

SKRIPSI

**STUDI IN VIVO FRAKSI EKSTRAK BUNGA PACING
TAWAR (*Costus speciosus*) SEBAGAI ANALGESIK PADA
MENCIT (*Mus musculus*) PUTIH**



DISUSUN OLEH :

Nama : Indri Maharani Syahputri

NIM : 144820121022

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PENDIDIKAN MUHAMMADIYAH SORONG
SORONG
2025**

SKRIPSI

STUDI IN VIVO FRAKSI EKSTRAK BUNGA PACING TAWAR (*Costus speciosus*) SEBAGAI ANALGESIK PADA MENCIT (*Mus musculus*) PUTIH

**Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat Untuk Mencapai
Gelar Sarjana Farmasi Pada Fakultas Farmasi
Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong**

**Nama : Indri Maharani Syahputri
NIM : 144820121022**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PENDIDIKAN MUHAMMADIYAH SORONG
SORONG
2025**

HALAMAN PERSETUJUAN

STUDI IN VIVO FRAKSI EKSTRAK BUNGA PACING TAWAR (*Costus speciosus*) SEBAGAI ANALGESIK PADA MENCIT (*Mus musculus*) PUTIH

Nama : Indri Maharani Syahputri

NIM : 144820121022

Telah disetujui tim pembimbing

Pada 27 Desember 2015
.....

Pembimbing I

A.M. Muslihin, S.Farm., M.Si.
NUPTK. 6160773674130263

Handwritten signature of A.M. Muslihin in black ink, written over a horizontal dotted line.

Pembimbing II

Ratih Arum Astuti, M.Farm.
NUPTK. 1557771672230293

Handwritten signature of Ratih Arum Astuti in black ink, written over a horizontal dotted line.

LEMBAR PENGESAHAN

STUDI IN VIVO FRAKSI EKSTRAK BUNGA PACING TAWAR (*Costus speciosus*) SEBAGAI ANALGESIK PADA MENCIT (*Mus musculus*) PUTIH

Nama : Indri Maharani Syahputri

NIM : 144820121022

Skripsi ini telah disahkan oleh Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong

Pada : 29 Desember 2025

Dekan Fakultas Farmasi



Dr. apt. Lukman Hardia, M.Si.
NUPTK. 5951771672130282

Tim Penguji Skripsi

1. Dr. apt. Lukman Hardia, M.Si.
NUPTK. 5951771672130282

2. Ratih Arum Astuti, M.Farm.
NUPTK. 1557771672230293

3. A.M.Muslih, S.Farm., M.Si.
NUPTK. 6160773674130263

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Sorong, 27 Desember 2025

Yang membuat pernyataan,



Indri Maharani Syahputri
NIM. 144820121022

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

- ❖ Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan (Qs.Al-Insyirah : 6)
- ❖ Manusia hanya akan memperoleh apa yang diusahakan. Usaha itu akan diperlihatkan dengan balasan yang paling sempurna (Qs.An-Najm : 39-41)
- ❖ Semua hal yang berjalan atas izin Allah pasti tersimpan kebaikan. Belajar menerima, bahwa hal baik tidak selalu tentang apa yang kamu senangi (Muyyasaroh)

PERSEMBAHAN

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang diberikan sehingga penulis masih diberi kesempatan untuk menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang terkasih yang sangat berarti dalam perjalanan hidup penulis :

1. Teruntuk kedua orang tua saya tercinta, Bapak Sugeng dan Ibu Suhartati yang sangat berjasa dalam kehidupan penulis. Walaupun belum sempat merasakan pendidikan dibangku perkuliahan, namun kalian selalu bekerja keras dan mengusahakan yang terbaik untuk penulis dalam menepuh pendidikan setinggi-tingginya. Terima kasih atas segala doa, dukungan, cinta, kasih sayang dan pengorbanan nya dalam mengiringi langkah penulis untuk mewujudkan mimpi-mimpinya. Terima kasih telah menjadi sumber kekuatan, inspirasi, dan memberikan pelajaran hidup kepada penulis agar menjadi sosok wanita yang kuat, bertanggung jawab dan mandiri. Besar harapan penulis semoga kalian diberikan kesehatan, umur panjang, kebahagiaan dan senantiasa dijaga oleh Allah SWT agar terus dapat menyaksikan keberhasilan penulis yang di masa yang akan datang.
2. Kepada saudara kandung penulis, Kiki, Gilang, Ika, Agil, Rezky dan Gita yang penulis sayangi. Meskipun kita bukan sosok yang terbiasa berbicara dari hati ke hati, tapi penulis tau dibalik itu ada doa, dukungan, dan semangat yang diberikan kepada penulis. Terima kasih telah hadir, senantiasa bersama dan menjadi pelengkap dalam kehidupan penulis saat

susah maupun senang. Mari untuk terus saling bersama, menyayangi dan menjadi anak yang dibanggakan kedua orang.

3. Terakhir kepada diri saya sendiri Indri Maharani Syahputri yang tidak pandai merangkai kata-kata dan mengutarakan perasaan nya sendiri. Terima kasih sudah mau bertahan, bersabar, berjuang dan berani membuktikan bahwa dirimu juga bisa melalui segala kesulitan hingga berada di titik yang indah ini. Semoga langkah mu ini dapat menjadi bukti, bahwa dirimu mampu untuk mewujudkan segala mimpi lainnya. Teruslah berkembang menjadi pribadi yang lebih baik ke depannya.

ABSTRAK

Indri Maharani Syahputri/144820121022. STUDI IN VIVO FRAKSI EKSTRAK BUNGA PACING TAWAR (*Costus speciosus*) SEBAGAI ANALGESIK PADA MENCIT (*Mus musculus*) PUTIH

Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong. November, 2025. **A.M. Muslihin, S.Farm., M.Si. dan Ratih Arum Astuti, M.Farm.**

Nyeri merupakan sinyal terhadap jaringan yang sedang mengalami kerusakan pada tubuh. Tanaman pacing tawar (*Costus speciosus*) termasuk dalam suku temu-temuan yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid pada fraksi ekstrak bunga pacing tawar beserta pengaruh dan dosis fraksi ekstrak bunga pacing tawar yang paling baik dalam memberikan efek analgesik pada mencit. Metode penelitian ini berupa penelitian kuantitatif dengan desain pre-post *test control group* pada mencit yang diinduksi nyeri menggunakan tail flick dan diberi suspensi uji sesuai kelompok seperti asam mefenamat, na cmc, fraksi ekstrak dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Hasil penelitian diperoleh adanya kandungan flavonoid pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar dan memiliki pengaruh dalam memberikan efek analgesik dengan dosis paling baik dalam menghambat rasa nyeri pada fraksi dosis 500 mg/kgBB yang ditunjukkan pada seluruh waktu pengamatan oleh nilai p value ($> 0,05$) dengan kontrol positif asam mefenamat. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat bunga pacing tawar mengandung senyawa flavonoid yang berperan sebagai analgesik dan juga adanya faktor perbedaan dosis sehingga pada fraksi dosis 500 mg/kgBB dapat memberikan respon hambatan yang lebih tinggi dan setara kontrol positif asam mefenamat dibandingkan fraksi dosis 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB.

Kata Kunci : Analgesik, Bunga Pacing Tawar, Nyeri, Tail Flick

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi In Vivo Fraksi Ekstrak Bunga Pacing Tawar (*Costus speciosus*) Sebagai Analgesik Pada Mencit (*Mus musculus*) Putih” tepat sesuai dengan waktunya.

Adapun maksud dari penulisan skripsi ini untuk memenuhi dan melengkapi syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini :

1. Dr. H. Rustamadi, M.Si. selaku Rektor Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong
2. Dr. apt. Lukman Hardia, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong sekaligus ketua penguji yang telah memberikan arahan, bimbingan dan nasihat kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
3. Ratih Arum Astuti, M.Farm. selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong
4. A.M.Muslihin, S.Farm., M.Si. selaku pembimbing pertama dan Ratih Arum Astuti, M.Farm. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberikan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini
5. Seluruh dosen dan staf Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong yang telah membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan studi
6. Kepada keluarga tercinta Bapak Sugeng dan Ibu Suhartati, serta Saudara-saudara yang tersayang, kakak Kiki, Gilang, Ika, Agil dan kedua adik saya Rezky dan Gita yang selalu memberikan semangat, doa, cinta, kasih sayang dan dukungan yang tidak pernah putus kepada penulis. Terima kasih telah menjadi sandaran dalam setiap langkah, untuk senantiasa

memberikan semangat di saat lelah dan menjadi motivasi serta alasan penulis untuk terus berjuang hingga skripsi ini dapat terselesaikan.

7. Kepada kedua sahabat seperjuanganku, Diah Wulandari dan Ifana Nur Fahira. Terima kasih atas doa, dukungan, semangat, serta bantuan yang selalu kalian berikan hingga penulis dapat sampai pada tahap ini. Walaupun persahabatan kita terbilang baru, namun hubungan yang terjalin bukan sekadar pertemanan biasa. Kalian selalu menjadi tempat bercerita dan memberikan nasihat tanpa menghakimi. Terima kasih atas kebersamaan, kerja sama dan banyaknya kenangan indah yang tercipta selama ini.
8. Kepada sahabat terbaik ku, Indar, Azizah, Elis, Yuni dan Siti. Terima kasih untuk selalu memberikan dukungan dan semangat yang kalian berikan. Meskipun kini kita berjalan menuju masa depan masing-masing, namun satu hal yang pasti kita tetap saling mendukung dan memberikan doa yang tulus. Terima kasih atas kenangan indah dalam setiap langkah bersama. Semoga persahabatan ini tetap terjaga dan bertahan selamanya
9. Kepada rekan farmasi angkatan 2021, terima kasih atas dukungan dan semangat selama 4 tahun ini hingga penulis dapat berada di tahap penyelesaian skripsi ini

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan kepada pihak-pihak yang telah membantu dan memberikan dukungannya dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Untuk itu perlu adanya kritik dan saran yang membangun dan semoga skripsi ini dapat menjadi tambahan ilmu serta bermanfaat bagi pembaca.

Sorong, 17 November 2025

Indri Maharani Syahputri

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN.....	v
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	vi
ABSTRAK	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Nyeri	5
2.2 Analgesik.....	7
2.3 Pacing Tawar (<i>Costus speciosus</i>)	9
2.4 Golongan Senyawa Yang Berperan Sebagai Analgesik.....	11
2.5 Simplisia.....	14
2.6 Ekstraksi	14
2.7 Fraksinasi.....	16
2.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis	17
2.9 Spektro FTIR (<i>Fourier Transform Infrared</i>).....	18
2.10 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	19
2.11 Metode Uji Analgesik.....	20
2.12 Kerangka Konsep	21
2.13 Penelitian Terdahulu.....	22
2.14 Uraian Bahan	23

BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3 Variabel Penelitian	26
3.4 Definisi Operasional.....	27
3.5 Desain Penelitian.....	27
3.6 Populasi dan Sampel.....	27
3.7 Teknik Sampling	27
3.8 Teknik Pengumpulan Data	27
3.9 Instrumen Penelitian.....	28
3.10 Prosedur Kerja.....	28
3.11 Teknik Analisis Data	33
3.12 Skema Kerja	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Hasil Penelitian.....	36
4.2 Pembahasan	42
BAB V PENUTUP	55
5.1 Kesimpulan.....	55
5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian Terdahulu.....	22
Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian	26
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Bunga Pacing Tawar.....	36
Tabel 4.2 Hasil Rendemen Fraksi Bunga Pacing Tawar	36
Tabel 4.3 Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid.....	37
Tabel 4.5 Hasil Analisis Uji FTIR Fraksi Bunga Pacing Tawar	39
Tabel 4.6 Rata-rata Waktu Respon Hambatan Nyeri	39
Tabel 4.7 Pengaruh Pengujian Sebelum dan Sesudah diberi Perlakuan	40
Tabel 4.8 Perbandingan Pre-Post Test Antara Kedua Perlakuan	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Senyawa Asam Mefenamat	9
Gambar 2.2 Bunga Pacing Tawar (<i>Costus speciosus</i>).....	9
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid	11
Gambar 2.4 Struktur Kimia Alkaloid	12
Gambar 2.5 Struktur Kimia Tanin.....	13
Gambar 2.6 Struktur Kimia Steroid.....	13
Gambar 2.7 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	19
Gambar 2.8 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
Gambar 3.1 Skema Kerja Penelitian.....	35
Gambar 4.1 Spektrum Hasil Uji FTIR Fraksi Bunga Pacing Tawar	38
Gambar 4.2 Diagram Peningkatan Respon Hambatan Nyeri	40
Gambar 4.3 Diagram Respon Sebelum dan Sesudah Perlakuan	40
Gambar 4.4 Struktur Flavonoid	47
Gambar 4.5 Struktur Senyawa Kuersetin	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kode Etik Penggunaan Hewan Dalam Penelitian	63
Lampiran 2. Perhitungan Campuran Fase Gerak Uji KLT	64
Lampiran 3. Perhitungan Dosis Kelompok Uji	65
Lampiran 4. Dokumentasi Penyiapan Simplisia Bunga Pacing Tawar.....	70
Lampiran 5. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Bunga Pacing Tawar.....	71
Lampiran 6. Dokumentasi Tahap Fraksinasi Ekstrak Bunga Pacing Tawar.....	72
Lampiran 7. Dokumentasi Uji Kromatografi Lapis Tipis	73
Lampiran 8. Dokumentasi Pembuatan Suspensi Uji	74
Lampiran 9. Dokumentasi Perlakuan Pada Hewan Uji.....	75
Lampiran 10. Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak dan Fraksi Bunga Pacing Tawar.....	76
Lampiran 11. Perhitungan Hasil Pada Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	77
Lampiran 12. Hasil Data Pengujian Analgesik	78
Lampiran 13. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN)	79
Lampiran 14. Hasil Analisis Data	80

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri didefinisikan sebagai suatu perasaan tidak menyenangkan yang disebabkan oleh adanya gangguan pada tubuh. Nyeri memiliki peran dalam tubuh sebagai penanda atau sinyal peringatan terhadap jaringan yang sedang mengalami kerusakan seperti inflamasi, infeksi bakteri, dan juga kram otot. (Amir *et al.*, 2023).

Nyeri yang paling sering dialami oleh masyarakat yaitu nyeri otot atau biasa disebut juga dengan myalgia. Myalgia umumnya muncul akibat penggunaan otot yang tidak tepat atau kondisi otot yang mengalami ketegangan secara berlebih. Ketika otot bekerja terlalu keras, pemberian oksigen ke jaringan otot menjadi tidak mencukupi, sehingga tubuh beralih ke proses oksidasi anaerob yang kemudian memicu pembentukan asam laktat (Sumardiyono *et al.*, 2017).

Secara umum, angka kasus myalgia atau nyeri otot di Indonesia pada tahun 2018 berkisar 45-59%. Rasa sakit seperti nyeri inilah yang membuat seseorang menjadi tidak nyaman dan menghambat kegiatan yang dilakukannya, oleh karena itu perlu penanganan yang tepat dan juga dibutuhkan suatu obat yang dapat menghilangkan rasa nyeri tersebut (Nugraha *et al.*, 2019).

Penanganan nyeri umumnya dilakukan dengan pemberian obat pereda nyeri. Analgesik merupakan jenis obat penghilang nyeri yang secara khusus dapat mempengaruhi sistem saraf pusat tetapi tidak mempengaruhi kemampuan penderita. Penggunaan obat parasetamol dan obat golongan *Non-Steroid Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) seperti ketoprofen, natrium diklofenak, piroksikam, dan aspirin merupakan obat-obatan yang biasanya digunakan sebagai pereda nyeri atau menurunkan rasa sakit (Amir *et al.*, 2023). Selain manfaatnya yang dapat mengobati, obat analgesik juga mempunyai risiko efek samping yang tidak diinginkan jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama yaitu dapat menyebabkan keluhan mual muntah, kerusakan sistem pencernaan seperti ulkus peptik, terutama tukak lambung. Hal ini dapat mengakibatkan masalah ulkus secara serius seperti lambung bocor, hematesis dan melena (Lara *et al.*, 2021).

