

Uji Aktivitas Antinosisepatif Kombinasi Ekstrak Daun Dandang Gendis [*Clinacanthus nutans* (Burn F) Lindau] Dan Daun Bakung (*Crinum asiaticum* L.) secara *In Vivo*

Essty Damayanti^{1*}, Chaidir^{1,2}, Rachmaniar Rachmat^{1,3}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

²Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT)

³Puslit Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)

Article info	Abstract
History Submission: 27-01-2021 Review: 15-04-2021 Accepted: 23-07-2021 *Email: essty007@gmail.com DOI: 10.33096/jffi.v8i2.730 Keywords: <i>Ntinosisepatif; daun dandang gendis; Clinacanthus nutans</i> (Burn F)Lindau; <i>daun bakung; Crinum asiaticum</i> L	<i>The development of new and effective pain medications that are natural is expected to have the benefits of treatment. The purpose of this study was to determine the antinociceptive effectiveness of a combination of 75% ethanol extract from dandang gendis leaves and 96% ethanol fraction of bakung leaf. In this study was used chemical method induction (Sigmund's method) in 25 male mice which were divided into 5 treatment groups, namely treatment group I as negative control was given CMC 0.5%, treatment group II as positive control was given acetosal 100 mg / kg BW, treatment groups III, IV and V were given combinations extract. Each group was given treatment orally, thirty minutes then induced with 0.6% acetic acid intraperitonally, after which it was observed and counted for the amount of stretching for sixty minutes. Data were analyzed by one-way ANOVA test. The results of this study showed that all treatment groups had a significant difference ($p < 0.05$), the combination of 75% ethanol extract dandang gendis leaf and 96% ethanol fraction of bakung leaf with a dose of 100 mg / kg BW had good effectiveness with a percent effectiveness value of 92.50%. The results of this study indicate that the combination of 75% ethanol extract from dandang gendis leaf (<i>Clinacanthus nutans</i> (Burn F) Lindau) and 96% ethanol fraction from bakung leaf (<i>Crinum asiaticum</i>) with the same concentration ratio, have relatively higher antinociceptive of the activity of each extract, in other words both of them work together.</i>

I. Pendahuluan

Hampir semua penyakit pada tubuh menimbulkan nyeri (Guyton and Hall, 2016). Nyeri adalah gejala yang paling umum terjadi, baik pada pasien rawat inap maupun rawat jalan. Secara klinis, nyeri adalah apapun yang diungkapkan oleh seseorang mengenai sesuatu yang dirasakannya sebagai suatu hal yang tidak menyenangkan atau sangat mengganggu (Dharmady, 2004). Nyeri merupakan mekanisme perlindungan yang timbul jika ada kerusakan jaringan dan akan menyebabkan individu bereaksi dengan cara menghilangkan stimulus nyeri (Guyton and Hall, 2016).

Obat tradisional yang telah dikenal masyarakat memiliki khasiat yang bermanfaat bagi tubuh adalah dandang gendis [*Clinacanthus nutans* (Burn F) Lindau] atau disebut ki tajam. Kandungan metabolit sekunder dari dandang gendis terdiri dari golongan senyawa fenolik seperti flavonoid, asam fenolat, tanin, kumarin dan lignin serta mengandung derivat clinamide, fitosterol, alkaloid, klorofil, glikosida, saponin, dan triterpen (Kurdi, 2010; Raya *et al.*, 2015; Alam *et al.*, 2016; Kosai, Sirisidthi and

Jiraungkoorskul, 2016; Rahim *et al.*, 2016; Zulkipli *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan triterpen merupakan senyawa bioaktif yang sangat terkait dengan aktivitas farmakologinya sebagai antinosisepatif (Rahim *et al.*, 2016; Zulkipli *et al.*, 2017).

Hasil penelitian menunjukkan respon antinosisepatif ekstrak metanol dandang gendis yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ pada semua metode pengujian dengan nilai ED₅₀ 279,3 mg/kg untuk ACT dan untuk fase awal dan akhir dari metode FT nilai ED₅₀ masing-masing >500mg/kg atau 227,7 mg/kg (Rahim *et al.*, 2016). Penentuan nilai LD₅₀ ekstrak dandang gendis telah dilakukan pada hewan uji dengan dosis tunggal masing-masing 0,9 g/kg BB dan 1,8 g/kg BB. Hasil pengujian pada masing-masing pemberian dosis ekstrak tidak menyebabkan efek samping atau kematian hewan uji. Berdasarkan pengujian tersebut, maka LD₅₀ dari ekstrak daun dandang gendis lebih besar dari 1,8 g/kg BB (P'ng, Akowuah and Chin, 2012).

Tanaman lain yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antinosisepatif adalah daun



bakung (*Crinum asiaticum* L). Bakung merupakan salah satu tumbuhan liar dan sebagai tanaman hias yang seluruh bagian tanamannya dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk dysuria, edema, antidotum (Fennell and Staden, 2001; Zulkipli *et al.*, 2017). Penelitian aktivitas antinosiseptif telah dilakukan menggunakan daun bakung yang di ekstraksi secara berurutan menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform dan metanol. Aktivitas antinosiseptif terbaik ditunjukkan oleh ekstrak kloroform dengan dosis 250 mg/kg ($p < 0,05$) kemudian diikuti ekstrak metanol, dan pada ekstrak petroleum eter tidak ada aktivitas yang teramati sampai dosis 1000 mg/kg. Skrining fitokimia dari fraksi aktif menunjukkan adanya alkaloid, kumarin, glikosida, triterpen dan flavonoid (Asmawi *et al.*, 2011).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antinosiseptif kombinasi ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung dengan beberapa konsentrasi yang berbeda untuk meningkatkan efektifitasnya.

II. Metode Penelitian

II.1 Determinasi Sampel

Determinasi tumbuhan dandang gendis dan bakung dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong Bogor.

II.2 Ethical clearance

Surat pernyataan *ethical clearance* untuk penelitian ini diperoleh setelah mengajukan ethical approval kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Maranatha Bandung. Penelitian ini dinyatakan lolos kode etik berdasarkan surat pernyataan ethical clearance dengan nomor protokol 001/KEP/I/2019.

II.3 Pengumpulan dan Penyediaan Bahan Penelitian

Daun dandang gendis dan daun bakung diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Daun dandang gendis dan daun bakung masing-masing diambil sebanyak 2 kg. Daun dandang gendis dan daun bakung kemudian dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air tawar untuk menghilangkan kotoran, dianginkan dan dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung. Simplisia daun dandang gendis dan daun bakung yang telah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender dan diayak dengan ukuran 4/18.

II.4 Pembuatan Ekstrak

II.4.1 Pembuatan Ekstrak Daun Dandang Gendis

Serbuk kering daun dandang gendis masing – masing (dibuat 3 bagian) ditimbang sebanyak 150 gram, kemudian masing – masing di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, etanol 75% dan etanol 50% dengan perbandingan 1:20 selama 2 jam pada suhu kamar. Hasil maserasi disaring, kemudian ampasnya dimaserasi kembali

sebanyak 1 kali, serta disaring kembali. Maserat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental dari ekstrak etanol 96% (EE96), ekstrak etanol 75% (EE75) dan ekstrak etanol 50% (EE50) kemudian ekstrak ditimbang dan disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan.

