	1358,324	19			

Makna : Nilai sig. = 0,000 atau sig. < 0,05 Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan penurunan jumlah geliat secara signifikan.

d. Post Hoc Test

Multiple Comparisons

% DayaAnalgesik

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif (asetosal)	Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	18,78000*	2,52766	,000	13,4216	24,1384
	Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	13,22800*	2,52766	,000	7,8696	18,5864
	Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	3,89800	2,52766	,143	-1,4604	9,2564
Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	kontrol positif (asetosal)	-18,78000*	2,52766	,000	-	-13,4216
	Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	-5,55200*	2,52766	,043	10,9104	-,1936
	Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	-14,88200*	2,52766	,000	20,2404	-9,5236
Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	kontrol positif (asetosal)	-13,22800*	2,52766	,000	18,5864	-7,8696
	Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	5,55200*	2,52766	,043	-,1936	10,9104
	Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	-9,33000*	2,52766	,002	14,6884	-3,9716
Ekstrak uji dosis 400 mg/kg BB	kontrol positif (asetosal)	-3,89800	2,52766	,143	-9,2564	1,4604
	Ekstrak uji dosis 100 mg/kg BB	14,88200*	2,52766	,000	9,5236	20,2404
	Ekstrak uji dosis 200 mg/kg BB	9,33000*	2,52766	,002	3,9716	14,6884

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

**LAMPIRAN 11**  
**DOKUMENTASI PENELITIAN**

11.1 Dokumentasi Penelitian



Tumbuhan tepung otot  
(*Stellaria vestita kurz*)



Simplisia tumbuhan tepung otot  
(*Stellaria vestita kurz*)



Ekstrak tumbuhan tepung otot  
(*Stellaria vestita kurz*)



Pengamatan geliat mencit