Upaya pencegahan rasa nyeri pada tubuh selain menggunakan obat-obatan sintetik dapat juga dengan memanfaatkan bahan obat yang berasal dari alam. Pemanfaatan tanaman obat sebagai alternatif penyembuhan berbagai macam penyakit kini semakin diminati kembali oleh masyarakat dikarenakan bahan bakunya yang mudah diperoleh, lebih terjangkau, dan diyakini relatif lebih aman dibandingkan obat sintetik (Lara *et al.*, 2021). Bagian-bagian tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat herbal yaitu bagian daun, bunga, buah, akar, dan rimpang sesuai dengan jenis tanaman dan kandungan senyawa aktifnya. Namun, pemahaman masyarakat terkait bagian tanaman yang paling berkhasiat masih terbatas, sehingga banyak potensi tanaman obat yang belum dimanfaatkan secara optimal (Kumontoy *et al.*, 2023)

Tanaman pacing tawar (*Costus speciosus*) merupakan salah satu tanaman obat yang termasuk dalam suku *zingiberaceae* atau dari suku temu-temuan yang kaya akan kegunaannya dalam pengobatan beragam penyakit. Secara garis besar, anggota keluarga tanaman ini digunakan sebagai bahan baku obat-obatan herbal. Tanaman ini dikenal memiliki banyak khasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti infeksi pada usus, konjungtivitis, luka gigitan, menurunkan panas, obat batuk, penyakit mata, mencegah cacar, menyuburkan dan mencegah kerontokan rambut (Erlangga, 2020). Tanaman pacing tawar telah terbukti memiliki berbagai aktivitas farmakologis meliputi sifat antibakteri, antijamur, antikolinesterase, antioksidan, antihiperglikemik, antiinflamasi, antipiretik, antidiuretik dan antistres (Rudini *et al.*, 2022).

Kemampuan tanaman pacing tawar dalam mengatasi berbagai penyakit biasanya berkaitan dengan kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Tanaman pacing tawar mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, steroid, alkaloid, fenolik, saponin, terpenoid, dan tanin (Sohrab *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Rahmiyani & Zustika, 2016 juga diketahui kandungan senyawa pada tanaman pacing berupa alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, kuinon, mono dan seskuiterpenoid (Rahmiyani & Zustika, 2016).

Penelitian sebelumnya terkait pemanfaatan tanaman pacing diketahui masih banyak lebih difokuskan pada bagian daun dan rimpang saja sedangkan pada bagian bunga pacing tawar yang juga memiliki potensi pengobatan masih kurang

dimanfaatkan dengan baik. Padahal jika dilihat dari beberapa studi, bunga pacing tawar juga mempunyai banyak potensi dalam pengobatan karena mengandung berbagai senyawa seperti pada penelitian yang dilakukan Fathirah *et al*, 2022 yang diketahui terkandung senyawa fenolik, flavonoid dan saponin yang berperan sebagai antiinflamasi. Penelitian yang dilakukan Riany & Wahyuningtyas, 2024 juga mengungkapkan adanya aktivitas antioksidan pada bunga pacing tawar yang berkaitan dengan kandungan senyawa flavonoid didalamnya. Dari temuan tersebut, adanya kandungan senyawa flavonoid pada bunga pacing tawar dapat berpotensi sebagai analgesik, seperti yang diketahui flavonoid mampu memberikan efek pereda nyeri melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase sehingga menurunkan pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat dan akhirnya dapat mengurangi rasa nyeri (Riany & Wahyuningtyas, 2024).

Penelitian ini akan dilakukan menggunakan metode fraksinasi cair-cair terhadap ekstrak bunga pacing tawar sehingga memperoleh zat aktif yang lebih spesifik dari fraksi ekstrak bunga pacing tawar yang kemudian akan diidentifikasi potensi analgesiknya pada mencit putih sehingga hasil pengujian tersebut dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan analgesik alami.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi ekstrak bunga pacing tawar mengandung senyawa flavonoid?
2. Apakah fraksi ekstrak bunga pacing tawar mempunyai pengaruh dalam memberikan efek analgesik pada mencit putih?
3. Pada dosis berapakah fraksi ekstrak bunga pacing tawar memberikan efek analgesik paling baik?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid pada fraksi ekstrak bunga pacing tawar
2. Untuk mengetahui pengaruh fraksi ekstrak bunga pacing tawar yang mempunyai efek analgesik pada mencit putih
3. Untuk mengetahui konsentrasi fraksi ekstrak bunga pacing tawar yang dapat memberikan efek analgesik paling baik

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Bagi Masyarakat

Dapat memberikan pengetahuan dan informasi kepada masyarakat bahwa fraksi ekstrak bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) mempunyai potensi sebagai obat analgesik

2. Manfaat Bagi Instransi

Dapat memberikan informasi dan referensi bagi peneliti lain dalam melanjutkan penelitian terkait bunga pacing tawar (*Costus speciosus*)

3. Manfaat Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan baru terkait manfaat bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) sebagai alternatif pengobatan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyeri

2.1.1 Definisi Nyeri

Nyeri menurut *International Association for the Study of Pain (IASP)* didefinisikan sebagai keadaan tidak menyenangkan, baik secara fisik maupun emosional yang diakibatkan dari gangguan jaringan yang sudah ataupun berpotensi berlangsung terjadi. Nyeri juga dipahami sebagai persepsi yang muncul pada keadaan sadar, yang diterima dari faktor lingkungan, dan terjadi ketika seseorang gagal dalam menghindari situasi yang berbahaya sehingga menyebabkan kerusakan (Siagian & Angeline, 2019).

Keluhan sensorik seperti pegal linu, rasa ngilu, dan lainnya dapat dianggap sebagai bentuk dari nyeri. Nyeri merupakan pengalaman pribadi yang berbeda pada setiap individu, sehingga tiap orang dapat merasakan dan mengeksperikan rase nyeri dengan caranya masing-masing. Ketika nyeri tidak ditangani dengan baik, maka kondisi ini berpotensi mengganggu perilaku serta menghambat kegiatan sehari-hari seseorang. Tanda-tanda yang dapat terlihat adalah dari ekspresi wajah yang menunjukkan kesakitan seperti meringis, mengerutkan dahi, menggigit bibir, merasa gelisah, imobilisasi, mengalami tegang otot dan menghindari aktivitas sosial. Selain itu, nyeri juga dapat mengganggu aktivitas rutin, hubungan sosial, dan bahkan hubungan seksual (Wati *et al.*, 2022).

2.1.2 Klasifikasi Nyeri

1. Nyeri Noniseptif

Nyeri yang dipicu oleh rangsangan sementara dan tidak menyebabkan gangguan jaringan yang signifikan dinamakan juga dengan nyeri akut atau nyeri nosiseptif. Nyeri ini biasanya berlangsung singkat sehingga tidak memerlukan terapi khusus. Nyeri saat operasi atau nyeri akibat tusukan jarum merupakan contoh dari nyeri nosiseptif. Biasanya muncul sebagai respons stimulus kuat yang memicu kesadaran vital.

2. Nyeri Inflamatorik

Nyeri inflamatorik disebabkan oleh rangsangan yang berintensitas tinggi dan berlangsung lama sehingga mengakibatkan cedera atau kerusakan jaringan. Nyeri berpotensi muncul dalam jangka pendek atau jangka panjang. Penderita yang mengalami nyeri inflamatorik biasanya sering mencari pertolongan medis. Salah satu contohnya adalah nyeri yang dialami oleh penderita rheumatoid arthritis.

3. Nyeri Neuropatik

Salah satu rasa sakit diakibatkan dari cedera atau kerusakan dari sistem saraf perifer seperti neuropati diabetik, neuralgia post-herpetik atau sistem saraf sentral seperti cedera medula spinalis, stroke, atau *multiple sclerosis*.

4. Nyeri Fungsional

Biasa ditemui dari keadaan normal pada sistem saraf perifer dan defisit neurologis. Penyebab nyeri ini karena adanya respon abnormal pada sistem saraf terutama hipersensitifitas apartus sensorik. Fibromialgia, *irritable bowel syndrom*, beberapa bentuk nyeri dada non-kardiak, dan nyeri kepala tipe tegang merupakan suatu kondisi yang sering terjadi sebagai gambaran nyeri tipe ini (Dwimartyono, 2019).

2.1.3 Patofisiologi

Mekanisme timbulnya nyeri melibatkan proses multipel termasuk nonisepsi, sensitifitas perifer, perubahan ferotip, sensitifitas sentral, aksitabilitas ektopik, reorganisasi struktural dan penurunan inhibisi. Selain itu, ada empat proses yang terjadi antara rangsangan gangguan jaringan serta perasaan subyektif nyeri, seperti tranduksi, transmisi, modulasi, dan persepsi.

1. Transduksi

Transduksi merupakan suatu tahapan dimana akhiran saraf aferen menerjemahkan rangsangan menjadi impuls noniseptif. Dalam tahap ini, terlibat tiga tipe serabut saraf yaitu serabut A-beta, A-delta, dan C. Serabut A-delta dan C adalah serabut penghantar nyeri atau noniseptor yang berespon maksimal terhadap stimulasi non noksius. Serabut aferen yang tidak bereaksi kepada rangsangan dari luar, biasa disebut *silent noniceptor*, yang hanya aktif ketika ada zat peradangan.

2. Transmisi

Merupakan tahap ketika impuls dikirim dari neuron aferen primer menuju kornu dorsalis medula spinalis, sampai traktus sensorik menuju otak. Neuron aferen primer memiliki peran dalam mengirim dan menerima secara aktif dari tanda elektrik dan kimiawi. Selanjutnya, akson dari neuron aferen primer selesai di kornu dorsalis medula spinalis dan akan bergabung bersama banyak neuron spinal sehingga memungkinkan adanya transmisi sinyal nyeri ke tingkat yang lebih tinggi.

3. Modulasi

Modulasi adalah proses yang mempengaruhi amplifikasi sinyal neural tentang nyeri yang terutama terjadi di kornu dorsalis medula spinalis dan bisa berlangsung pada level lainnya. Di kornu dorsalis, terdapat reseptor opiod seperti *mu*, *kappa*, dan *delta* yang berperan dalam proses modulasi. Selain itu, sistem noniseptif memiliki alur descending yang bermula dari korteks frontalis, hipotalamus, dan area otak lainnya kemudian menuju otak tengah (*midbrain*) dan medula oblongata dan akhirnya berakhir di medula spinalis. Proses inhibisi desendens ini dapat menjadikan kekuatan atau bisa juga penghalang (*block*) sinyal noniseptif di kornu dorsalis sehingga mempengaruhi persepsi nyeri.

4. Persepsi

Kepekaan akan perasaan rasa sakit yang berupa hasil gabungan dari proses transduksi, transmisi, modulasi, faktor kepribadian, serta ciri-ciri seseorang disebut juga dengan persepsi. *Noniceptor* adalah bagian tubuh yang berperan dalam memperoleh stimulus rasa sakit dan terletak di akhir syaraf bebas dalam kulit dan hanya merespon rangsangan kuat yang berpotensi merusak. Dalam konteks anatomi, reseptor nyeri dapat dibagi menjadi dua jenis yaitu bermiyelin dan tidak bermiyelin yang berasal dari syaraf aferen (Bahrudin, 2017).

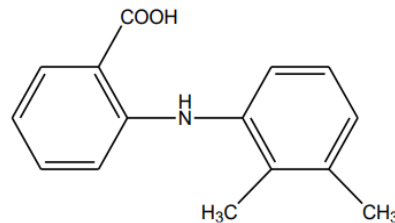
2.2 Analgesik

Zat yang berfungsi untuk pereda nyeri tanpa mempengaruhi kesadaran seseorang biasa dinamakan dengan analgesik. Obat analgesik biasanya dipakai

untuk meringankan sakit, seperti sakit gigi, sakit kepala, dll. Obat ini dibagi dalam dua kategori, analgesik opioid dan analgesik non opioid (Mita & Husni, 2017). Analgesik opioid adalah golongan obat yang bekerja dengan menekan sistem saraf pusat secara selektif, memiliki efek penghambat nyeri yang kuat dengan sasaran kerja di Sistem Saraf Pusat (SSP). Mekanisme kerja analgesik opioid sendiri dengan melibatkan pengikatan opioid pada reseptor yang menghasilkan pengurangan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel (Nugraha *et al.*, 2019). Obat analgesik opioid sering dipakai dalam mengatasi nyeri akut, seperti pada kasus cedera tulang dan kanker. Beberapa contoh obat dalam golongan ini adalah fentanil, kodein, dan metadon yang dapat membantu meredakan atau bahkan menghilangkan rasa nyeri sehingga obat-obat ini memainkan peran penting dalam pengelolaan nyeri akut dan memperbaiki kualitas hidup pasien (Mita & Husni, 2017). Pengobatan untuk nyeri ringan hingga sedang dapat menggunakan obat golongan analgesik non-opioid yang merupakan pilihan utama dalam meredakan nyeri. Penggunaan obat golongan analgesik non-opioid dapat meredakan nyeri tanpa mempengaruhi sistem saraf pusat dan tidak dapat menyebabkan efek adiksi karena golongan obat ini tidak memiliki sifat narkotika serta tidak bekerja juga pada sistem saraf pusat. Contoh obat golongan non-opioid yang sering digunakan dalam meredakan nyeri antara lain aspirin, ibuprofen, paracetamol dan lain-lain (Lina & Rahmawaty, 2022).

Asam mefenamat merupakan obat pereda nyeri yang efektif untuk mengatasi nyeri kepala, nyeri gigi, kram menstruasi dan nyeri pada otot. Obat ini bekerja sebagai antiinflamasi dan mempunyai efek kerja sebagai antipiretik serta analgesik (Djuwarno *et al.*, 2023). Asam mefenamat biasanya sering diresepkan oleh dokter dikarenakan efek nya dalam mengatasi nyeri (Harnis & Murdiani, 2019). Dalam meredakan nyeri asam mefenamat bekerja dengan menghalangi efek enzim cyclooxygenase (COX) yang membantu tubuh dalam memproduksi prostaglandin. Prostaglandin merupakan penyebab rasa sakit dan peradangan atau biasa disebut dengan mediator nyeri. Dengan asam mefenamat menghambat enzim COX, produksi prostaglandin akan berkurang sehingga rasa nyeri serta peradangan akan membaik (Zulkifli & Octaviany, 2019). Namun, efek dalam penggunaan asam mefenamat secara berkala dan dalam jangka waktu yang lama

akan menimbulkan efek samping berupa gangguan saluran cerna seperti muntah, mual, diare, leukopenia, trombositopenia dan gangguan darah lainnya, gangguan ginjal, syok serta gangguan penglihatan (Rusnaeni *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 Struktur Senyawa Asam Mefenamat

Sumber : (Depkes, 2020)

2.3 Pacing Tawar (*Costus speciosus*)

2.3.1 Deskripsi Tanaman

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Costus
Spesies	: <i>Costus speciosus</i>

(Sabtaulina, 2021)



Gambar 2.2 Bunga Pacing Tawar
(*Costus speciosus*)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

Tanaman Pacing Tawar (*Costus speciosus*) merupakan tanaman yang tersebar luas diberbagai benua seperti benua Afrika, Asia, Amerika Utara, dan Osenia. Tanaman ini juga termasuk spesies asli dari Asia Tenggara seperti Bangladesh, Bhutan, Indonesia, Cina, India, Hongkong, Malaysia, Nepal, Filipina, Singapura, Sri Lanka, Taiwan, Thailand, Vietnam, dan Myanmar (Sohrab *et al.*, 2021).