II.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Bakung

Serbuk kering daun bakung ditimbang sebanyak 300 gram (1) dan 150 gram (2), kemudian masing-masing di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:20 selama 2 jam pada suhu kamar. Hasil maserasi disaring, kemudian ampas dimaserasi kembali sebanyak 1 kali, serta disaring kembali, dan masing-masing maserat dikumpulkan. Maserat 1 kemudian dilakukan partisi cair – cair dengan pelarut heksan menggunakan corong pisah. Tiap lapisan ditampung dan masing- masing diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak fraksi heksan (EFH) dan ekstrak fraksi etanol (EFE). Maserat 2 diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C (Rahim *et al.*, 2016). Ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak etanol bakung (EKE). Seluruh ekstrak yang diperoleh ditimbang kemudian disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan.

II.5 Pengujian Mutu Serbuk Simplisia Dan Mutu Ekstrak

II.5.1 Derajat Kehalusan

Serbuk uji dimasukkan kedalam pengayak no 4 yang mempunyai panci penampung dan tutup yang sesuai. Goyang pengayak dengan arah putaran horizontal dan ketukkan secara vertikal pada permukaan yang keras selama tidak kurang dari 30 menit atau sampai pengayakan praktis sempurna. Serbuk kemudian dimasukkan kedalam pengayak no 18 yang mempunyai panci penampung dan tutup yang sesuai. Goyang pengayak dengan arah putaran horizontal dan ketukkan secara vertikal pada permukaan yang keras sampai diperoleh serbuk tidak lebih dari 40% dari bobot awal.

II.5.2 Susut pengeringan

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ratakan simplisia dengan cara menggoyangkan hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm – 10 mm, masukkan dalam ruang pengering, buka tutupnya keringkan pada suhu penetapan 105°C hingga bobot tetap. Krus didinginkan dalam keadaan tertutup dalam desikator hingga suhu kamar, kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh untuk menghitung persentase susut pengeringannya (*Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I, 2008).

II.5.3 Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara titrasi menggunakan pereaksi Karl Fischer. Masukkan kurang lebih 20 ml methanol P ke dalam labu titrasi. Titrasi dengan pereaksi Karl Fischer hingga titik akhir tercapai. Masukkan ekstrak yang telah ditimbang kedalam labu titrasi, aduk selama 1 menit. Titrasi dengan pereaksi Karl Fischer yang telah diketahui kesetaraan airnya hingga titik akhir tercapai. Hitung jumlah air dalam mg dengan rumus $V \times F$. V adalah volume pereaksi Karl Fischer dan F adalah faktor kesetaraan air (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

II.5.4 Kadar abu

Masing-masing sebanyak 2 g ekstrak ditimbang dengan seksama ke dalam krus silikat yang telah ditara. Krus silikat yang berisi serbuk simplisia dipijarkan perlahan lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat sampel awal dan dinyatakan dalam % b/b (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

II.5.5 Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit, bagian yang tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, disaring dan ditimbang. Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap berat sampel awal dan dinyatakan dalam % b/b (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

II.5.6 Kadar Sari Larut Air

Masing-masing sebanyak 5 g ekstrak disari selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform LP, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, saring. Sebanyak 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar senyawa yang larut dalam air dihitung terhadap berat simplisia awal dan dinyatakan dalam % b/b (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

II.5.7 Kadar Sari Larut Etanol

Masing-masing sejumlah 5 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96% menggunakan labu bersumbat sambil berkali kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Filtrat disaring cepat dengan menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar senyawa yang larut dalam etanol dihitung terhadap berat simplisia awal dan dinyatakan dalam % b/b (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

II.6 Pengujian Fitokimia

Pengujian Fitokimia meliputi identifikasi senyawa alkaloida, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid, dan tannin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995; Tiwari *et al.*, 2011).

II.7 Pengujian Aktivitas Antinositif

II.7.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dewasa dengan BB 25 – 30 g. Aklimatisasi mencit selama 1 (satu) minggu dengan tujuan mengadaptasikan mencit dengan lingkungan baru. Mencit ditempatkan pada suhu kamar ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, kelembaban 70-80%) (Rahim *et al.*, 2016). Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum mencit, meliputi berat badan dan keadaan fisiknya. Mencit yang sehat memiliki ciri – ciri bulu bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar, dan berat badan bertambah atau tidak berkurang setiap hari (Marlyne, 2012). Mencit yang dinyatakan sehat dikelompokkan menjadi 8 kelompok untuk pengujian ekstrak tunggal dengan jumlah mencit pada masing-masing kelompok adalah 3 ekor (mengikuti rumus Federer). Pada pengujian kombinasi ekstrak, mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah mencit pada masing-masing kelompok adalah 5 ekor (mengikuti rumus Federer).

II.7.2 Persiapan Bahan Uji

II.7.2.1 Pembuatan Larutan CMC 0,5% (Kontrol Negatif)

Sejumlah 0,25 gram CMC ditimbang kemudian dikembangkan dalam 5 ml air panas selama 30 menit, setelah itu digerus dan ditambahkan aquadest sampai 50 ml. Diberikan dengan dosis 10 ml/kg BB (Rahim *et al.*, 2016). Dosis yang diberikan untuk bobot 30 g mencit adalah 0,3 ml larutan CMC 0,5%.

II.7.2.2 Pembuatan Larutan Asam Asetilsalisilat (Kontrol Positif)

Dosis Asetosal yang digunakan adalah 100 mg/kg BB. Untuk bobot mencit 30 g dosis asetosal adalah 3 mg. Sejumlah 100 mg asetosal ditimbang kemudian dilarutkan dalam aquadestilata sampai 10 ml. Diberikan dengan volume 10 ml/kg BB (Rahim *et al.*, 2016). Volume yang diberikan untuk bobot 30 g mencit adalah 0,3 ml.

II.7.2.3 Pembuatan Larutan Asam Asetat

Asam asetat glasial mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% b/b asam asetat (*Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I, 2008). Dari asam asetat glasial dibuat asam asetat 10% terlebih dahulu kemudian dibuat asam asetat glasial 0,6% dengan metode pengenceran menggunakan NaCl fisiologis sebagai pelarut⁹. Sejumlah 1 ml asam asetat glasial diukur, kemudian ditambahkan NaCl fisiologis sampai 10 ml. Setelah itu sejumlah 3 ml asam asetat 10% ditambahkan

NaCl fisiologis sampai 50 ml. Diberikan dengan volume 10 ml/kg BB (Rahim *et al.*, 2016). Volume yang diberikan untuk bobot 30 g mencit adalah 0,3 ml.

II.7.2.4 Ekstrak

Untuk ekstrak daun dandang gendis, pemberian dosis pada mencit didasarkan pada penelitian Rahim (2016) yaitu 279,3 mg/kg BB (ED₅₀). Diberikan dengan volume 10 ml/kg BB⁹. Volume yang diberikan untuk bobot 30 g mencit adalah 0,3 ml yang mengandung ekstrak daun dandang gendis 8,38 mg. Sejumlah 139,67 mg dari masing – masing EE96, EE75 dan EE50 ditimbang, kemudian dilarutkan dalam larutan CMC 0,5% sampai 5 ml.

Untuk ekstrak daun bakung, pemberian dosis pada mencit didasarkan pada penelitian Asmawi (Asmawi *et al.*, 2011) yaitu 250 mg/kg BB. Diberikan dengan volume 10 ml/kg BB. Volume yang diberikan untuk bobot 30 g mencit adalah 0,3 ml yang mengandung ekstrak daun bakung 5 mg. Sejumlah 125 mg dari masing – masing EKE, EFH dan EFE ditimbang, kemudian dilarutkan dalam larutan CMC 0,5% sampai 5 ml.