Di negara Indonesia tanaman ini dikenal dengan berbagai nama daerah seperti pacing atau pacing tawar dari Sunda, totar dari Batak, Kalacing dari Bangka, Binto dari Madura, Tepung tawa dari Bugis, dan Tubu-tubu dari Ambon. Tanaman pacing tawar adalah tumbuhan menahun yang dapat tumbuh menjulang hingga ketinggian 3-4 meter dengan batang yang kaya akan air yang banyak.

Tanaman ini umumnya tumbuh di tempat yang lembab dengan sedikit genangan air atau tumbuh liar dibawah tumbuh-tumbuhan yang tinggi seperti di hutan primer, hutan sekunder, maupun hutan jati dan untuk sebagian masyarakat biasanya menanam tanaman ini sebagai tanaman hias (Rudini, 2016).

2.3.2 Morfologi

Bunga pacing tawar berwarna putih atau kuning, mahkota bunganya berbentuk tabung dengan panjang 1 cm dan diameter sekitar 5 mm. Bunga ini memiliki bulir besar yang terletak pada ujung batang. Benang sari pada bunga memiliki panjang 6 cm, berwarna hijau dengan ujung yang runcing dan putik bunga tersembul diatas kepala sari berwarna putih. Daunnya berbentuk lonjong sampai lanset memanjang, merupakan daun tunggal, berwarna hijau, tersusun secara spiral melingkari batang, bagian tepi daun rata, dan memiliki panjang pangkal daun 11-28 cm. Buahnya berbentuk bulat telur berwarna merah, dengan biji kecil, keras, berwarna hitam dengan diameter kurang lebih 2 mm. Akarnya berupa akar serabut berwarna putih atau kuning kotor (Rudini, 2016).

Tanaman pacing tawar biasanya dipanen berdasarkan lamanya waktu tumbuh sejak penanaman hingga mencapai fase siap panen atau memenuhi kriteria yang ditetapkan untuk dipanen. Untuk bunga pacing biasanya dipanen atau dipetik pada pagi hari untuk mendapatkan kualitas bunga yang baik dan waktu tumbuh bunga kembali dan siap dipanen setiap 6 hari sekali (Tsaqila *et al.*, 2020).

2.3.3 Manfaat

Tanaman pacing tawar memiliki banyak manfaat diantaranya pada bagian rimpang pacing dipakai untuk obat topikal dalam menangani luka, dermatitis atopik (eksim), dan juga untuk gatal-gatal. Daun pacing tawar muda dapat digunakan untuk menurunkan glukosa darah dan menumbuhkan rambut. Pada bagian rimpang bermanfaat untuk sembelit, kusta, anemia, asma, gangguan fungsi hati, nyeri empedu, penyakit kuning, sakit perut, serta untuk rasa terbakar pada kulit. Bagian umbi bisa menyembuhkan bengkak, kekurangan gizi, dan infeksi saluran kemih (Wahyuningtyas, 2020).

2.3.4 Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian sebelumnya dalam pemeriksaan kandungan zat aktif pada tanaman pacing tawar diperoleh hasil bahwa pada bagian bunga

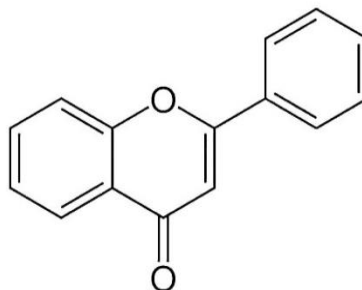
mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin (Fathirah *et al.*, 2022). Bagian rimpang pacing mengandung senyawa berupa flavonoid, fenolik, steroid, tanin, saponin, diosgenin, tigogenin, triterpen, keton alifatik hidroksi, asam absisik, oxa-asam, lendir pati, asam lemak, dan asam lemak (Rudini *et al.*, 2022). Bagian daun pacing mengandung saponin, flavonoid, dan tanin (Nengsi *et al.*, 2021).

2.4 Golongan Senyawa Yang Berperan Sebagai Analgesik

2.4.1 Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan di alam dan telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat. Secara struktur, flavonoid memiliki kerangka dasar berupa dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh dua atom C, serta sebuah cincin heterosiklik beroksigen yang menyatukan kedua cincin tersebut. Senyawa ini termasuk salah satu metabolit sekunder yang diproduksi oleh tumbuhan, termasuk pada bagian daun. Namun, flavonoid jarang ditemukan dalam bentuk tunggal, melainkan dalam bentuk campuran. Flavonoid juga merupakan kelompok senyawa yang mudah larut di air. Pada tumbuhan, flavonoid ditemukan dalam bentuk glikosida maupun aglikon (Jannah *et al.*, 2024).

Flavonoid memiliki efek pereda nyeri karena dapat menghalangi aktivitas enzim siklooksigenase yang berperan dalam mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Dengan demikian, flavonoid dapat mengurangi produksi prostaglandin, yang merupakan salah satu penyebab nyeri (Lina & Rahmawaty, 2022).

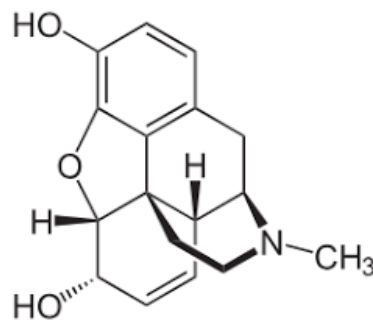


Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid

Sumber : (Syahmani *et al.*, 2022)

2.4.2 Alkaloid

Merupakan salah satu jenis senyawa yang mempunyai sifat basa dan mengandung atom nitrogen dalam struktur sikliknya satu atau lebih. Senyawa ini umumnya terdapat diberbagai bagian tumbuhan seperti daun, bunga, biji, ranting, akar, dan kulit batang. Kadar alkaloid dalam tanaman biasanya relatif rendah dan memerlukan proses pemisahan dari gabungan senyawa kompleks lainnya yang terkandung dalam jaringan tanaman. Proses pemisahan ini diperlukan untuk mendapatkan alkaloid dalam bentuk murni (Maisarah *et al.*, 2023). Alkaloid mempunyai peran untuk menghambat proses biosintesis prostaglandin, terutama pada tahap konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin melalui jalur metabolime siklooksigenase (Tamimi *et al.*, 2020).



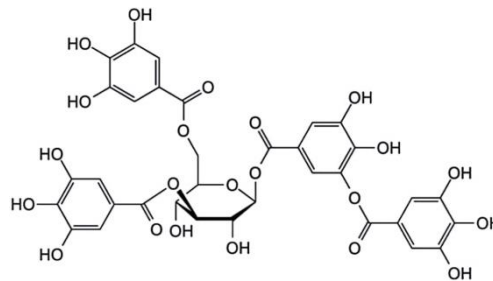
Gambar 2.4 Struktur Kimia Alkaloid

Sumber : (Syahmani *et al.*, 2022)

2.4.3 Tanin

Merupakan senyawa polifenolik kompleks yang terbentuk dari kombinasi polifenol dengan unsur karbon, hidrogen, oksigen serta memiliki berat molekul yang tinggi cenderung membentuk molekul besar. Berdasarkan struktur kimianya, tanin dibagi menjadi dua jenis, yaitu tanin hidrolitik dan kondensasi. Sifat dasar tanin bergantung pada gugus fenolik yang terkandung didalamnya, dan dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu sifat kimiawi dan fisik. Secara kimia, tanin ditandai oleh keberadaan gugus fenol dan sifat koloid. Tanin juga memiliki kelarutan yang besar dalam air dan kelarutan ini akan semakin meningkat saat dilarutkan dengan air panas. Selain itu, tanin juga dapat larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan lain-lain. Secara fisik, tanin memiliki berat molekul yang besar dan cenderung mudah teroksidasi yang menghasilkan polimer (Nofita & Dewangga, 2021). Mekanisme tanin sebagai analgesik dengan

menghambat enzim siklooksigenase sehingga produksi mediator nyeri berkurang dan jumlah geliat pada mencit juga berkurang (Yazidah *et al.*, 2022).

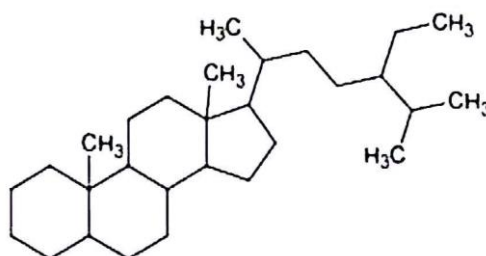


Gambar 2.5 Struktur Kimia Tanin

Sumber : (Syahmani *et al.*, 2022)

2.4.4 Steroid

Steroid merupakan kelompok terpenoid lipid yang ditandai oleh kerangka dasar khas berupa empat cincin karbon yang menyatu. Struktur steroid sangat bervariasi karena adanya berbagai gugus fungsi teroksidasi yang menempel pada cincin serta kemungkinan terjadinya oksidasi pada cincin karbon. Berdasarkan sumbernya, steroid dibedakan menjadi steroid sintesis dan alami (Nasrudin *et al.*, 2017). Mekanisme steroid yang mempunyai efek analgesik melibatkan biosintesis protein lipomodulin yang mengakibatkan terhalangnya enzim fosfolipase. Enzim ini memainkan peran penting dalam proses inflamasi dan nyeri dengan memicu pelepasan protanoid untuk membuat prostaglandin melalui jalur asam arakidonat yang selanjutnya dikatalisasi oleh siklooksigenase. Dengan terhalangnya proses enzim fosfolipase, jalur siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) menjadi terhalang, sehingga produksi mediator nyeri menjadi terhambat (Sa'adah *et al.*, 2022).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Steroid

Sumber : (Syahmani *et al.*, 2022)

2.5 Simplisia

Menurut standar farmakope, simplisia didefinisikan sebagai bahan alami yang telah dijemur dan siap dipakai untuk tujuan pengobatan, tanpa melalui tahap pembuatan yang signifikan dari bentuk asalnya. Simplisia dapat berasal (Kementrian Kesehatan RI, 2017). Simplisia dapat diperoleh dari beberapa sumber, yakni tanaman, hewan, dan mineral. Simplisia nabati meliputi tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman yang belum diolah menjadi zat kimia murni. Simplisia hewani mencakup hewan utuh, sebagian hewan atau zat-zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diproses menjadi zat kimia murni. Simplisia pelikan merupakan bahan pelikan yang belum mengalami pengolahan lanjutan dan masih dalam bentuk yang relatif murni (Rosmini *et al.*, 2021).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahapan pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa dari bahan alami atau simplisia menggunakan pelarut yang tepat. Prinsip dasar ekstraksi didasarkan pada konsep *like dissolve like* yang berarti bahwa senyawa polar akan terlarut pada pelarut yang polar dan senyawa non polar akan larut pada pelarut non polar. Dalam memilih metode ekstraksi, beberapa faktor harus dipertimbangkan, termasuk sifat senyawa kimia, jenis pelarut, dan ketersediaan alat. Metode ekstraksi dapat dibagi menjadi dua kategori utama yaitu ekstraksi cara dingin dan cara panas (Syamsul *et al.*, 2020).

2.6.1 Cara Dingin

Metode yang dalam proses ekstraksi berlangsung tidak ada proses pemanasan untuk menghindari rusaknya senyawa akibat pemanasan.

1. Maserasi

Merupakan suatu metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut pada suhu ruang, sehingga risiko kerusakan senyawa dapat berkurang. Pada metode maserasi, terjadi proses difusi hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara pelarut diluar dan didalam sel tanaman yang memerlukan penggantian pelarut secara berkala agar perbedaan konsentrasi tetap terjaga sehingga penarikan senyawa aktif berlangsung lebih efisien dan memperoleh hasil ekstraksi yang maksimal. Selain itu, terdapat variasi metode seperti kinetik yang melibatkan

pengadukan selama proses maserasi dan digesti yang dilakukan pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60°C sehingga dapat mempercepat proses ekstraksi.

2. Perkolasi

Merupakan metode ekstraksi yang melibatkan penggunaan pelarut baru, yang pada prosesnya pelarut akan dialirkan melalui simplisia sehingga senyawa yang terkandung di dalamnya dapat tersari dengan sempurna. Metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama dan jumlah pelarut yang lebih banyak, namun dapat menghasilkan ekstrak lebih murni. Proses perkolasi dapat dikatakan sempurna dengan melalui uji perkolat menggunakan pereaksi spesifik untuk mendeteksi adanya metabolit yang diinginkan.

2.6.2 Cara Panas

1. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan bantuan alat soxhlet. Dalam proses ini, simplisia dan ekstrak dipisahkan oleh labu yang berbeda. Ketika pelarut dipanaskan, uapnya akan naik ke labu pendingin dimana uap tersebut dikondensasi dan jatuh kembali ke bagian simplisia, sehingga ekstraksi dapat berlangsung dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Proses ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung, karena pelarut secara terus-menerus mengalir dan menguap yang memungkinkan ekstraksi senyawa dari simplisia dengan efisiensi yang lebih tinggi.

2. Refluks

Refluks adalah teknik ekstraksi yang melibatkan pemanasan pelarut pada suhu optimal selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang terbatas dan stabil, serta menggunakan sistem pendinginan ulang. Untuk memperoleh hasil ekstraksi yang maksimal, proses refluks biasanya diulang beberapa kali yaitu 3-6 kali pada sisa awal. Namun, perlu diingat bahwa teknik ini dapat menyebabkan penguraian komponen aktif yang tidak tahan panas sehingga perlu dilakukan dengan hati-hati dan kontrol suhu yang tepat.

3. Dekok

Metode ekstraksi yang memiliki kesamaan seperti infusa, namun terdapat beberapa perbedaan penting seperti waktu lebih banyak untuk mengekstraksi yaitu sekitar 30 menit dengan temperatur yang lebih tinggi hingga titik didih air.

4. Destilasi

Teknik ekstraksi yang digunakan untuk memisahkan senyawa yang menguap dengan air sebagai pelarut. Dalam proses destilasi, uap air dan senyawa akan menguap bersama, kemudian didinginkan sehingga terkondensasi dan terbagi menjadi dua bagian yaitu destilat air dan senyawa yang diekstraksi.

5. Infusa

Infusa adalah suatu metode ekstraksi yang melibatkan penyarian simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit untuk menghasilkan sediaan cair (Aprilyanie *et al.*, 2023).

2.7 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan senyawa aktif dari suatu ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran antara dua pelarut yang tidak dapat bercampur dengan menggunakan corong pemisah. Penggunaan pelarut dalam proses fraksinasi sesuai persyaratan yaitu pelarut yang digunakan tidak boleh bercampur dengan air, bobot jenis pelarut lebih rendah daripada air sehingga lapisan atas dari pelarut dapat terbentuk dengan demikian pemisahan mudah dilakukan, dan pelarut yang digunakan harus aman dan tidak merusak lingkungan (Rusli *et al.*, 2023). Pemisahan pada tahap fraksinasi dengan corong pisah dilakukan berdasarkan perbedaan kepadatan dan tingkat kepolaran antara dua fraksi yang digunakan. Fraksi yang memiliki massa jenis lebih rendah akan berada pada lapisan atas sedangkan fraksi dengan massa jenis lebih tinggi akan mengendap pada lapisan bawah (Constanty & Tukiran, 2021).