II.7.2.5 Kombinasi Ekstrak

Hasil dari penentuan ekstrak dari daun dandang gendis dan daun bakung dibuat kombinasi ekstrak untuk dilakukan pengujian aktivitas antinosiseptif. Bobot total kombinasi ekstrak adalah 200 mg/kgBB, berdasarkan pada hasil aktivitas antinosiseptif penelitian sebelumnya (Asmawi *et al.*, 2011; Rahim *et al.*, 2016). Diberikan dengan volume 10 ml/kg BB (Rahim *et al.*, 2016). Volume yang diberikan untuk bobot 30g mencit adalah 0,3 ml. Persentase kombinasi ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase kombinasi ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung

Kombinasi Dosis	Ekstrak Daun Dandang Gendis*	Ekstrak Daun Bakung*
1	75% 150 mg/kg BB (4,5 mg/30 g)	25% 50 mg/kg BB (1,5 mg/30 g)
2	50% 100 mg/kg BB (3 mg/30 g)	50% 100 mg/kg BB (3 mg/30 g)
3	25% 50 mg/kg BB (1,5 mg/30 g)	75% 150 mg/kg BB (4,5 mg/30 g)

*ekstrak yang memiliki efektifitas paling besar pada pengujian aktivitas antinosiseptif ekstrak tunggal

II.7.3 Perlakuan

II.7.3.1 Ekstrak

Mencit jantan dikelompokkan secara acak menjadi 8 kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 3 ekor mencit yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kelompok EE96, kelompok EE75, dan kelompok EE50, kelompok EKE, kelompok EFH, dan kelompok EFE. Semua kelompok diberikan induksi asam asetat.

II.7.3.2 Kombinasi Ekstrak

Mencit jantan dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, masing – masing kelompok berjumlah 5 ekor mencityaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, kelompok dosis kombinasi 1, kelompok dosis kombinasi 2 dan kelompok dosiskombinasi 3. Semua kelompok diberikan induksi asam asetat.

II.7.4 Prosedur Uji Antinosiseptif

II.7.4.1 Ekstrak

Uji antinosiseptif masing-masing ekstrak dari daun dandang gendis dan daun bakung terhadap hewan uji dilakukan dengan cara mencit jantan dipuaskan ± 18 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan. Pada hari pengujian, mencit jantan ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak menjadi 8 kelompok dengan jumlah mencit jantan masing – masing kelompok adalah 3 ekor mencit jantan. Pada kelompok kontrol negatif, setiap mencit jantan diberikan larutan CMC 0,5% sebanyak 0,3 ml/30 gram BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Pada kelompok kontrol positif, setiap mencit jantan diberikan larutan asetosal sebanyak 0,3 ml/30 gram BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Pada masing – masing kelompok perlakuan, kelompok EE95, kelompok EE75, kelompok EE50, kelompok EKE, kelompok EFH dan kelompok EFE, mencit jantan diberikan bahan uji masing-masing sebanyak 0,3 ml/30 g BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Jumlah geliat mencit dihitung dengan interval waktu lima menit selama 60 menit. Semua data yang diperoleh dianalisa secara statistik dan dihitung persentase proteksi serta persentase efektifitas antinosiseptif (Marlyne, 2012; Rahim *et al.*, 2016).

II.7.4.2 Kombinasi Ekstrak

Uji antinosiseptif kombinasi ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung terhadap hewan uji dilakukan dengan cara mencit jantan dipuaskan ± 18 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan. Pada hari pengujian, mencit jantan ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok dengan jumlah mencit jantan masing – masing kelompok adalah 5 ekor mencit jantan. Pada kelompok kontrol negatif, setiap mencit

jantan diberikan larutan CMC 0,5% sebanyak 0,3 ml/30 gram BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Pada kelompok kontrol positif, setiap mencit jantan diberikan larutan asetosal sebanyak 0,3 ml/30 gram BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Pada masing – masing kelompok perlakuan, kelompok dosis kombinasi 1, kelompok dosis kombinasi 2 dan kelompok dosis kombinasi 3, mencit jantan diberikan bahan uji masing-masing sebanyak 0,3ml/30 g BB mencit secara oral dan setelah 30 menit diinduksi dengan asam asetat secara intraperitoneal. Jumlah geliat mencit dihitung dengan interval waktu lima menit selama 60 menit. Semua data yang diperoleh dianalisa secara statistik dan dihitung persentase proteksi serta persentase efektifitas antinosiseptif (Marlyne, 2012; Rahim *et al.*, 2016).

II.8 Cara Pengolahan Dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji mutu serbuk simplisia, uji mutu ekstrak, pengujian aktivitas antinosiseptif dimasukkan kedalam tabel induk, kemudian data diolah secara manual dengan menggunakan bantuan program komputer. Hasil pengolahan data disajikan dalam bentuk teks, tabel dan atau gambar.

Data jumlah geliat mencit yang diperoleh dari pengujian ekstrak tunggal dan kombinasi

% Proteksi =

$$\frac{\text{Rata-rata Jumlah geliat (Kelompok kontrol negatif-kelompok bahan uji)}}{\text{Rata-rata jumlah geliat kelompok kontrol negatif}} \times 100\% \quad (1)$$

Berdasarkan hasil perhitungan persen proteksi masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan perhitungan persentase efektifitas dengan cara membandingkan antara masing-masing

ekstrak dianalisis menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the social Sciens*) statistics 17.0, meliputi pengujian normalitas yang dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilkstest* dan *Kolmogorov-Smirnov*, kemudian pengujian homogenitas *Levene Statistic*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka analisis akan dilanjutkan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) satu arah. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata secara statistik pada masing-masing kelompok perlakuan, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji BNT (Bebas Nyata Terkecil) dengan taraf signifikansi 5% (0,05) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antara tiap kelompok perlakuan.

Dari masing-masing data jumlah geliat mencit pada pengujian aktivitas antinosiseptif ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak, dihitung persentase proteksi bahan uji, yaitu kemampuan bahan uji dalam mengurangi respon geliat yang disebabkan oleh induksi asam asetat. Persentase ini menggambarkan daya antinosiseptif bahan uji. Persentase proteksi diperoleh dengan membandingkan rata-rata jumlah geliat tiap kelompok perlakuan terhadap kelompok perlakuan kontrol negatif. Persen proteksi terhadap induksi asam asetat dihitung dengan rumus 1 (Galani and Patel, 2011).

kelompok perlakuan dengan persen proteksi kelompok perlakuan kontrol positif yang dihitung dengan rumus 2 (Wahyuni, Astuti and Nuratmi, 2003).

$$\% \text{ Efektifitas} = \frac{\% \text{ Proteksi Kelompok Bahan Uji}}{\% \text{ Proteksi Kelompok Kontrol Positif}} \times 100\% \quad (2)$$

III. Hasil dan Pembahasan

Tanaman daun dandang gendis dan daun bakung yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil tanaman yang dibudidayakan, diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang diidentifikasi adalah jenis dandang gendis [*Clinacanthus nutans* (Burn F) Lindau] suku Acanthaceae dan Bakung (*Crinum asiaticum* L) suku Amarylidaceae.

Daun dandang gendis dan daun bakung yang digunakan dalam penelitian ini dipanen saat usia tanaman 3 (tiga) bulan. Daun yang diperoleh kemudian dicuci dan dibersihkan kemudian

dilakukan perajangan menjadi ukuran yang lebih kecil, setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan menggunakan sinar matahari tidak langsung selama 7 hari.

Pengujian mutu serbuk simplisia daun dandang gendis dan daun bakung meliputi pengujian derajat kehalusan dan susut pengeringan. Pengujian susut pengeringan memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000). Susut pengeringan menunjukkan jumlah zat yang menguap atau hilang akibat pemanasan. Hasil pengujian mutu serbuk simplisia daun dandang gendis dan daun bakung dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian mutu serbuk simplisia

Nama Simplisia	Derajat Kehalusan	Susut Pengeringan
Daun Dandang Gendis	4/18	7,45%
Daun Bakung	4/18	5,22%

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 4, persen susut pengeringan untuk daun dandang gendis lebih besar dibandingkan dengan persen susut pengeringan pada daun bakung, artinya pada daun dandang gendis besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan lebih banyak dibanding dengan daun bakung.

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini melalui proses yang berbeda untuk masing-masing tanaman. Hal tersebut didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rahim (Rahim *et al.*, 2016) bahwa ekstrak daun dandang gendis diperoleh dengan cara maserasi menggunakan metanol. Oleh karena itu, pada penelitian ini untuk daun dandang

gendis pembuatan ekstrak menggunakan etanol dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu etanol 96%, etanol 75% dan etanol 50% sehingga diperoleh tiga macam ekstrak. Sedangkan untuk daun bakung, penelitian yang telah dilakukan oleh Asmawi (Asmawi *et al.*, 2011) menggunakan ekstrak fraksi kloroform. Oleh karena itu, pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilakukan partisi cair-cair dengan pelarut *n*-heksan, sehingga diperoleh tiga macam ekstrak, yaitu ekstrak total daun bakung, fraksi non polar dalam heksan dan fraksi semi polar/polar dalam etanol.

Bobot masing-masing ekstrak dan fraksi serta rendemennya yang diperoleh dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Bobot ekstrak dan rendemen daun dandang gendis dan daunbakung

Nama Simplisia	Jenis Pelarut	Bobot serbuk simplisia (g)	Jumlah Ekstrak (g)	Rendemen
DaunDandang	Etanol 96%	150	34,01	22,67%
Gendis	Etanol 75%	150	24,38	16,25%
	Etanol 50%	150	42,40	28,27%
	Etanol 96%	150	17,01	11,34%
Daun Bakung	Fraksi Heksan	300	45,51	15,17%
	Fraksi Etanol	300	6,94	2,31%

Berdasarkan Tabel 3, untuk ekstrak fraksi heksan dan etanol daun bakung, bobot yang diperoleh mengalami bias jika dibandingkan dengan bobot ekstrak etanol daun bakung. Pada bobot ekstrak fraksi etanol, bobot yang diperoleh relatif lebih kecil jika dibandingkan dengan ekstrak etanolnya. Hal tersebut kemungkinan dikarenakan pada saat melakukan partisi cair-cair waktu yang digunakan relatif kurang lama, sehingga pemisahan belum terjadi dengan sempurna.

Pemeriksaan ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung meliputi pemeriksaan organoleptis dan pengujian mutu ekstrak diantaranya kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Untuk pemeriksaan organoleptis menggunakan pengamatan secara visual untuk melihat bentuk, warna, bau dan rasa. Hasil pemeriksaan organoleptis dapat dilihat dalam Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung

Ekstrak	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
EE 96	Ekstrak Kental	Hijau Tua	Khas	Kelat
EE 75	Ekstrak Kental	Hijau Tua	Khas	Kelat
EE 50	Ekstrak Kental	Coklat Tua	Khas	Kelat
EKE	Ekstrak Kental	Hijau Tua	Khas	Kelat
EFH	Ekstrak Kental	Hijau Tua	Khas	Kelat
EFE	Ekstrak Kental	Hijau Tua	Khas	Kelat

Ket: EE 96: ekstrak etanol 96%; EE 75: ekstrak etanol 75%; EE 50: ekstrak etanol 50%; EKE: ekstrak etanol bakung; EFH: Ekstrak fraksi heksan; EFE: ekstrak fraksi etanol

Pengujian kadar air pada ekstrak bertujuan untuk memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya kandungan air di dalam ekstrak. Pengujian kadar abu tujuannya adalah memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya

ekstrak (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2000), sedangkan pengujian kadar abu tak larut asam memberikan gambaran cemaran senyawa logam berat yang terkandung dalam ekstrak. Untuk pengujian kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air tujuannya adalah memberikan gambaran awal

sejumlah kandungan dapat tersari dalam pelarut air dan dalam pelarut etanol. Hasil pemeriksaan pengujian mutu ekstrak dapat dilihat dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian mutu ekstrak

Sampel	Parameter Mutu Ekstrak				
	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Abu Tak Larut Dalam Asam (%)	Kadar Sari Larut Etanol (%)	Kadar Sari Larut Air (%)
EE 96	1,56	0,15	0,04	37,58	55,00
EE 75	2,77	0,24	0,03	36,15	60,81
EE 50	3,36	0,14	0,02	34,48	63,61
EKE	1,10	0,46	0,06	32,18	44,32
EFH	2,15	0,40	0,05	30,14	44,65
EFE	3,19	0,21	0,03	38,23	42,36
Syarat menurut FHI	≤ 10%	< 1%	≤ 0,5%	-	-

Ket: EE 96: ekstrak etanol 96%; EE 75: ekstrak etanol 75%; EE 50: ekstrak etanol 50%; EKE: ekstrak etanol bakung; EFH: Ekstrak fraksi heksan; EFE: ekstrak fraksi etanol; FHI: Farmakope Herbal Indonesia

Berdasarkan data hasil pengujian mutu dalam Tabel 5, maka semua ekstrak menunjukkan kadar air, kadar abu dan kadar abu tak larut asam dalam rentang yang dipersyaratkan sesuai Farmakope Herbal Indonesia, yaitu ≤ 10% untuk kadar air, < 1% untuk kadar abu dan ≤ 0,5% untuk kadar abu yang tidak larut asam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa seluruh ekstrak yang dibuat memiliki mutu yang baik.

Berdasarkan hasil pengujian, seluruh ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung memiliki kandungan senyawa kimia diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid & steroid serta tannin. Hasil pengujian tersebut mengandung golongan senyawa yang sama seperti pada pengujian aktivitas antinosiseptif yang telah dilakukan sebelumnya (Asmawi *et al.*, 2011; Rahim *et al.*, 2016). Pada ekstrak daun dandang gendis terkandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan triterpen (Rahim *et al.*, 2016; Zulkipli *et al.*, 2017). Sedangkan untuk daun bakung mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpen, glikosida dan kumarin (Sun *et al.*, 2008; Asmawi *et al.*, 2011; Kogure *et al.*, 2011; Rahman *et al.*, 2013; Haque, Jahan and Rahmatullah, 2014; Patel, 2017).

Golongan senyawa alkaloid dan flavonoida yang terkandung dalam ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung merupakan golongan senyawa yang berperan dalam aktivitas antinosiseptif. Banyak alkaloida bekerja pada sistem syaraf (Bribi, 2018). Aktivitas antinosiseptif alkaloida kemungkinan disebabkan adanya penghambatan pelepasan interleukin-1 β dan interleukin-8 oleh sel peritoneum atau melalui penghambatan prostaglandin dan bradykinin (Hayfaa, Sahar and Awatif, 2013). Sedangkan senyawa flavonoida golongan flavon berperan dalam aktivitas antinosiseptif melalui mekanisme yang melibatkan penghambatan produksi sitokin (yaitu interleukin-1 β) dan prostaglandin (Verri *et al.*, 2012). Oleh karena itu kandungan senyawa alkaloida dan flavonoida pada daun dandang gendis

dan daun bakung pada penelitian ini merupakan senyawa yang berperan dalam aktivitas sebagai antinosiseptif.