Umumnya pelarut yang digunakan dalam fraksinasi meliputi etil asetat, metanol dan n-heksan. Etil asetat berfungsi dalam menarik senyawa semi polar, metanol digunakan untuk mengekstraksi senyawa polar, dan n-heksan digunakan untuk mengekstraksi lemak serta senyawa non polar. Melalui proses ini, sifat

kepolaran senyawa yang dipisahkan dapat diperkirakan. Sebagai contoh, senyawa non polar cenderung larut dalam pelarut non polar, sementara senyawa polar akan lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar (Shina *et al.*, 2024).

2.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu metode kromatografi yang paling sering digunakan untuk memastikan hasil skrining fitokimia secara lebih mendalam. KLT memungkinkan analisis sejumlah kecil senyawa organik, termasuk untuk memperkirakan jumlah metabolit sekunder dan mengevaluasi kemurnian suatu senyawa. Metode ini melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (eluen). Fase gerak biasanya berupa campuran pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan senyawa sehingga dapat mendorong proses elusi dan pemisahan didalam wadah. Efektivitas elusi dipengaruhi oleh polaritas total pelarut, polaritas fase diam, serta karakteristik kimiawi komponen sampel (Pratiwi *et al.*, 2023).

Untuk fase diam biasanya plat KLT yang digunakan akan dilapisi oleh lapisan tipis adsorbent seperti silica gel, aluminium oxide, atau selulosa. Metode ini banyak dipilih karena kelebihannya, antara lain prosesnya relatif cepat dan sederhana, serta biaya yang lebih rendah dibandingkan metode kromatografi lainnya. Selain itu, KLT memungkinkan identifikasi senyawa pada obat-obatan maupun bahan herbal dengan persiapan sampel yang minimal, sehingga tidak memerlukan banyak bahan atau langkah laboratorium yang kompleks. Metode ini juga memungkinkan analisis paralel beberapa sampel sekaligus, sehingga perbandingan profil kimia antar sampel dapat dilakukan dengan lebih efisien. (Prasetyawan *et al.*, 2024).

Prinsip metode kromatografi lapis tipis yaitu molekul yang dipisahkan bergerak melalui media dengan kecepatan berbeda. Alat dan bahan yang dibutuhkan juga tidak banyak yaitu berupa bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Analisis dengan KLT dimulai dengan menotolkan sedikit sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT) untuk membentuk zona awal, kemudian sampel tersebut dikeringkan. Ujung fase diam yang mengandung zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, komponen-komponen dalam sampel akan bermigrasi

dengan kecepatan berbeda saat fase bergerak melalui fase diam. Proses ini disebut pengembangan kromatogram (Hafizah & Sunardi, 2024).

2.9 Spektro FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

FTIR adalah salah satu instrumen yang efektif dan banyak dipakai dalam mengidentifikasi senyawa, karena mampu mendeteksi gugus fungsi dengan cepat, tidak merusak sampel dan dapat sekaligus menganalisis dua atau lebih komponen. Pengujian menggunakan FTIR akan memperoleh data karakteristik kimiawi dari sampel biologis berupa spektra FTIR, yang mencerminkan interaksi antara senyawa kimia dalam matriks sampel yang kompleks. Spektra tersebut mengandung informasi struktur molekul yang sangat banyak, ditandai dengan pita serapan spesifik untuk setiap molekul sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pembeda bahan baku yang mempunyai kemiripan (Saputri *et al.*, 2023).

Rentang inframerah dalam spektrum elektromagnetik biasanya berada pada panjang gelombang sekitar 1400 cm^{-1} hingga 10 cm^{-1} . Berdasarkan rentang tersebut, wilayah inframerah dibagi menjadi tiga bagian yaitu IR dekat ($14000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) yang sensitif terhadap getaran overtone, IR sedang ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul dan banyak menginformasikan mengenai gugus fungsi, serta IR jauh ($400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$) yang digunakan untuk menganalisis molekul dengan atom berat seperti senyawa anorganik, meskipun biasanya memerlukan teknik khusus. Dalam praktiknya, analisis FTIR umumnya dilakukan pada wilayah IR sedang (Sari *et al.*, 2018).

FTIR memiliki prinsip kerja didasarkan pada interaksi antara energi inframerah dan materi. Inframerah akan dialirkan melalui sebuah celah yang berfungsi mengatur intensitas energi sebelum mencapai sampel. Sebagian radiasi inframerah akan diserap oleh sampel, sementara sisanya diteruskan melalui permukaannya. Radiasi yang berhasil melewati sampel kemudian mencapai detektor akan menghasilkan sinyal yang selanjutnya dikirim komputer dan ditampilkan sebagai spektrum berupa puncak-puncak serapan (Sari *et al.*, 2018).

Metode ini adalah teknik analisis yang tidak memerlukan reagen, tidak menggunakan zat radioaktif, dan mampu mengukur kadar suatu komponen, termasuk hormon baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Secara kualitatif, FTIR dimanfaatkan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi yang terdapat

dalam suatu senyawa. Sementara itu, analisis kuantitatif dengan FTIR umumnya digunakan untuk menentukan konsentrasi analit yang terkandung dalam sampel. Identifikasi gugus fungsi dalam sampel dilakukan dengan membandingkan pita serapan yang muncul pada spektrum inframerah dengan spektrum standar dari senyawa pembanding yang telah diketahui karakteristiknya (Sari *et al.*, 2018).

2.10 Mencit (*Mus musculus*)

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) putih yang memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Filum : Chordata
 Kelas : Mammalia
 Ordo : Rodentia
 Family : Muridae
 Spesies : *Mus musculus*
 (Lestari, 2020)



Gambar 2.7 Mencit (*Mus musculus*)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan yang sangat aktif di malam hari dan memiliki keterbatasan penglihatan, tetapi dapat mengandalkan kumisnya sebagai alat dalam memandu arah. Dalam penelitian laboratorium 40-80%, untuk hewan yang paling sering dipakai sebagai hewan uji adalah mencit seperti pada penelitian laboratorium yang berhubungan dengan bagian farmakologi, patologi, fisiologi, toksikologi, dan juga histopatologi. Sebagai hewan percobaan yang sering digunakan di laboratorium, mencit mempunyai banyak kelebihan yaitu seperti reproduksi cepat, siklus hidup yang pendek, variasi karakteristik yang luas, dan dapat dikendalikan dengan gampang. Ciri-ciri dari mencit meliputi takut terhadap cahaya, jinak, sangat aktif pada malam hari, mudah berkembangbiak, siklus hidup pendek, dan tergolong poliestrus (Berliani *et al.*, 2021). Mencit memiliki beberapa karakteristik yaitu rata-rata umur hidupnya 1-2 tahun dengan kemungkinan hidup mencapai 3 tahun. Mencit memiliki ukuran tubuh lebih kecil yaitu 12-20 cm termasuk ekor dan berat badan nya mulai dari 20-45 gram. Warna tubuh mencit sangat bervariasi mulai dari warna putih, cokelat, hingga abu-abu. Ekor mencit panjang, tipis, dan berbulu. Dalam penggunaan sebagai hewan uji, umur mencit yang digunakan yaitu dari rentang umur 30-120 hari (Rejeki *et al.*, 2018).

2.11 Metode Uji Analgesik

2.11.1 Metode *Hot Plate*

Teknik yang melibatkan penempatan hewan percobaan di permukaan panas. Reaksi yang akan ditimbulkan oleh hewan uji berupa jilat kaki, lompat, dan gemetar pada kaki. Dalam mendeteksi aktivitas obat analgesik yang diberikan secara topikal, sangat cocok untuk menggunakan metode hot plate. Metode ini memiliki cara kerja dengan melakukan pengamatan dan pencatatan frekuensi gerakan nyeri pada hewan uji yang diberi perlakuan lalu dibandingkan dengan kelompok uji standar atau obat yang sudah teruji dan kelompok kontrol (placebo) (Jayantini *et al.*, 2021).

2.11.2 Metode *Tail Flick*

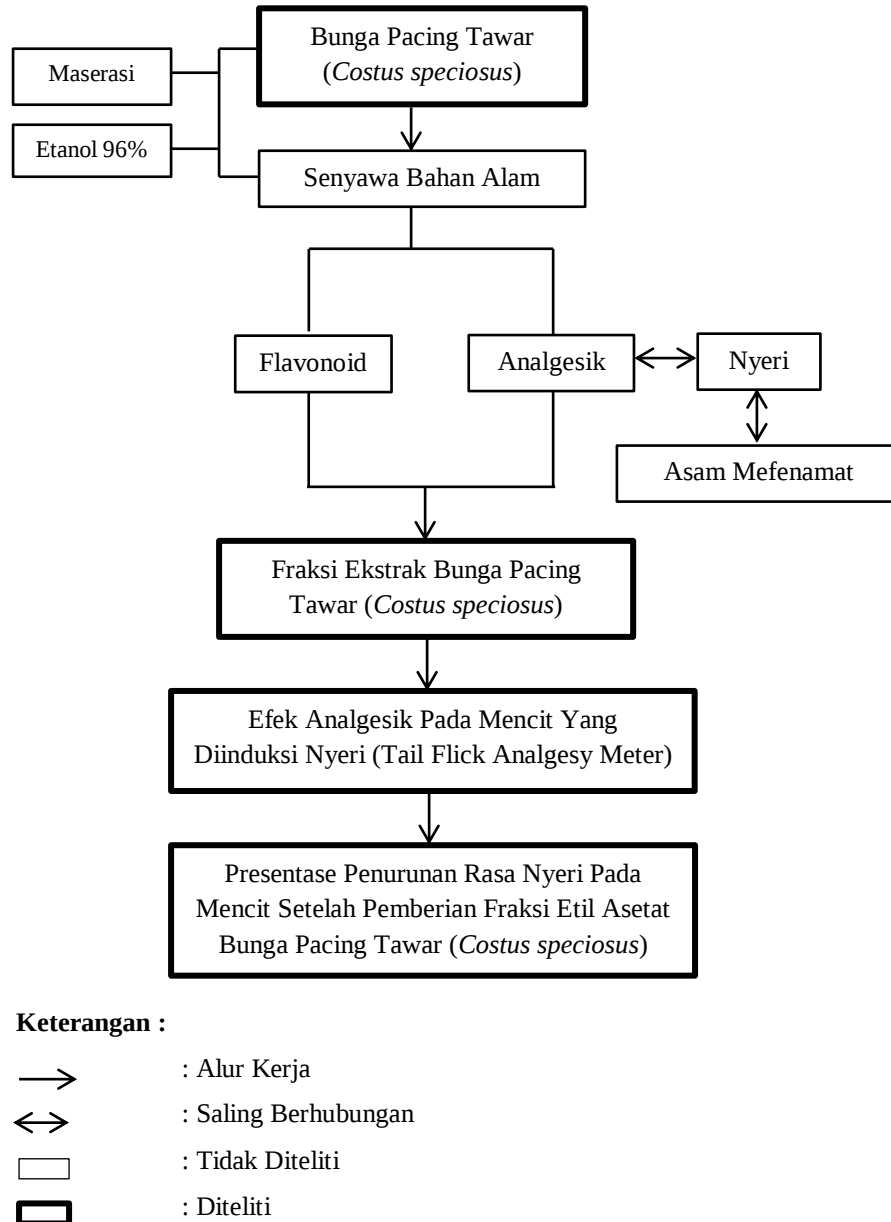
Tail flick analgesy meter merupakan metode pengukuran nyeri dengan menggunakan panas sebagai penginduksi nyeri nya (Safitri *et al.*, 2022). Prinsip metode ini adalah dengan mencatat waktu yang diperlukan hewan percobaan dalam merespons stimulus panas di suhu 50°C pada ekor, yang ditandai dengan menggerakkan atau menarik ekor secara mendadak (Keswara & Handayani, 2019). Alat analgesy meter sudah dilengkapi dengan suhu ruangan dan stopwatch. Bagian atas alat ini dilengkapi dengan kaca berlubang yang berfungsi sebagai tempat meletakkan mencit selama proses pengujian berlangsung. Melalui bagian tersebut, posisi ekor, tubuh, dan leher mencit dapat difiksasi dengan baik agar tetap stabil sehingga hewan uji tidak bergerak selama prosedur. Setelah hewan uji ditempatkan dan diposisikan kemudian diberikan rangsangan panas yang dihasilkan dari aliran listrik pada alat dengan suhu 70°C. Pada metode ini, parameter yang diamati adalah waktu reaksi mencit terhadap rangsangan termal. Respon nyeri ditentukan berdasarkan lamanya waktu yang dibutuhkan hingga ekor mencit menunjukkan reaksi terhadap panas, kemudian dicatat sebagai data hasil pengujian (Kumala, 2024).

2.11.3 Metode Rangsangan Kimia

Metode ini bekerja dengan menginjeksikan zat iritan seperti asam asetat ke dalam hewan uji. Respon geliat yang muncul kemudian diamati sebagai reaksi nyeri. asam asetat yang disuntikkan secara intraperitoneal memicu reaksi nyeri karena rangsangan non-spesifik perifer oleh prostaglandin. Pada mencit, asam

asetat 1% disuntikkan secara intraperitoneal, kemudian jumlah geliat dihitung setiap 5 menit sekali selama 1 jam (Familia *et al.*, 2023).

2.12 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep Penelitian

2.13 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.1 Penelitian Terdahulu

No.	Judul	Metode	Kesimpulan
1.	Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Pacing Putih (<i>Costus speciosus</i> (J.Koenig) Sm.) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> , (Rahmawati <i>et al.</i> , 2022)	Penelitian antibakteri menggunakan metode difusi agar sumuran dengan modifikasi terhadap bakteri <i>escherichia coli</i> ATCC 25922.	Bunga pacing putih menunjukkan aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar etanol dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,7 mm yang termasuk ke dalam kategori lemah.
2.	Potensi Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Bunga Pacing Putih (<i>Costus speciosus</i> (J.Koenig) Sm.), (Fathirah <i>et al.</i> , 2022)	Penelitian kuantitatif dengan metode penghambatan denaturasi protein bovine serum albumin dan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Ekstrak	Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak etanol bunga pacing putih (<i>Costus speciosus</i> (J.Koenig) Sm.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin dengan nilai <i>inhibition concentration</i> (IC ₅₀) sebesar 30,9031 mg/L. Ekstrak etanol bunga pacing putih (<i>Costus speciosus</i> (J.Koenig) Sm.) memiliki aktivitas antiinflamasi yang bersifat sangat kuat.
3.	<i>Analysis of the Antioxidant Potential of Ethanol Extracts from Pacing Plant (Costus speciosus) with DPPH Method</i> , (Riany & Wahyuningtyas, 2024)	Penelitian kuantitatif dengan metode pengukuran antioksidan menggunakan 1,1-difenil-2 pikrihidrazin (DPPH)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang, daun, dan bunga tanaman pacing mengandung antioksidan. Kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada daun dengan nilai IC ₅₀ sebesar 17,8 ppm, diikuti batang dengan nilai IC ₅₀ sebesar 24,22 ppm, dan bunga dengan nilai IC ₅₀ sebesar 24,85 ppm. kandungan metabolit sekunder pada tanaman pacing menunjukkan adanya flavonoid dan alkaloid pada daun, flavonoid dan fenol pada batang, dan pada bunga hanya terdeteksi flavonoid.

2.14 Uraian Bahan

1. Asam Asetat Anhidrat (Depkes, 2020)

Nama Resmi	: ACIDUM ACETIC ANHIDRIDA
Rumus Molekul	: CH_3COOH
Berat Molekul	: 60,05
Pemerian	: Cairan jernih tidak berwarna, bau khas, menusuk, dan rasa asam yang tajam
Kelarutan	: Dapat bercampur dengan air, etanol dan gliserol
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat
Kegunaan	: Sebagai pereaksi

2. Aquadest (Depkes, 1979)

Nama Resmi	: AQUA DESTILATA
Nama Lain	: Air Suling
Rumus Molekul	: H_2O
Bobot Molekul	: 18,02
Pemerian	: Cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup
Kegunaan	: Sebagai pelarut

3. Asam Mefenamat (Depkes, 2020)

Nama Resmi	: Asam N-2,3xililantrannilat
Nama lain	: $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_2$
Bobot molekul	: 241,29
Pemerian	: Serbuk hablur putih atau hampir putih, melebur pada suhu lebih kurang 230°C disertai peruraian
Kelarutan	: Larut dalam larutan alkali hidroksida, agak sukar larut dalam kloroform, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, praktis tidak larut dalam air
Khasiat	: Antiinflamasi, analgesic, antipiretik
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya

4. Aluminium (III) Klorida (Depkes, 2020)

Nama Resmi	: BESI (III) KLORIDA
Rumus Molekul	: FeCl_3
Pemerian	: Hablur atau serbuk hablur, berwarna hijau kehitaman
Kelarutan	: Larut dalam air dan etanol
Kegunaan	: Sebagai pereaksi

5. Etanol (Depkes, 2020)

Nama Resmi	: AETHANOLUM
Nama Lain	: Alkohol, etanol, etil alkohol
Rumus Molekul	: $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Bobot Molekul	: 46,07
Pemerian	: Cairan tidak berwarna, jernih, mudah menguap, memiliki bau khas, mudah terbakar
Kelarutan	: Bercampur dengan air dan semua pelarut organik
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, terhindar dari cahaya dan jauh dari nyala api

6. Etil Asetat (Minarni, 2013)

Nama resmi	: Etil Asetat
Nama lain	: Hidroksimetana, metil alcohol, metal hidrat
RM/BM	: $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2/32$
Pemerian	: Cairan tidak berwarna, jernih, bau khas, tidak beracun, mudah menguap, dan tidak higroskopis
Kelarutan	: Melarutkan air hingga 3% dan larut dalam air hingga 8% pada suhu kamar, kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Tidak stabil dalam air yang basa dan asam
Kegunaan	: Sebagai pelarut non polar
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, jauh dari api

7. Na CMC (Depkes, 1995)

Nama Resmi	: CARBOXYMETHYLCELLULOSE SODIUM
Pemerian	: Serbuk atau granul, putih, higroskopis, tidak

	berbau, dan tidak berasa
Kelarutan	: Mudah terdispersi dalam air, tidak larut dalam etanol, eter dan pelarut organik lain
Kegunaan	: Sebagai suspending agent
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat

8. N-Heksana (Ditjen POM, 1979)

Nama resmi	: HEXAMINUM
Nama lain	: Heksamina
Rumus molekul	: C_6H_{14}
Bobot molekul	: 140,19 g/mol
Pemerian	: Hablur mengkilap, tidak berwarna atau serbuk hablur putih, tidak berbau, rasa membakar, dan manis kemudian agak pahit. Jika dipanaskan dalam suhu + 26°C menyublim
Kelarutan	: Larut dalam 1,5 bagian air, dalam 12,5 mL etanol (95%) P dan larut dalam kurang lebih 10 bagian kloroform P
Kegunaan	: Sebagai pelarut
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup baik

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini berupa penelitian kuantitatif bersifat eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi Farmasi, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong dengan menggunakan mencit putih untuk melihat pengaruh fraksi ekstrak bunga pacing tawar sebagai analgesik.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.

Tabel 3.1 Jadwal Kegiatan Penelitian

Kegiatan	Juli	Agustus	September
Penyiapan Sampel Bunga Pacing Tawar			
Pembuatan Ekstrak Bunga Pacing Tawar			
Fraksinasi			
Skrining Fitokimia			
Pengujian KLT			
Uji FTIR			
Adaptasi Hewan Uji			
Pembuatan Suspensi Uji			
Uji Efektivitas Analgesik			
Analisis Data			

3.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan yaitu fraksi ekstrak bunga pacing tawar (*Costus speciosus*).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan yaitu respon yang diberikan mencit setelah diinduksi nyeri menggunakan analgesy meter.

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol yaitu mencit yang sehat dengan berat badan 20-30 gram, berjenis kelamin jantan dan berumur 2-3 bulan.

3.4 Definisi Operasional

1. Fraksi ekstrak bunga pacing tawar merupakan hasil pemisahan menggunakan ekstrak bunga pacing tawar dengan beberapa pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda sehingga menghasilkan fraksi ekstrak bunga pacing tawar
2. Efektivitas analgesik merupakan kemampuan fraksi ekstrak bunga pacing tawar dalam menghambat rasa nyeri pada mencit
3. Respon nyeri merupakan respon yang diberikan mencit terhadap rangsangan nyeri menggunakan tail flick analgesy meter yang berupa jentikan pada ekor mencit.

3.5 Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan penelitian eksperimen di laboratorium dengan model *pretest-posttest control group design* yang digunakan untuk melihat perubahan yang terjadi pada mencit ketika diinduksi nyeri dengan metode tail flick sebelum dan sesudah diberi fraksi ekstrak bunga pacing tawar.

3.6 Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah tanaman pacing tawar diperoleh di wilayah Papua Barat Daya

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah bunga pacing tawar yang dikumpulkan di sekitaran Jalan Pariwisata, Aimas, Sorong

3.7 Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*. Teknik ini digunakan untuk menentukan sampel dengan pertimbangan atau kriteria yang telah ditentukan terlebih dahulu. Untuk kriteria inklusi nya berupa bunga pacing tawar berwarna putih, segar, tanpa kerusakan dan berasal dari jenis tanaman yang sama sedangkan kriteria eksklusi berupa bunga pacing tawar yang tidak segar atau layu dan ada kerusakan pada bunganya.

3.8 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur waktu reaksi mencit yang diinduksi nyeri pada ekor mencit menggunakan metode tail flick analgesy meter,

lalu dilakukan pengamatan langsung terhadap perilaku mencit sesudah diberi fraksi ekstrak bunga pacing tawar dan dicatat waktu reaksi dari setiap percobaan.

3.9 Instrumen Penelitian

3.9.1 Alat

Penelitian ini menggunakan berbagai alat seperti analgesy meter, aluminium foil (*klinpak*), ayakan, blender (*miyako*), batang pengaduk, cawan penguap, corong saring (*pyrex*), corong pisah (*duran*), chamber KLT, gelas beker (*pyrex*), handscoon, kertas saring, kandang hewan, kanula, spuit, alat FTIR, oven (*kento*), pisau, pipet tetes, plat silica GF254, timbangan analitik (*ohaus*), tabung reaksi, waterbath (*mommert*), dan wadah maserasi.

3.9.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan berupa simplisia bunga pacing tawar, aquadest (*onelab*), etanol 96% (*JK care*), asam mefenamat, Na CMC (*aloin*), asam asetat (*smartlab*), aluminium (III) klorida (AlCl_3) (*merck*), etil asetat (*merck*), n-butanol (*merck*), n-heksana (*merck*), Pb (II) asetat, kalium bromida (*pudak scientific*) dan kuersetin (*alorich*).

3.10 Prosedur Kerja

3.10.1 Penyiapan Sampel

Sampel bunga pacing tawar yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bahan simplisia dengan kotoran atau bahan asing, lalu dicuci menggunakan air mengalir dan ditiriskan. Bunga pacing tawar selanjutnya dirajang untuk mempermudah pengeringan. Sampel akan dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 3 hari. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender lalu diayak hingga mendapatkan serbuk halus (Pratiwi *et al.*, 2022).

3.10.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Pacing Tawar

Simplisia bunga pacing tawar dimasukkan ke dalam wadah maserasi sebanyak 150 gram dengan dicampur pelarut etanol 96% 1500 mL hingga semua sampel terendam dengan baik. Wadah maserasi selanjutnya ditutup rapat dengan didiamkan selama 3 hari perendaman sambil dilakukan pengadukan sesekali atau 1x24 jam dan terlindungi dari cahaya. Setelah 3 hari perendaman, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu.

Selanjutnya residu yang diperoleh dilakukan remaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 1500 mL selama 2 hari. Kedua hasil filtrat disatukan dan dipekatkan menggunakan waterbath pada suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental (Pratiwi *et al.*, 2022). Kemudian dihitung hasil rendemen dengan menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

3.10.3 Fraksinasi Ekstrak Etanol Bunga Pacing Tawar

Fraksinasi dilakukan dengan menimbang 10 gram ekstrak bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) dilarutkan dalam 100 mL aquadest hangat kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan difraksinasi dengan n-heksana sebanyak 100 mL. Selanjutnya, dikocok pelan dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan selama 30 menit (lapisan aquadest dibawah dan lapisan n-heksan diatas), lalu ambil lapisan n-heksan dan lakukan sebanyak 3 kali pengulangan hingga n-heksan menjadi bening. Fraksi selanjutnya dilakukan penambahan etil asetat sebanyak 100 mL kedalam lapisan air sebelumnya kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest dibawah dan lapisan etil asetat diatas). Lalu diambil etil asetat dan lakukan sebanyak 3 kali pengulangan hingga etil asetat menjadi bening. Hasil fraksi etanol air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana selanjutnya dikentalkan di atas waterbath (Shina *et al.*, 2024).

3.10.4 Uji Senyawa Flavonoid

Masing-masing sampel sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan ditambahkan 3 tetes pereaksi Pb II asetat (CH_3COO). Kemudian dilihat perubahan warna yang terjadi, jika warna pada sampel menunjukkan warna merah, kuning, atau jingga menandakan sampel mengandung flavonoid (Rika, 2024).

3.10.5 Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian ini dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif terkandung pada sampel dari hasil uji skrining fitokimia dengan uji reagen. Fase diam yang digunakan dalam pengujian KLT yaitu plat silica gel GF254 ukuran 3x10 cm sedangkan fase gerak berupa N-Butanol : Asam asetat : Air (4:1:5), penampak noda yang digunakan pereaksi semprot aluminium (III) klorida 5% dan untuk

baku pembanding nya menggunakan kuersetin (Noviyanti *et al.*, 2019). Pembuatan reagen semprot dilakukan dengan menimbang sebanyak 5 gram AlCl_3 , dimasukkan kedalam gelas beaker 100 mL kemudian dilarutkan dengan sedikit aquadest. Setelah itu, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas lalu homogenkan (Noviyanti *et al.*, 2025).

Tahapan pengujian KLT dilakukan dengan menotolkan fraksi etil asetat bunga pacing tawar pada plat silica gel dengan jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler. Kemudian plat dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan kemudian ditunggu hingga eluen keatas menuju batas plat KLT lalu diangkat dan dikering anginkan. Noda-noda yang terbentuk pada plat silica gel diamati dibawah sinar uv pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya plat disemprot menggunakan reagen semprot aluminium (III) klorida 5% (Pratiwi *et al.*, 2023) dan diamati bercak noda secara visual dibawah sinar uv pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm yang akan terbentuk warna noda, jumlah noda, dan perhitungan Rf. Bercak noda akan berfluorosensi dengan warna biru, kuning, jingga serta nilai Rf yang bagus berkisar antara 0,2 sampai dengan 0,8. Jika Rf terlalu tinggi maka perlu mengurangi kepolaran eluen (Noviyanti *et al.*, 2019).

3.10.6 Pengujian Fourier Transform InfraRed (FTIR)

Sebanyak 0,0020 g sampel kemudian campurkan dengan 0,1980 g KBr, lalu haluskan hingga homogen dan dipres hingga membentuk lempeng tipis. Sampel tersebut kemudian dianalisis menggunakan instrumen FTIR. Setelah spektrum diperoleh, hasil kromatogram dibandingkan dengan tabel IR untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam sampel (Fabanyo *et al.*, 2023).

3.10.7 Penyiapan Mencit

Hewan uji yang digunakan berupa mencit putih jantan yang sehat dengan umur sekitar 2-3 bulan dan memiliki berat badan rata-rata 20-30 gram serta tidak memiliki kelainan fisik. Total mencit yang akan dipakai yaitu berjumlah 25 ekor dan akan terbagi menjadi lima kelompok perlakuan. Pakan mencit juga dipastikan diberi secara teratur dengan porsi makan yang tepat untuk mencegah penurunan berat badan pada mencit (Ananta *et al.*, 2023). Mencit akan diadaptasi terlebih

dahulu selama 1 minggu untuk menyesuaikan dengan lingkungannya dan sebelum diberi perlakuan mencit akan dipuasakan selama 8 jam dengan tetap diberi minum (*ad libitum*) (Kumala, 2024).

3.10.8 Penyiapan Suspensi dan Penetapan Jumlah Dosis

1. Suspensi Na CMC 1%

Suspensi Na CMC 1% akan dibuat sebanyak 100 mL. Tahapannya dilakukan dengan memasukkan 1 gram Na CMC ke dalam gelas beaker sedikit demi sedikit yang telah berisi aquadest panas dengan suhu 70°C dan dicukupkan hingga tanda batas. Kemudian, diaduk selama 15 menit hingga homogen dan tersuspensi dengan baik. Untuk setiap kelompok perlakuan diambil 10 mL suspensi Na CMC untuk dijadikan stok (Wardani *et al.*, 2020).

2. Suspensi Asam Mefenamat

Dosis asam mefenamat untuk satu kali pakainya pada manusia adalah 500 mg. Dalam menentukan dosis asam mefenamat pada mencit dapat ditentukan berdasarkan faktor konversi dari manusia ke mencit dengan rata-rata berat badan manusia yaitu 70 kg dan pada mencit 20 g sehingga faktor konversinya adalah 0,0026.

Dosis lazim asam mefenamat pada manusia = 500 mg

Dosis asam mefenamat pada mencit

= Faktor Konversi x Dosis Lazim

= 0,0026 x 500 mg

= 1,3 mg/20 g BB (Maulana, 2024)

Suspensi asam mefenamat dibuat dengan cara menghaluskan 1 tablet asam mefenamat kemudian ditimbang sebanyak 0,01 gr dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dengan ditambahkan na cmc. Setelah itu, volume dicukupkan hingga tanda batas dan larutan dikocok hingga homogen (Wardani *et al.*, 2020).

3. Suspensi Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar

Penetapan dosis fraksi etil asetat bunga pacing tawar untuk mencit dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya terkait bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) yang memiliki nilai inhibisi paling tinggi pada dosis 500

mg (Fathirah *et al.*, 2022). Untuk menentukan dosis yang efektif pada mencit, fraksi etil asetat bunga pacing tawar akan dibuat dalam 3 variasi dosis yaitu dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Dalam pembuatan suspensi fraksi etil asetat bunga pacing tawar dapat dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 37,5mg, 75mg, dan 150mg kemudian disuspensikan dengan na cmc yang telah dibuat dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL (Wardani *et al.*, 2020).

3.10.9 Uji Efektivitas Analgesik

Tahap awal dalam pengujian efektivitas analgesik, mencit akan diuji menggunakan alat analgesy meter dan dicatat waktunya sebagai T0. Setiap mencit akan diberi perlakuan yang berbeda secara oral menggunakan Na CMC, asam mefenamat, dan fraksi etil asetat bunga pacing tawar dengan masing-masing dosis dan volume yang telah disesuaikan, yaitu :

Kelompok uji 1 : Asam mefenamat sebagai kontrol positif

Kelompok uji 2 : Natrium CMC sebagai kontrol negatif

Kelompok uji 3 : Fraksi Dosis 125 mg/kgBB sebagai dosis rendah

Kelompok uji 4 : Fraksi Dosis 250 mg/kgBB sebagai dosis sedang

Kelompok uji 5 : Fraksi Dosis 500 mg/kgBB sebagai dosis tinggi

Mencit yang telah diberikan suspensi uji secara oral, kemudian akan diuji menggunakan analgesy meter sebagai perangsang nyeri. Alat pengujian dinyalakan lalu mencit dimasukkan pada *restainer* dan ditempatkan di atas *platform* serta dibiarkan selama 2 menit agar mencit dapat beradaptasi dengan alat analgesy meter. Ekor mencit diletakkan dibawah *phototransistor* dan akan disinari sinar inframerah hingga mencit bereaksi dengan mengibaskan ekor atau dengan menjentikkan ekornya, setelah itu diamati dan dicatat waktu reaksi yang diberikan mencit dari menit 30, 60, 90, dan 120 kemudian dilakukan analisis data (Kumala, 2024).