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*). Mencit diperoleh dari laboratorium hewan, sekolah farmasi ITB Bandung.

Metode pengujian untuk mengetahui aktifitas antinosiseptif dari kombinasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode induksi cara kimia (Metode Sigmund) yaitu metode geliat. Model untuk uji antinosiseptif diperoleh dengan cara menyuntikan asam asetat 0,6% secara intraperitoneal sebagai bahan penginduksi. Pemberian induksi bahan kimia asam asetat secara intraperitoneal pada mencit akan menimbulkan iritasi pada perut sehingga mengakibatkan efek geliat (Parmar and Prakash, 2006).

Pada pengujian aktifitas antinosiseptif ekstrak tunggal maupun kombinasi dari daun dandang gendis dan daun bakung terdapat beberapa kelompok perlakuan diantaranya kontrol positif, kontrol negatif, pemberian masing-masing ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi. Sebagai kontrol negatif digunakan CMC 0,5%, yaitu bahan inert yang tidak menghasilkan efek setelah pemberian per oral pada mencit, sedangkan pada kontrol positif diberikan asetosal 100 mg/kgBB yang merupakan obat yang luas digunakan untuk meredakan nyeri dengan mekanisme kerja menghambat sintesis prostaglandin (Syarif *et al.*, 2007).

Hasil rata-rata jumlah geliat mencit selama 60 menit pengamatan dapat dilihat dalam Tabel 6.

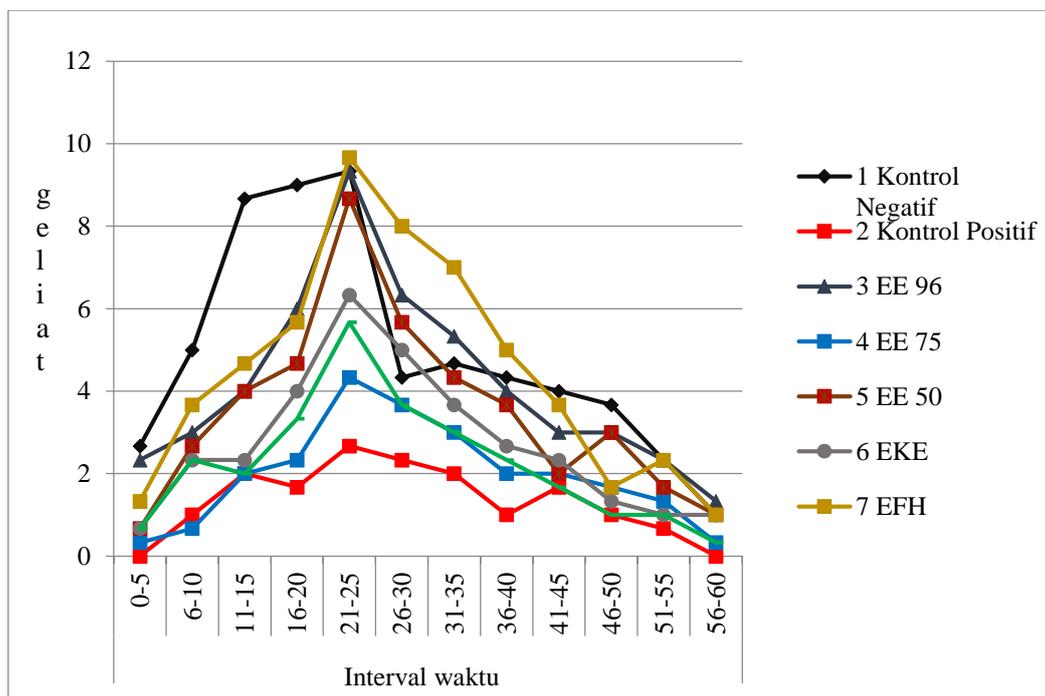
Tabel 6. Hasil rata-rata jumlah geliat mencit pada ekstrak tunggal

Perlakuan	Jumlah Rata-Rata Geliat menit ke-											
	0 - 5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60
Kontrol Negatif	2.67	5.00	8.67	9.00	9.33	4.33	4.67	4.33	4.00	3.67	2.33	1.00
Kontrol Positif	0.00	1.00	2.00	1.67	2.67	2.33	2.00	1.00	1.67	1.00	0.67	0.00
EE 96	2.33	3.00	4.00	6.00	9.33	6.33	5.33	4.00	3.00	3.00	2.33	1.33
EE 75	0.33	0.67	2.00	2.33	4.33	3.67	3.00	2.00	2.00	1.67	1.33	0.33
EE 50	0.67	2.67	4.00	4.67	8.67	5.67	4.33	3.67	2.00	3.00	1.67	1.00
EKE	0.67	2.33	2.33	4.00	6.33	5.00	3.67	2.67	2.33	1.33	1.00	1.00
EFH	1.33	3.67	4.67	5.67	9.67	8.00	7.00	5.00	3.67	1.67	2.33	1.00
EFE	0.67	2.33	2.00	3.33	5.67	3.67	3.00	2.33	1.67	1.00	1.00	0.33

Ket: EE 96: ekstrak etanol 96%; EE 75: ekstrak etanol 75%; EE 50: ekstrak etanol 50%; EKE: ekstrak etanol bakung; EFH: Ekstrak fraksi heksan; EFE: ekstrak fraksi etanol

Berdasarkan data dari Tabel 6, jumlah rata-rata geliat dari kontrol positif dan semua kelompok ekstrak lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol positif dan ekstrak dapat mengurangi jumlah rata-rata geliat mencit sebagai respon nyeri akibat pemberian bahan penginduksi asam asetat secara intraperitoneal. Semakin sedikit rata-rata jumlah geliat pada setiap perlakuan,

menunjukkan bahwa efek antinosiseptif yang semakin baik. Jumlah rata-rata geliat paling banyak terjadi pada menit ke 21-25 dan mulai mengalami penurunan pada menit ke 26-30. Hal ini dikarenakan konsentrasi dari berbagai perlakuan dan bahan penginduksi asam asetat sudah mulai mengalami eliminasi. Peningkatan dan penurunan jumlah rata-rata geliat mencit dapat dilihat pada grafik Gambar 1.



Gambar 1. Grafik hubungan antara jumlah rata-rata geliat mencit dengan waktu pengamatan pada ekstrak tunggal

Untuk melihat adanya perbedaan efek antinosiseptif pada setiap perlakuan, maka dilakukan analisis data statistik. Pengujian normalitas distribusi pada data interval atau rasio sebaiknya menggunakan uji *Saphiro-Wilk*, karena memiliki tingkat konsistensi yang lebih baik

dibandingkan uji *Lilliefors* dan uji *Kolmogorov-Smirnov* (Oktaviani and Notobroto, 2014).

Untuk melihat normalitas atau sebaran data dari jumlah geliat tersebut, maka data dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk*. Data dikatakan terdistribusi normal apabila nilai Sig. > 0,05. Berdasarkan hasil pengujian *Saphiro-Wilk*

menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki nilai Sig. > 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Hasil pengujian *Saphiro-Wilk* masing-masing ekstrak tunggal dapat dilihat dalam Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji normalitas *saphiro-wilk* ekstrak tunggal

Perlakuan	<i>Shapiro-Wilk</i>
	Sig.
Kontrol Negatif	1,000
Kontrol Positif	0,220
EE 96	0,463
EE 75	0,726
EE 50	0,363
EKE	0,637
EFH	0,567
EFE	0,843

Pengujian statistik dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic*. Data dikatakan homogen apabila nilai Sig. > 0,05. Berdasarkan hasil pengujian *Levene Statistic* menunjukkan bahwa nilai Sig. > 0,05, yaitu 0,280, maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen.

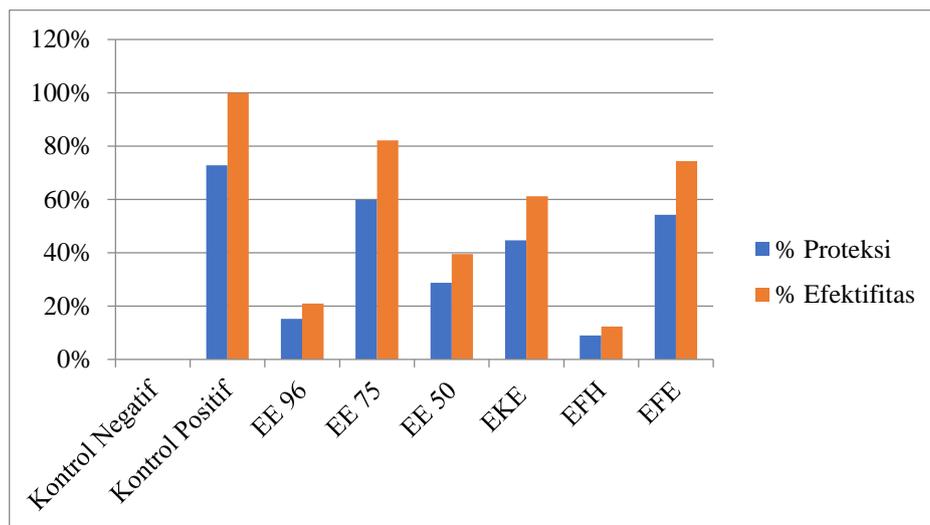
Analisis dilanjutkan dengan menggunakan Anova untuk melihat adanya perbedaan pada kelompok perlakuan. Apabila pada uji Anova nilai Sig. < 0,05 maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil uji Anova didapatkan nilai Sig. sebesar 0,000 ($p < 0,05$), dapat disimpulkan bahwa terdapat atau ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf signifikansi 5% (0,05), maka

antara kelompok perlakuan kontrol negatif terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol positif, EE75, EE50, EKE dan EFE karena nilai Sig. kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Sedangkan antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan EE96 dan EFH tidak terdapat perbedaan yang signifikan, ditunjukkan dengan nilai Sig. lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

Berdasarkan data grafik pada Gambar 2, persen proteksi terbesar ditunjukkan oleh kontrol positif yaitu sebesar 72,88%, artinya pada perlakuan kontrol positif paling banyak menghambat respon geliat mencit akibat pemberian asam asetat sebagai bahan penginduksi. Sedangkan untuk perlakuan sampel ekstrak daun dandang gendis, persen penghambatan respon geliat mencit akibat pemberian asam asetat sebagai bahan penginduksi paling besar ditunjukkan oleh EE75 dengan persen proteksi sebesar 59,88% dan untuk ekstrak daun bakung persen proteksi terbesar ditunjukkan oleh EFE yaitu 54,24%.

Dari data persen proteksi, dapat diketahui persentase efektifitas antinosiseptif dari masing-masing perlakuan dengan cara membandingkan persen proteksi seluruh kelompok perlakuan terhadap persen proteksi kelompok perlakuan kontrol negatif. Berdasarkan data hasil perhitungan, persen efektifitas pada perlakuan sampel ekstrak yang mendekati persen efektifitas asetosal sebagai kontrol positif yaitu EE75 sebesar 82,16% dan EFE sebesar 74,42% (Gambar 2), artinya sampel EE75 dan EFE memberikan efektifitas antinosiseptif yang paling baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak lainnya.



Gambar 2. Grafik persentase proteksi dan efektifitas ekstrak tunggal

Setelah melakukan pengujian aktivitas antinosiseptif pada masing-masing ekstrak daun dandang gendis dan daun bakung dengan berbagai perlakuan, maka ekstrak dengan persen proteksi dan

persen efektifitas terbesar yaitu EE75 dan EFE akan dilakukan kombinasi dalam 3 (tiga) variasi dosis. Dosis kombinasi ekstrak yang akan digunakan adalah 200 mg/kg BB.

Kombinasi ekstrak disiapkan dengan cara disuspensikan pada larutan CMC 0,5% dan diberikan peroral pada mencit 30 menit sebelum diinduksi dengan asam asetat 0,6%, kemudian

jumlah geliat mencit dihitung selama 60 menit. Hasil rata-rata jumlah geliat mencit selama 60 menit pengamatan dapat dilihat dalam Tabel 8.

Tabel 8. Hasil rata-rata jumlah geliat mencit pada kombinasi ekstrak

Perlakuan	Jumlah Rata-Rata Geliat menit ke-											
	0 - 5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60
Kontrol Negatif	1,40	3,40	5,60	8,00	9,60	6,60	6,60	4,40	3,40	2,20	1,20	0,60
Kontrol Positif	0,00	1,00	1,00	1,40	2,40	1,80	1,60	1,20	1,20	1,00	0,40	0,00
Dosis Kombinasi 1	1,00	2,00	3,80	4,60	7,20	4,00	3,60	2,60	2,40	2,40	1,60	0,80
Dosis Kombinasi 2	0,40	0,80	1,40	1,80	2,40	3,40	2,20	1,60	1,00	0,60	0,40	0,00
Dosis Kombinasi 3	0,00	0,80	1,00	2,40	2,60	4,60	2,80	2,20	1,20	1,20	1,20	0,40

Berdasarkan data dari Tabel 8, jumlah rata-rata geliat dari kontrol positif dan semua dosis kombinasi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol positif dan dosis kombinasi dapat mengurangi jumlah rata-rata geliat mencit sebagai respon nyeri akibat pemberian bahan penginduksi asam asetat secara intraperitoneal. Semakin sedikit rata-rata jumlah geliat pada setiap perlakuan, menunjukkan bahwa efek antinosiseptif yang semakin baik.

Pada perlakuan dosis kombinasi 1, akumulasi jumlah geliat dari menit ke 0 sampai menit ke 60 juga lebih rendah dibandingkan dengan akumulasi jumlah geliat dari menit ke 0 sampai menit ke 60 pada ekstrak tunggal EE96, EE50, EKE dan EFH. Sedangkan pada perlakuan dosis kombinasi 2 dan dosis kombinasi 3, akumulasi jumlah geliat dari menit ke 0 sampai menit ke 60 juga mengalami penurunan dibandingkan dengan akumulasi jumlah geliat dari menit ke 0 sampai menit ke 60 pada semua ekstrak tunggal. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak kombinasi jumlah rata-rata geliat mencit sebagai respon nyeri akibat pemberian bahan penginduksi asam asetat secara intraperitoneal semakin berkurang, menunjukkan bahwa pada ekstrak kombinasi efek antinosiseptif semakin baik dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya.

Jumlah rata-rata geliat paling banyak pada perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan dosis kombinasi 1 terjadi pada menit ke 21-25 dan mulai mengalami penurunan pada menit ke 26-30 sama seperti pada ekstrak tunggalnya. Sedangkan pada perlakuan dosis kombinasi 2 dan dosis kombinasi 3 jumlah rata-rata geliat paling banyak terjadi pada menit ke 26-30 dan mulai mengalami penurunan pada menit ke 31-35. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis kombinasi 2 dan dosis kombinasi 3 terjadi perubahan waktu eliminasi.