Data hasil waktu respon yang didapatkan akan digunakan untuk membuat kurva perbandingan antara waktu respon ekor saat mengibas dengan waktu uji. Selanjutnya, persen daya analgetik dilakukan perhitungan menggunakan metode tail flick analgesy meter yang dinyatakan dalam bentuk persen hambatan nyeri (PHN).

Rumus Persen Hambatan Nyeri :

$$PHN = \frac{(T2-T1)}{T1} \times 100\%$$

Keterangan :

T1: Rata-rata waktu respon (detik) pada pemberian kontrol negatif

T2: Respon rata-rata terhadap waktu kelompok perlakuan

3.11 Teknik Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan dari hasil percobaan akan disajikan dalam bentuk tabel maupun grafik dengan dilakukan analisis menggunakan aplikasi statistik SPSS.

1. Normalitas

Analisis data dilakukan dengan uji normalitas terlebih dahulu untuk melihat data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *shapiro-wilk* karena uji ini dipakai untuk sampel dalam jumlah kecil. Ketentuan data yang terdistribusi normal jika memenuhi kriteria dengan nilai sig > 0,05, sebaliknya jika nilai < 0,05 maka data dikatakan tidak terdistribusi normal (Ismail, 2022).

2. Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *levane statistic* untuk melihat data dalam penelitian ini homogen atau memiliki varians yang sama dengan kriteria uji yaitu nilai sig > 0,05 maka data tersebut homogen, sedangkan jika nilai < 0,05 maka data tersebut tidak homogen (Ismail, 2022).

3. Paired Sample T-Test

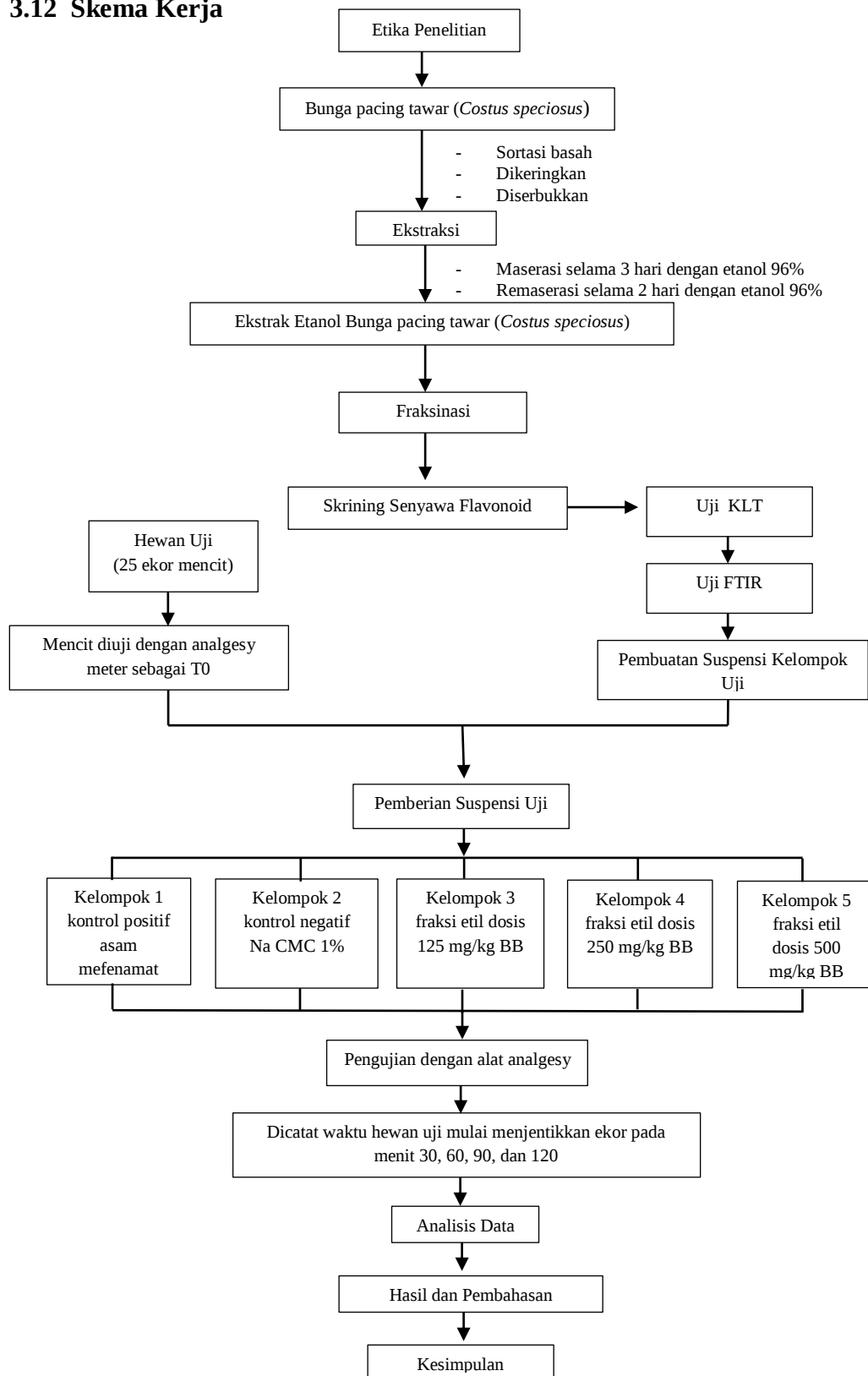
Paired t-test dilakukan untuk menguji keefektifan dua sampel berpasangan dengan perlakuan berbeda. Pengujian ini untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok uji sebelum dan sesudah diberikan perlakuan yang ditandai dengan nilai sig p < 0,05 yang artinya ada perbedaan (Nurba'id *et al.*, 2022).

4. Uji Independent Sample T-Test

Merupakan uji sampel yang tidak terikat atau tidak berpasangan yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dua kelompok dari sampel

yang berbeda. Pada prinsipnya uji Independent Sample T-Test berfungsi untuk mengetahui apakah ada perbedaan mean antara dua populasi dengan membandingkan dua mean sampelnya. Adanya perbedaan antara dua kelompok yang dibandingkan ditentukan dari nilai p value. Jika nilai p value ($< 0,05$) yang artinya ada perbedaan, jika nilai p value ($> 0,05$) artinya tidak ada perbedaan antara kelompok yang dibandingkan (Pradana *et al.*, 2022)

3.12 Skema Kerja



Gambar 3.1 Skema Kerja Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Ekstraksi Bunga Pacing Tawar

Sampel bunga pacing tawar yang telah dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 34 gram dengan nilai rendemen 22,6%.

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Bunga Pacing Tawar

Simplisia	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Hasil Ekstrak
Bunga Pacing Tawar (<i>Costus speciosus</i>)	150 gram	34 gram	22,6%	

Keterangan : Rendemen yang baik > 10%

4.1.2 Hasil Fraksinasi Bunga Pacing Tawar

Sebanyak 10 gram ekstrak etanol bunga pacing tawar dilakukan fraksinasi cair-cair menggunakan beberapa pelarut yang kemudian diperoleh hasil fraksi dan nilai rendemen seperti yang terlihat pada tabel dibawah.

Tabel 4.2 Hasil Rendemen Fraksi Bunga Pacing Tawar

Simplisia	Berat ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)	Hasil Fraksi
Fraksi N- Heksan	10 gram	0,4 gram	4 %	
Fraksi Etil Asetat	10 gram	1,3 gram	13 %	

Fraksi Air	10 gram	5,1 gram	51 %	
------------	---------	----------	------	---

Keterangan : Rendemen yang baik > 10%

4.1.3 Identifikasi Senyawa Flavonoid

Hasil identifikasi senyawa flavonoid pada sampel hasil fraksinasi diperoleh pada fraksi n-heksan dan fraksi air tidak menunjukkan adanya senyawa flavonoid sedangkan pada fraksi etil asetat diketahui positif mengandung senyawa flavonoid.

Tabel 4.3 Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sampel	Golongan Senyawa	Pereaksi	Literatur	Keterangan	Hasil Pengamatan
Fraksi N-Heksan				(-) Tidak terjadi perubahan atau bening	
Fraksi Etil Asetat	Flavonoid	Pb (II) Asetat	(Rohmania <i>et al.</i> , 2024)	(+) Terbentuk endapan kuning	
Fraksi Air				(-) Terbentuk endapan putih	

Keterangan :

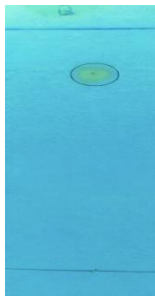
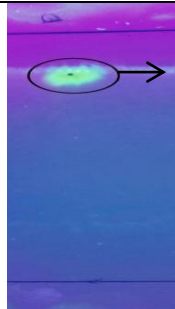
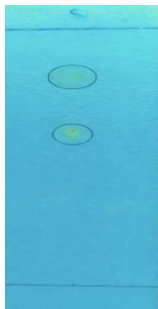
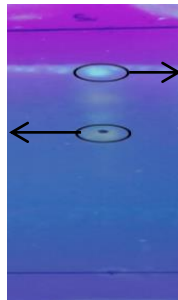
(+) = Mengandung flavonoid

(-) = Tidak mengandung flavonoid

4.1.4 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis menggunakan sampel fraksi etil asetat bunga pacing tawar terkandung senyawa flavonoid dengan ditunjukkan warna noda dan nilai retensi faktor yang sama dengan baku pembanding kuersetin.

Tabel 4.4 Hasil Uji KLT

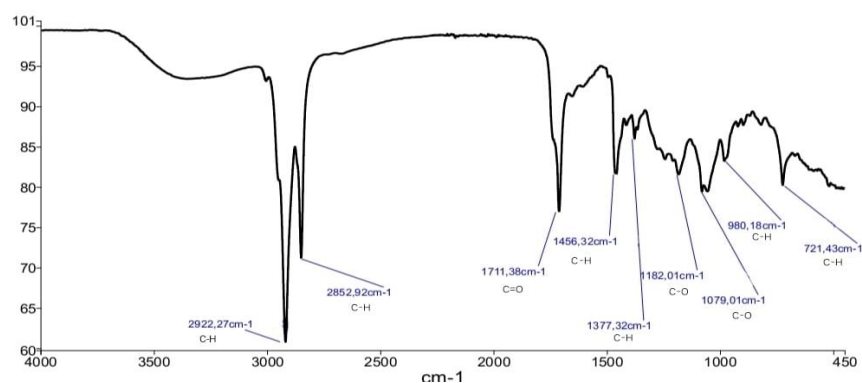
Sampel	Sinar UV 254 nm	Sinar UV 366 nm	Nilai Rf (cm)	Hasil
Baku Pembanding (Kuersetin)			0,81	(+) Berfluoresensi kuning
Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar (<i>Costus speciosus</i>)			0,80 0,56	(+) Berfluoresensi kuning

Keterangan :

(+) Positif Flavonoid = Nilai Rf dan warna noda sama dengan baku pembanding

4.1.5 Hasil Uji FTIR

Hasil uji FTIR dengan pengukuran serapan 4000-450 cm^{-1} menunjukkan bahwa adanya pita serapan pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar disekitar panjang gelombang 2922,27 hingga 721,43.



Gambar 4.1 Spektrum Hasil Uji FTIR Fraksi Bunga Pacing Tawar

Berdasarkan hasil pembacaan gugus fungsi pada spektrum yang telah dianalisis dari hasil uji FTIR fraksi etil asetat bunga pacing tawar terlihat adanya gugus fungsi C-H, C=O, dan C-O.

Tabel 4.5 Hasil Analisis Uji FTIR Fraksi Bunga Pacing Tawar

Gugus Fungsi	Nilai Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Tabel Pustaka	Daerah Frekuensi (cm ⁻¹)	Intensitas
C-H (Alkana)	2922,27	(Marselia <i>et al.</i> , 2022)	2850-2970	Kuat
	2852,92			
C=O (Aldehid, Keton, Asam Karboksilat, dan Ester)	1711,38	(Sunardi, 2023)	1690-1760	Kuat
C-H (Alkana)	1456,32	(Sunardi, 2023)	1340-1470	Kuat
	1377,32			
C-O (Alkohol, Eter, Asam Karboksilat, Dan Ester)	1162,01 1079,01	(Wahdaningsih <i>et al.</i> , 2022)	1050-1300	Kuat
C-H (Alkena)	980,18	(Marselia <i>et al.</i> , 2022)	675-995	Kuat
	721,43			

4.1.6 Hasil Pengujian Efek Analgesik

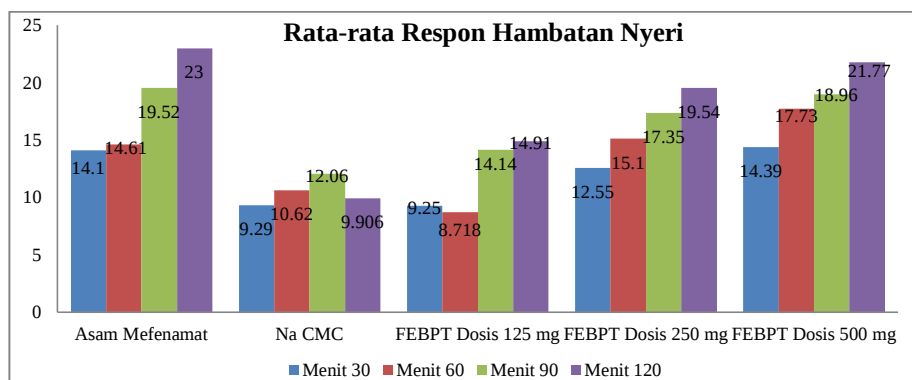
Pengujian efektivitas analgesik didapatkan data kuantitatif rata-rata waktu (detik) mencit dapat menahan rangsangan nyeri seperti yang terlihat pada tabel nilai rata-rata waktu respon hambatan nyeri menunjukkan peningkatan hambatan nyeri paling stabil dan besar terjadi di kelompok asam mefenamat, FEBPT dosis 250mg/kgBB, dan FEBPT dosis 500mg/kgBB.

Tabel 4.6 Rata-rata Waktu Respon Hambatan Nyeri

Kelompok	Rata-rata±SD (detik) Respon Hambatan Nyeri			
	Menit 30	Menit 60	Menit 90	Menit 120
Asam mefenamat	14.10 ± 5.380	14.61 ± 4.218	19.52 ± 3.735	23.00 ± 2.016
Na CMC	9.290 ± 3.664	10.62 ± 7.073	12.06 ± 3.212	9.906 ± 5.766
FEBPT Dosis 125 mg	9.250 ± 2.184	8.718 ± 3.843	14.14 ± 1.822	14.91 ± 2.741
FEBPT Dosis 250 mg	12.55 ± 2.444	15.10 ± 3.091	17.35 ± 1.854	19.54 ± 3.550
FEBPT Dosis 500 mg	14.39 ± 4.193	17.73 ± 2.940	18.96 ± 2.851	21.77 ± 3.052

Keterangan:

FEBPT : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar



Gambar 4.2 Diagram Peningkatan Respon Hambatan Nyeri

4.1.7 Hasil Analisis Data Pengujian Efek Analgesik Pada Kelompok Perlakuan

Hasil uji *paired sample t-test* menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif dari menit 30 hingga 120 terdapat adanya perbedaan signifikan sebelum dan sesudah diberi perlakuan sedangkan pada kelompok kontrol lainnya menunjukkan perbedaan signifikan di menit-menit tertentu.

Tabel 4.7 Pengaruh Pengujian Sebelum dan Sesudah diberi Perlakuan

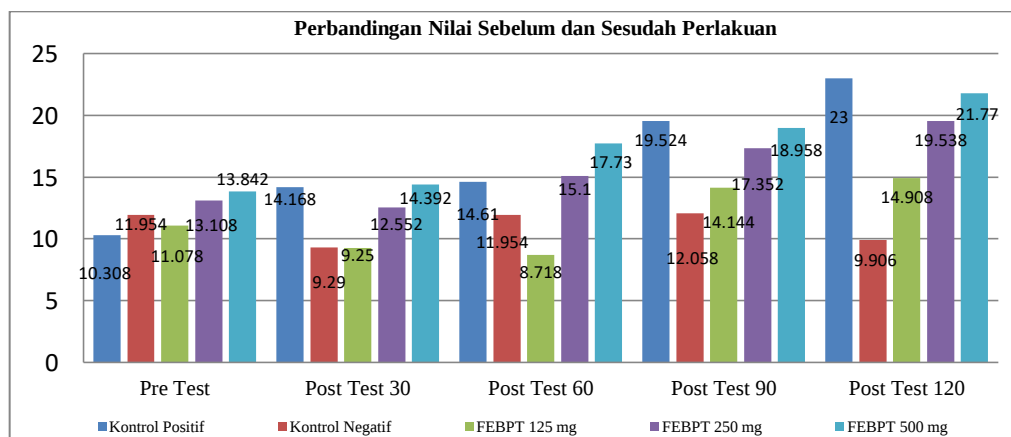
Kelompok	Pre-Test (detik)	Post-Test (detik)				P Value			
		30	60	90	120	30	60	90	120
K+	10.308	14.168	14.610	19.524	23.000	.011*	.008*	.002*	.004*
K-	11.954	9.2900	11.954	12.058	9.9060	.362	.768	.948	.589
FEBPT 125mg	11.078	9.2500	8.7180	14.144	14.908	.231	.510	.122	.286
FEBPT 250mg	13.108	12.552	15.100	17.352	19.538	.651	.115	.021*	.009*
FEBPT 500mg	13.842	14.392	17.730	18.958	21.770	.830	.106	.041*	.025*

Keterangan: Uji statistik menggunakan *paired sample t-test* dengan nilai signifikansi $<0,05$

Nilai sig $< 0,05$: Ada perbedaan signifikan *

Nilai sig $> 0,05$: Tidak ada perbedaan signifikan

FEBPT : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar



Gambar 4.3 Diagram Respon Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Berdasarkan hasil uji *independent sample t test* menunjukkan kelompok dosis 500 mg yang memiliki efek analgesik hampir setara dengan kelompok kontrol positif pada seluruh waktu pengamatan sedangkan pada kelompok kontrol lainnya menunjukkan hasil pada menit-menit tertentu.

Tabel 4.8 Perbandingan Pre-Post Test Antara Kedua Perlakuan

Kelompok		Selisih Pre-Post Test (detik)				P Value			
		30	60	90	120	30	60	90	120
K ⁺	K-	6.52 ± 3.84	5.63 ± 7.45	9.11 ± 0.42	14.7 ± 3.12	0.044*	0.227	0.002*	0.007*
	FEBPT 125 mg	5.68 ± 0.95	6.66 ± 5.33	6.15 ± 0.58	8.86 ± 2.26	0.007*	0.085	0.017*	0.046*
	FEBPT 250 mg	4.416 ± 0.601	2.31 ± 0.248	4.972 ± - 0.352	6.262 ± -1.643	0.015*	0.120	0.021*	0.037*
	FEBPT 500 mg	3.31 ± 3.43	0.41 ± 2.20	4.10 ± 0.94	4.76 ± 0.35	0.232	0.846	0.295	0.160
	K ⁺	-6.52 ± -3.84	-5.65 ± 7.45	-9.11 ± - 0.42	-14.7 ± - 3.12	0.044*	0.227	0.002*	0.007*
K ⁻	FEBPT 125 mg	-0.83 ± - 2.89	1.02 ± -2.11	-2.96 ± 0.15	-5.87 ± - 0.86	0.780	0.852	0.208	0.244
	FEBPT 250 mg	-2.10 ± - 3.24	-3.32 ± - 7.20	-4.14 ± -0.78	-8.47 ± - 4.76	0.478	0.465	0.049*	0.044*
	FEBPT 500 mg	-3.21 ± - 0.40	-5.22 ± - 5.244	-5.012 ± - 0.516	-9.976 ± - 2.768	0.390	0.290	0.049*	0.043*
	K ⁺	-5.68 ± - 0.95	-6.66 ± - 5.33	-6.15 ± - 0.58	-8.86 ± - 2.26	0.007*	0.085	0.017*	0.046*
	K ⁻	0.83 ± 2.89	-1.02 ± 2.11	2.96 ± -0.15	5.87 ± 0.85	0.780	0.852	0.208	0.244
FEBP T 125 mg	FEBPT 250 mg	-1.27 ± - 0.35	-4.35 ± - 5.08	-1.17 ± - 0.94	-2.60 ± -3.90	0.482	0.238	0.041*	0.036*
	FEBPT 500 mg	-2.37 ± 2.48	-6.24 ± - 3.12	-2.05 ± 0.35	-4.09 ± - 1.90	0.410	0.036*	0.025*	0.017*
	K ⁺	-4.41 ± - 0.60	-2.31 ± -0.24	-4.97 ± 0.35	-6.26 ± 1.64	0.015*	0.120	0.021*	0.037*
	K ⁻	2.10 ± 3.24	3.32 ± 7.20	4.14 ± 0.78	8.47 ± 4.76	0.478	0.465	0.049*	0.044*
	FEBPT 125 mg	1.27 ± 0.35	4.35 ± 5.08	1.17 ± 0.94	2.60 ± 3.91	0.482	0.238	0.041*	0.036*
FEBP T 250 mg	FEBPT 500 mg	-1.10 ± 2.83	-1.89 ± 1.96	-0.87 ± 1.29	-1.49 ± 2.00	0.689	0.397	0.235	0.225
	K ⁺	-3.31 ± -3.43	-0.41 ± - 2.20	-4.10 ± -0.94	-4.76 ± - 0.35	0.232	0.846	0.095	0.160
	K ⁻	3.21 ± 0.40	5.22 ± 5.24	5.01 ± -0.51	9.97 ± 2.76	0.390	0.290	0.049*	0.043*
	FEBPT 125 mg	2.37 ± -2.48	6.24 ± 3.12	2.05 ± -0.35	4.09 ± 1.90	0.410	0.036*	0.025*	0.017*
	FEBPT 250 mg	1.10 ± -2.83	1.89 ± -1.96	0.87 ± -1.29	1.49 ± -2.00	0.689	0.397	0.235	0.225
FEBP T 500 mg	K ⁺	-3.31 ± -3.43	-0.41 ± - 2.20	-4.10 ± -0.94	-4.76 ± - 0.35	0.232	0.846	0.095	0.160
	K ⁻	3.21 ± 0.40	5.22 ± 5.24	5.01 ± -0.51	9.97 ± 2.76	0.390	0.290	0.049*	0.043*
	FEBPT 125 mg	2.37 ± -2.48	6.24 ± 3.12	2.05 ± -0.35	4.09 ± 1.90	0.410	0.036*	0.025*	0.017*
	FEBPT 250 mg	1.10 ± -2.83	1.89 ± -1.96	0.87 ± -1.29	1.49 ± -2.00	0.689	0.397	0.235	0.225
	FEBPT 500 mg	1.10 ± -2.83	1.89 ± -1.96	0.87 ± -1.29	1.49 ± -2.00	0.689	0.397	0.235	0.225

Keterangan: Uji statistik menggunakan *independent sample t-test* dengan nilai signifikansi <0,05

Nilai sig < 0,05

: Ada perbedaan signifikan *

Nilai sig > 0,05

: Tidak ada perbedaan signifikan

K⁺

: Kontrol Positif (Asam Mefenamat)

K⁻

: Kontrol Negatif (Na CMC)

FEBPT

: Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan simplisia bunga pacing tawar yang telah diperoleh. Penggunaan metode maserasi dikarenakan metode ini merupakan cara penyarian yang cukup sederhana dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu ruang dengan jangka waktu tertentu dan tidak memerlukan peralatan khusus serta mudah didapatkan. Proses ini juga tidak menggunakan pemanasan sehingga aman digunakan untuk menarik senyawa aktif dan menghindari rusaknya senyawa-senyawa atau mencegah degradasi senyawa aktif dalam sampel yang sensitif terhadap pemanasan. Senyawa-senyawa yang tidak tahan pemanasan yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin yang dapat berubah warna serta rusak akibat suhu yang sangat tinggi (Azzahra & Budiati, 2022). Metode maserasi juga memiliki keunggulan yaitu selama proses perendaman, dinding sel dapat mengalami kerusakan akibat perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel. Keadaan ini memungkinkan senyawa yang berada didalam sitoplasma keluar dan larut ke dalam pelarut organik, sehingga penarikan senyawa berlangsung lebih efektif (Wendersteyt *et al.*, 2021).

Dalam pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi dipilih berdasarkan jenis pelarut yang sesuai yaitu menggunakan pelarut etanol karena sifatnya yang universal, polar dan mudah didapatkan. Untuk konsentrasi pelarut yang digunakan berupa etanol dengan konsentrasi 96% dikarenakan mempunyai sifat yang lebih selektif, tidak toksik, mudah menguap, memiliki daya serap yang baik serta kemampuan ekstraksi yang tinggi, sehingga mampu melarutkan senyawa polar, semi-polar, dan non-polar. Dengan efektivitas penyarian tersebut, senyawa yang dibutuhkan untuk pengujian analgesik yaitu senyawa flavonoid dapat ditarik secara optimal. Contoh lain dari berbagai senyawa yang mampu diambil oleh pelarut etanol 96% seperti alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Pelarut etanol 96% memiliki kemampuan penetrasi yang lebih baik kedalam dinding sel sampel dibandingkan etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga ekstrak yang dihasilkan juga akan lebih kental (Adriana *et al.*, 2024).

Hasil maserasi berupa ekstrak cair kemudian diuapkan untuk memperoleh ekstrak kental sebanyak 34 gram. Kemudian dari hasil ekstrak kental bunga

pacing tawar dihitung nilai rendemennya sebesar 22,6%. Berdasarkan **tabel 4.1** terlihat bahwa nilai rendemen yang dihasilkan lebih dari 10% yang menunjukkan ekstrak yang tersari semakin banyak. Hasil ekstraksi juga dipengaruhi oleh berbagai hal, seperti jenis pelarut, perbandingan pelarut, waktu ekstraksi, suhu, dan tanaman yang digunakan. Pelarut yang memiliki tingkat kepolaran serupa dengan senyawa target umumnya menghasilkan rendemen yang lebih besar, dan nilai rendemen dianggap baik apabila melebihi 10%. Rendemen tersebut mencerminkan sejauh mana metabolit dapat ditarik secara maksimal dari sampel yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen, semakin besar juga jumlah metabolit yang akan diperoleh. Begitupun sebaliknya, jika nilai rendemen rendah menunjukkan bahwa proses ekstraksi belum berlangsung secara optimal yang membuat jumlah ekstrak yang diperoleh menjadi lebih sedikit (Pasaribu *et al.*, 2025). Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah ekstrak yang berhasil diperoleh dari simplisia segar yang digunakan sebagai bahan awal. Selain itu, nilai rendemen juga dapat berfungsi sebagai indikator untuk menilai keberhasilan metode ekstraksi yang dipakai (Larasati *et al.*, 2024).

Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan tahap kedua pemisahan senyawa menggunakan metode fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa dari suatu ekstrak dengan memanfaatkan beberapa jenis pelarut yang tidak saling bercampur, di mana pemisahannya didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran masing-masing pelarut. (Riskiana & Vifta, 2021). Tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda dalam dua macam pelarut. Dalam proses fraksinasi juga harus memperhatikan pemilihan pelarut yang sesuai, seperti prinsip *like dissolves like* karena pada pemilihan pelarut sangat menentukan kandungan senyawa yang akan diperoleh saat fraksinasi. Salah satu parameter dalam pemilihan jenis pelarut harus berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dimulai dari pelarut yang memiliki kategori non-polar terlebih dahulu kemudian semi polar dan polar (Ramadhani *et al.*, 2024).

Pelarut yang digunakan yaitu pelarut n-heksan, etil asetat, dan juga aquades. N-heksan merupakan pelarut non-polar yang memiliki sifat mudah menguap, stabil, selektif dan berfungsi menarik kandungan lipid dan minyak pada suatu

sampel sehingga senyawa yang terkandung dalam sampel akan mudah ditarik oleh pelarut semi polar dan polar (Larasati *et al.*, 2024). Pelarut n-heksan tidak hanya mampu melarutkan senyawa non polar, tetapi juga dapat mengekstraksi senyawa lain seperti karotenoid, steroid, dan triterpenoid (Aprilianti *et al.*, 2023). Etil asetat adalah pelarut yang bersifat semipolar dan efektif menarik senyawa semi polar termasuk alkaloid, saponin dan juga senyawa golongan fenol yaitu flavonoid (Muthia *et al.*, 2018). Aquades merupakan pelarut polar yang biasanya digunakan sebagai bahan pelarut, memiliki karakteristik yang murni, jernih, tidak beraroma, dan tidak berasa. Aquades berfungsi sebagai pelarut yang sangat efektif karena berbagai senyawa organik netral dengan gugus fungsi bersifat polar dapat larut dengan cepat di dalamnya (Ire & Margareta, 2020).

Fraksinasi yang telah dilakukan diperoleh hasil fraksi n-heksan sebanyak 0,4 gram, fraksi etil asetat sebanyak 1,3 gram, dan fraksi air sebanyak 5,1 gram. Dari hasil tersebut kemudian dihitung nilai rendemennya seperti yang terlihat pada **tabel 4.2** bahwa nilai rendemen yang paling besar adalah fraksi air (51%) diikuti oleh fraksi etil asetat (13%) dan nilai rendemen fraksi paling rendah yaitu fraksi n-heksan (4%). Perbedaan nilai rendemen pada setiap fraksi berkaitan dengan jumlah dan jenis senyawa yang terdapat di dalam tanaman tersebut artinya dalam ekstrak bunga pacing tawar senyawa fitokimia yang paling banyak bersifat polar yang larut dalam air, dan senyawa semipolar yang larut dalam etil asetat serta yang paling sedikit bersifat non polar yang larut dalam n-heksana (Wijayanti *et al.*, 2023). Dari tingginya nilai rendemen pada fraksi air, adapun kemungkinan senyawa yang tersari meliputi senyawa polifenol, flavonoid, saponin, gula, pati, zat warna dan asam organik (Nainggolan *et al.*, 2024). Setelah diperoleh hasil fraksinasi dari ketiga pelarut, kemudian akan dilakukan skrining fitokimia untuk melihat dari ketiga pelarut tersebut mana yang mengandung senyawa flavonoid.