Peningkatan dan penurunan jumlah rata-rata geliat selama 60 menit pengamatan dapat dilihat juga dalam Gambar 3.

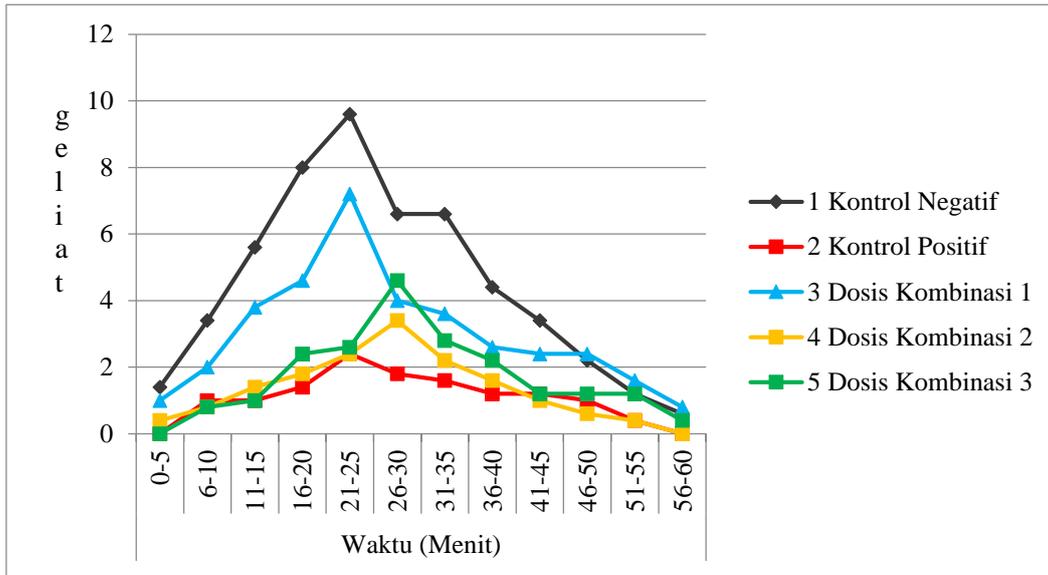
Untuk melihat normalitas atau sebaran data dari jumlah geliat tersebut, maka data dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk*. Data dikatakan terdistribusi normal apabila nilai Sig. > 0,05. Berdasarkan hasil pengujian *Saphiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki nilai Sig. > 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Hasil pengujian *Saphiro-Wilk* dapat dilihat dalam Tabel 9.

Tabel 9. Hasil ujisaphiro-wilk kombinasi ekstrak

Perlakuan	<i>Saphiro-Wilk</i>
	Sig.
Kontrol Negatif	0,184
Kontrol Positif	0,585
Dosis Kombinasi 1	0,785
Dosis Kombinasi 2	0,582
Dosis Kombinasi 3	0,984

Pengujian statistik dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic*. Data dikatakan homogen apabila nilai Sig. > 0,05. Berdasarkan hasil pengujian *Levene Statistic* menunjukkan bahwa nilai Sig. > 0,05, yaitu 0,101, maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen.

Pengujian statistik dilanjutkan dengan uji Anova untuk melihat adanya perbedaan pada kelompok perlakuan. Apabila pada uji Anova nilai Sig. < 0,05 maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil uji Anova didapatkan nilai Sig. sebesar 0,000 (p < 0,05), dapat disimpulkan bahwa terdapat atau ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan.



Gambar 3. Grafik hubungan antara jumlah rata-rata geliat mencit dengan waktu pengamatan pada kombinasi ekstrak

Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf signifikansi 5% (0,05), maka antara kelompok perlakuan kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif dan kelompok perlakuan dosis kombinasi 1 karena nilai Sig. kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Sedangkan antara kelompok perlakuan kontrol positif dengan kelompok perlakuan dosis kombinasi 2 dan kelompok perlakuan dosis kombinasi 3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan, ditunjukkan dengan nilai Sig. lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

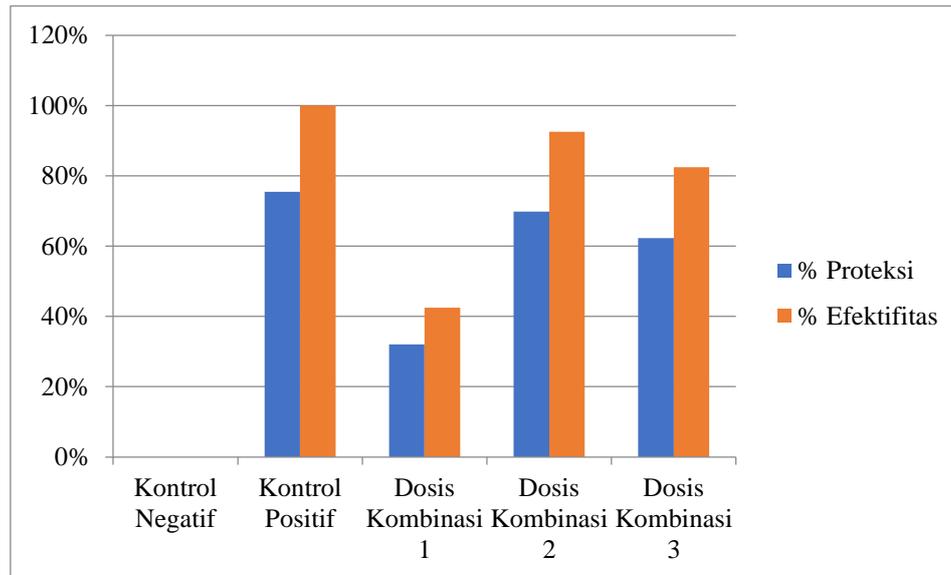
Persen proteksi terbesar ditunjukkan oleh kontrol positif yaitu sebesar 75,47 % (Gambar 4), artinya pada perlakuan kontrol positif paling banyak menghambat respon geliat mencit akibat pemberian asam asetat sebagai bahan penginduksi. Sedangkan untuk perlakuan dosis kombinasi, persen penghambatan respon geliat mencit akibat pemberian asam asetat sebagai bahan penginduksi paling besar ditunjukkan pada dosis kombinasi 2 dengan persen proteksi sebesar 69,81%.

Dari data persen proteksi, dapat diketahui persen efektifitas antinosiseptif dari masing-masing perlakuan dengan cara membandingkan persen proteksi kelompok perlakuan dosis kombinasi terhadap persen proteksi kelompok perlakuan kontrol negatif.

Berdasarkan data hasil perhitungan (Gambar 4), persen efektifitas pada perlakuan sampel ekstrak yang paling mendekati persen efektifitas asetosal sebagai kontrol positif yaitu dosis kombinasi 2 sebesar 92,50%, artinya sampel dosis kombinasi 2 memiliki efektifitas antinosiseptif yang mendekati persen efektifitas asetosal sebagai kontrol positif. Dosis kombinasi 2 terdiri dari campuran sama banyak (50%:50%) antara ekstrak daun

dandang gendis dan daun bakung. Persen efektifitas dosis kombinasi 2 ini lebih besar daripada persen efektifitas dari masing-masing ekstrak tunggal, hal ini dimungkinkan karena ada efek sinergisme dari senyawa-senyawa yang sama dari kedua ekstrak, diantaranya alkaloid dan flavonoid yang berperan dalam aktivitas sebagai antinosiseptif.

Berdasarkan rata-rata jumlah geliat pada interval waktu 5 menit pertama, respon geliat mencit untuk dosis kombinasi 3 lebih rendah dibanding jumlah geliat dari masing-masing ekstrak tunggal. Dengan demikian, dengan adanya kombinasi ekstrak, maka respon geliat menjadi menurun karena ada proteksi akibat dari pemberian kombinasi ekstrak tersebut. Untuk dosis kombinasi 2, jumlah respon geliat lebih rendah dibanding ekstrak tunggal pada pemberian EFE tetapi lebih tinggi 0,07 dari pemberian ekstrak tunggal EE75. Untuk interval waktu 5 menit kedua, respon geliat mencit untuk dosis kombinasi 2 dan dosis kombinasi 3 mengalami penurunan jumlah respon geliat, hal ini menunjukkan bahwa efek antinosiseptif semakin baik. Hal tersebut juga dapat dibuktikan dari persen proteksi antar dosis kombinasi 2 dan dosis kombinasi 3 yang lebih tinggi dibandingkan dengan persen proteksi masing-masing ekstrak tunggal.



Gambar 4. Grafik persentase proteksi dan efektifitas kombinasi ekstrak

IV. Kesimpulan

Kombinasi ekstrak daun dandang gendis (etanol 75%) dengan fraksi etanol (96%) pada kombinasi 1:1 memiliki persen proteksi dan persen efektifitas sebesar 69,81% dan 92,50% menunjukkan ekstrak daun dandang gendis dan daun daun bakung bersinergi sebagai antinospesitif.

Daftar Pustaka

- Alam, A. *et al.* (2016) 'Clinacanthus nutans: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry', *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(4), pp. 402–409. doi: 10.1016/J.APJTM.2016.03.011.
- Asmawi, M. Z. *et al.* (2011) 'In vivo Antinociceptive Activity of Leaf Extract of *Crinum asiaticum* and Phytochemical Analysis of the Bioactive Fractions', *International Journal of Pharmacology*, 7(1), pp. 125–129. doi: 10.3923/ijp.2011.125.129.
- Bribi, N. (2018) 'Pharmacological activity of aporphinoid alkaloids. A review', *Asian Journal of Botany*, 1, pp. 1–6. doi: 10.63019/ajb.v1i2.467.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995) *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dharmady, T. (2004) 'Manajemen Nyeri dalam Suatu Tatanan Tim Medis Multidisiplin', *Majalah Kedokteran Damianus*, 3(1), p. 1.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I (2008). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Fennell, C. W. and Staden, J. Van (2001) 'Crinum Species in Traditional and Modern Medicine', *Journal of ethnopharmacology*, 78(1), pp. 15–26. doi: 10.1016/S0378-8741(01)00305-1.
- Galani, V. J. and Patel, B. G. (2011) 'Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of *Argyrea speciosa* and *Sphearanthus indicus* in The Experimental Animals', *Global Journal of Pharmacology*, 4(3), pp. 136–141.
- Guyton, A. . and Hall, J. E. (2016) *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran: diterjemahkan oleh Ermita, I dan Ibrahim Ilyas*. Edisi 12. Edited by M. D. Widjajakusumah and A. Tanzil. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.
- Haque, M., Jahan, S. and Rahmatullah, M. (2014) 'Ethnomedicinal Uses of *Crinum Asiaticum*: A Review', *World Journal of Pharmacy and pharmaceutical sciences*, 3(9), pp. 119–128.
- Hayfaa, A. A.-S., Sahar, A. A. M. A.-S. and Awatif, M. A.-S. (2013) 'Evaluation of Analgesic Activity and Toxicity of Alkaloids in *Myristica fragrans* Seeds in Mice', *Journal of Pain Research*, 6, pp. 611–615. doi: 10.2147/JPR.S45591.
- Kogure, N. *et al.* (2011) 'Two New Alkaloids from *Crinum asiaticum* var. *japonicum*', *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(12), pp. 1545–1548. doi: 10.1248/cpb.59.1545.
- Kosai, P., Sirisidhi, K. and Jiraungkoorskul, W. (2016) 'Evaluation of Total Phenolic Compound and Cytotoxic Activity of *Clinacanthus nutans*', *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(2), pp. 283–

286. doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000115.
- Kurdi, A. (2010) *Tanaman Herbal Indonesia: Cara Mengolah dan Manfaatnya Bagi Kesehatan*.
- Marlyne, R. (2012) *Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Bunga Mawar (Rosa chinensi Jacq.) Pada Mencit Yang Diinduksi Asam Asetat*. Universitas Indonesia.
- Oktaviani, M. A. and Notobroto, H. B. (2014) 'Perbandingan Tingkat Konsistensi Normalitas Distribusi Metode Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, Shapiro-Wilk, dan Skewness-Kurtosis', *Jurnal Biometrika dan Kependudukan*, 3(2), pp. 127–135. Available at: <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-biometrikd8bc041810full.pdf>.
- P'ng, X. W., Akowuah, G. A. and Chin, J. H. (2012) 'Acute Oral Toxicity Study of Clinacanthus nutans in Mice', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(11), pp. 4202–4204. doi: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3\(11\).4202-05](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(11).4202-05).
- Parmar, N. . and Prakash, S. (2006) *Screening Methods in Pharmacology*. 1st Editio. Oxford, U.K: Alpha Science International.
- Patel, D. (2017) 'Crinum asiaticum Linn: A Medicinal Herb as Well as Ornamental Plant in Central India', *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 6(1), pp. 1–7. doi: 10.19080/ijesnr.2017.06.555678.
- Rahim, M. H. A. *et al.* (2016) 'Methanolic Extract of Clinacanthus nutans Exerts Antinociceptive Activity Via The Opioid/Nitric Oxide-mediated, but cGMP-Independent, Pathways', *Hindawi: Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, p. 11 pages. doi: 10.1155/2016/1494981.
- Rahman, M. A. *et al.* (2013) 'Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Crinum asiaticum Leaf Alcoholic Extract in Animal Models', *African Journal of Biotechnology*, 12(2), pp. 212–218. doi: 10.5897/ajb12.1431.
- Raya, K. B. *et al.* (2015) 'Changes in Phytochemical Contents in Different Parts of Clinacanthus nutans (Burm. f.) Lindau Due to Storage Duration', *Bragantia, Cantinas*, 74(4), pp. 445–452. doi: 10.1590/1678-4499.0469.
- Sun, Q. *et al.* (2008) 'A New Phenolic Compound from Crinum asiaticum L', *Chinese Chemical Letters*, 19(4), pp. 447–449. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2008.01.02>
- Syarif, A. *et al.* (2007) *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI.
- Tiwari, P. *et al.* (2011) 'Phytochemical screening and Extraction: A Review', *International Pharmaceutical Sciencia*, 1(1), pp. 98–106.
- Verri, W. A. *et al.* (2012) *Flavonoids as Anti-Inflammatory and Analgesic Drugs: Mechanisms of Action and Perspectives in The Development of Pharmaceutical Forms, Studies in Natural Products Chemistry*. Bioactive Natural Product. doi: 10.1016/B978-0-444-53836-9.00026-8.
- Wahyuni, I. T., Astuti, N. Y. and Nuratmi, B. (2003) 'Uji Perbandingan Efek Analgesik Infus Temu Putih (Curcuma zedoria Rosc.) dan Temu Mangga (Curcuma mangga Val. Et Zipp) pada Mencit', *Jurnal Bahan Alam*, 2(3), pp. 81–84.
- Zulkipli, I. N. *et al.* (2017) 'Clinacanthus nutans: A Review on Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Properties', *Pharmaceutical Biology*, 55(1), pp. 1093–1113. doi: 10.1080/13880209.2017.1288749.