Identifikasi senyawa flavonoid pada penelitian ini dilakukan pada fraksi bunga pacing tawar yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan menggunakan pereaksi Pb (II) asetat. Hasil identifikasi senyawa pada **tabel 4.3** terlihat bahwa fraksi n-heksana tidak terjadi perubahan warna atau bening dan fraksi air terjadi perubahan dengan terbentuk endapan putih yang menandakan bahwa kedua fraksi tersebut negatif atau tidak mengandung senyawa flavonoid,

karena tidak menunjukkan perubahan warna yang sesuai dengan ciri khas flavonoid, dimana pada penelitian Rohmania *et al.*, 2024 mengungkapkan bahwa adanya flavonoid akan terbentuk warna merah, kuning atau jingga. Pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar diperoleh hasil positif yang ditunjukkan oleh perubahan warna dengan terbentuk endapan kuning setelah direaksikan dengan Pb (II) asetat yang sesuai ciri khas flavonoid. Penyebab adanya perubahan warna menjadi endapan kuning setelah ditambahkan pereaksi Pb (II) asetat dikarenakan adanya reaksi antara Pb (II) asetat dengan gugus hidroksil fenolik pada cincin aromatik, kemudian terjadi pembentukan kompleks antara ion Pb (II) asetat dan gugus fenolik yang memiliki kelarutan rendah sehingga terjadi pengendapan dan menghasilkan warna kuning (Rohmania *et al.*, 2024). Temuan ini menegaskan bahwa etil asetat sebagai pelarut semipolar memiliki kemampuan yang baik dalam melarutkan dan menarik senyawa flavonoid secara efektif. Hal tersebut sejalan dengan prinsip *like dissolves like* yang menyatakan bahwa suatu senyawa akan lebih mudah larut dalam pelarut dengan tingkat kepolaran yang serupa seperti flavonoid dalam bentuk aglikon yang cenderung terlarut pada fraksi etil asetat.

Hasil fraksi etil asetat bunga pacing tawar kemudian akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji kromatografi lapis tipis. Uji ini merupakan teknik yang digunakan untuk mengkonfirmasi lebih lanjut hasil skrining fitokimia. KLT berfungsi untuk mengidentifikasi sejumlah kecil senyawa organik, termasuk mengidentifikasi keberadaan serta jumlah metabolit sekunder. Metode ini melibatkan dua fase utama yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak biasanya berupa campuran pelarut yang memiliki kemampuan dalam melarutkan tinggi sehingga dapat mendorong proses pemisahan pada plat. Kemampuan elusi dan kualitas pemisahan dipengaruhi oleh polaritas total pelarut, sifat polaritas fase diam, serta karakteristik senyawa dari sampel (Pratiwi *et al.*, 2023).

Hasil uji kromatografi lapis tipis yang diamati dibawah sinar uv 254 nm dan 366 nm menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat : air pada **tabel 4.4** , menunjukkan baku pembanding kuersetin menghasilkan noda berwarna kuning dengan nilai Rf sebesar 0,81. Pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar diperoleh dua bercak noda berwarna kuning dengan nilai Rf masing-masing sebesar 0,56 dan 0,80.

Kesamaan warna noda dan nilai Rf dapat membantu dalam mengidentifikasi senyawa dalam sampel. Jika nilai Rf dari sampel sama dengan baku pembanding artinya senyawa mempunyai karakteristik yang mirip (Rosalina *et al.*, 2025). Rentang kriteria nilai rf yang baik mulai dari 0,2-0,8, jika nilai Rf berada di bawah 0,2 mengindikasikan bahwa interaksi senyawa dengan fase diam masih terlalu kuat sehingga keseimbangan dengan fase gerak belum tercapai, yang menyebabkan noda terlihat kurang simetris. Sebaliknya, nilai Rf di atas 0,8 dapat mengakibatkan noda analit terpengaruh oleh absorbansi yang mengotori permukaan lempeng fase diam dan tampak jelas saat pengamatan menggunakan sinar UV. Munculnya satu bercak tunggal pada lempeng KLT menandakan bahwa senyawa yang terdeteksi memiliki tingkat kemurnian yang cukup baik dengan warna noda yang tampak jelas, tidak berekor, dan hanya muncul sebagai satu bercak menunjukkan senyawa relatif murni karena terserap dengan baik dan tidak meninggalkan jejak selama proses elusi (Pratiwi *et al.*, 2023).

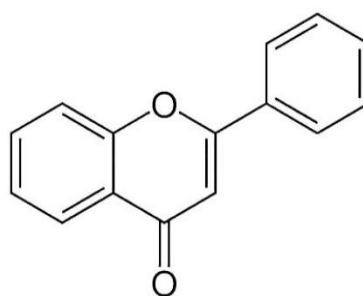
Nilai Rf 0,80 yang mendekati nilai Rf kuerstin 0,81 memperkuat dugaan adanya senyawa flavonoid yang kemungkinan satu golongan dengan baku pembandingnya. Sementara itu, bercak lain dengan nilai Rf 0,56 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat masih mengandung senyawa flavonoid lain atau turunan dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Dengan demikian, kesamaan warna noda dan nilai Rf pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar menandakan adanya flavonoid, keberadaan lebih dari satu bercak juga mengindikasikan bahwa flavonoid dalam fraksi tersebut belum sepenuhnya murni, namun masih dalam bentuk golongan senyawa flavonoid yang sejenis.

Analisis spektrum hasil uji FTIR pada **tabel 4.5** menunjukkan adanya beberapa pita serapan yang mengindikasikan keberadaan gugus fungsi khas senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar. Pita serapan kuat di daerah $2850\text{--}2970\text{ cm}^{-1}$ tepatnya pada bilangan gelombang $2922,27\text{ cm}^{-1}$ dan $2852,92\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya vibrasi ulur (*stretching*) gugus fungsi C-H pada rantai alkana (C-H sp^3) atau juga disebut C-H alifatik yang umum ditemukan pada rantai karbon senyawa organik. Selain itu, pada daerah $1340\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$ juga terdapat pita serapan pada bilangan gelombang $1456,32\text{ cm}^{-1}$ dan $1377,32\text{ cm}^{-1}$ yang semakin memperkuat keberadaan gugus C-H alifatik.

Pita serapan pada bilangan gelombang 1711,38 cm^{-1} berada dalam rentang 1690–1760 cm^{-1} yang mengindikasikan vibrasi ulur gugus fungsi karbonil ($\text{C}=\text{O}$), yang umumnya terdapat pada struktur aldehid, keton, asam karboksilat, maupun ester. Keberadaan gugus karbonil ini merupakan ciri penting pada kerangka dasar flavonoid, khususnya golongan flavon dan flavonol. Selanjutnya, pita serapan pada daerah 1050–1300 cm^{-1} , yaitu pada bilangan gelombang 1162,01 cm^{-1} dan 1079,01 cm^{-1} , menunjukkan adanya gugus fungsi $\text{C}-\text{O}$ yang berkaitan dengan alkohol, eter, asam karboksilat, atau ester, yang juga merupakan karakteristik umum senyawa flavonoid.

Pada daerah bilangan gelombang rendah, yaitu 675–995 cm^{-1} , teramati pita serapan pada 980,18 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi bengkokan (*bending*) serta pada 721,43 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi ulur (*stretching*) gugus $\text{C}-\text{H}$, yang mengindikasikan keberadaan ikatan rangkap pada cincin aromatik atau alkena. Hal ini sesuai dengan struktur flavonoid yang memiliki cincin aromatik terkonjugasi.

Hasil uji FTIR kemudian dilakukan perbandingan dengan struktur senyawa yang memiliki kemiripan dengan gugus fungsi yang diperoleh. Berdasarkan keseluruhan gugus fungsi yang teridentifikasi, fraksi etil asetat bunga pacing tawar diketahui mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan pada **gambar 4.4**.

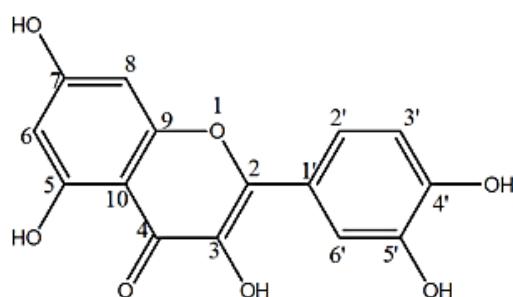


Gambar 4.4 Struktur Flavonoid

Sumber : (Syahmani *et al.*, 2022)

Spesifikasi jenis senyawa flavonoid yang memiliki kemiripan hasil FTIR ditunjukkan pada **gambar 4.5**. Kuersetin diketahui memiliki gugus $\text{C}-\text{H}$, $\text{C}=\text{O}$, dan $\text{C}-\text{O}$ yang serupa dengan temuan spektrum FTIR fraksi etil asetat. Hal ini menandakan bahwa fraksi etil asetat bunga pacing tawar mengandung senyawa

flavonoid dengan karakteristik yang mendekati golongan flavonol, salah satunya kuersetin. Indikasi ini semakin diperkuat oleh hasil skrining fitokimia yang menunjukkan reaksi positif flavonoid serta uji KLT yang menampilkan bercak dengan karakteristik yang sesuai dengan senyawa pembanding kuersetin (Mumpunia *et al.*, 2018). Dengan demikian, kombinasi data FTIR yang mengidentifikasi gugus fungsi khas flavonoid serta hasil skrining dan KLT yang konsisten, memberikan landasan kuat bahwa fraksi etil asetat bunga pacing tawar mengandung senyawa flavonoid, dengan kemungkinan memiliki kemiripan struktur dengan kuersetin sebagai salah satu komponen flavonol.



Gambar 4.5 Struktur Senyawa Kuersetin

Sumber : (Mumpunia *et al.*, 2018)

Tahapan selanjutnya dilakukan uji efektivitas analgesik dari hasil fraksinasi ekstrak bunga pacing tawar yaitu fraksi etil asetat. Tujuan dilakukan pengujian ini untuk mengetahui efektivitas fraksi etil asetat bunga pacing tawar dalam menurunkan rasa nyeri pada hewan uji yang diberi rangsangan nyeri. Pemilihan hewan uji berupa mencit putih jantan pada penelitian ini didasarkan pada pertimbangan kestabilan kondisi hormonal yang lebih konsisten dibandingkan mencit betina. Pada mencit betina, terjadi fluktuasi hormon yang signifikan selama fase-fase tertentu, seperti siklus estrus, masa kehamilan dan masa menyusui. Perubahan hormonal tersebut dapat memengaruhi keadaan fisiologis hewan uji, sehingga berpotensi menimbulkan hal yang tidak diinginkan pada hasil penelitian. Selain itu, mencit betina umumnya memiliki tingkat stres yang lebih tinggi dibandingkan mencit jantan, yang juga dapat memengaruhi respons yang diberikan saat perlakuan. Oleh karena itu, penggunaan mencit jantan dianggap lebih tepat untuk memperoleh data yang lebih stabil dan dapat diandalkan. Metode yang digunakan dalam memberikan rangsangan nyeri pada hewan uji

menggunakan metode tail flick analgesy meter yang merupakan penginduksi nyeri dengan cara panas yang respon rasa nyeri nya ditunjukkan dalam bentuk gerakan menjentikkan ekor oleh mencit (Sinata & Luthfi, 2020).

Uji efektivitas analgesik akan diujikan pada mencit yang telah dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok akan diberikan bahan uji yang berbeda yaitu kelompok kontrol positif diberikan asam mefenamat, kelompok kontrol negatif diberikan na cmc, dan kelompok fraksi etil asetat bunga pacing tawar dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB secara oral. Pengamatan respon yang diberikan hewan uji akan dilakukan setiap 30 menit selama 2 jam dengan dilakukan uji T0 terlebih dahulu.

Hasil pengujian analgesik pada **tabel 4.6** rata-rata respon hambatan nyeri pada mencit menunjukkan setiap kelompok memiliki peningkatan respon yang berbeda-beda dari menit ke 30, 60, 90, dan 120 setelah diberi perlakuan. Kelompok kontrol negatif yang diberi na cmc menunjukkan nilai rata-rata yang paling rendah dibandingkan kelompok lainnya dari menit 30 hingga 120.

Kelompok kontrol positif yang diberi asam mefenamat terlihat di menit 30 hingga 120, waktu respon yang diberikan terus meningkat yaitu pada menit 30 memberikan waktu selama 14.10 detik, di menit 60 selama 14.61 detik, di menit 90 selama 19.52 detik dan di menit 120 meningkat menjadi 23 detik. Dari rata-rata waktu respon yang terus meningkat menandakan bahwa kelompok kontrol positif mampu memberikan efek analgesik yang baik dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pada kelompok FEBPT dosis 125 mg/kgBB memberikan rata-rata waktu respon hambatan yang tidak stabil, terlihat di menit 30 menunjukkan rata-rata waktu respon selama 9.250 detik, namun di menit 60 kelompok dosis ini sempat mengalami penurunan dengan waktu respon selama 8.718 detik. Kemudian kelompok FEBPT dosis 125 mg/kgBB kembali menunjukkan peningkatan respon dari menit 90 (14.14 detik) sampai menit 120 (14.91 detik).

Pada kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB dan FEBPT dosis 500 mg/kgBB juga terlihat dari menit 30 sampai 120 mampu memberikan efek analgesik dengan rata-rata waktu respon hambatan nyeri yang stabil atau terus meningkat, yang mana pada kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB menunjukkan

waktu respon dimenit 30 (12.55 detik), menit 60 (15.10 detik), menit 90 (17.35 detik), dan dimenit 120 (19.54 detik). Kemudian pada kelompok FEBPT dosis 500 mg/kgBB dimenit 30 memberikan waktu respon selama (14.39 detik), dimenit 60 (17.53 detik), dimenit 90 (18.96 detik), dan dimenit 120 (21.77 detik).

Data pengamatan hasil uji analgesik yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan aplikasi SPSS untuk mengecek normalitas dan homogenitasnya. Berdasarkan hasil uji normalitas pada **lampiran 14.1** data yang diperoleh menggunakan uji *shapiro-wilk* menunjukkan data setiap kelompok dari menit ke 30 hingga menit ke 120 memiliki nilai signifikan $> 0,05$ yang artinya data tersebut terdistribusi normal. Pada uji homogenitas yang dilakukan pada **lampiran 14.2** menggunakan uji *levne* didapatkan nilai signifikan pada data setiap kelompok dari menit ke 30 hingga menit ke 120 yaitu $> 0,05$ yang artinya data tersebut memiliki varians yang sama atau homogen.

Analisis data selanjutnya dilakukan uji *paired t-test* yang mana uji ini untuk melihat pengaruh pemberian kelompok uji sebelum dan sesudah diberi perlakuan. Pengujian *paired t-test* ini dilakukan setelah diketahui data yang diperoleh telah terdistribusi normal dan juga homogen. Berdasarkan **tabel 4.7** pada kontrol positif menit 30 hingga 120 nilai sig $< 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pre-test dan post-test yang artinya kelompok kontrol positif memiliki efek dalam peningkatan respon hambatan nyeri. Nilai signifikan pada kontrol negatif dan FEBPT dosis 125 mg/kgBB menit 30 hingga 120 menunjukkan $> 0,05$ yang artinya pada kelompok ini tidak memiliki efek analgesik karena tidak adanya perbedaan signifikan antara hasil pre-test dan post-test.

Pada kelompok variasi dosis yaitu FEBPT dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB pada menit 30 dan 60 menunjukkan nilai signifikan $> 0,05$ yang artinya tidak adanya perbedaan signifikan dalam peningkatan hambatan nyeri sedangkan pada menit 90 dan 120 menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya pada kelompok variasi dosis tersebut memiliki efek analgesik dalam meningkatkan hambatan nyeri. Berdasarkan hasil analisis *paired sample t-test* diketahui kelompok yang menunjukkan adanya perbedaan penghambatan rasa nyeri antara sebelum dan sesudah diberi perlakuan berada pada kelompok kontrol positif, FEBPT 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

Independent sample t-test dilakukan untuk melihat perbedaan rata-rata antara dua kelompok seperti yang terlihat pada **tabel 4.8** perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif di menit 30, 90, dan 120 menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya ada perbedaan secara signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kontrol positif pada ketiga waktu pengamatan tersebut dinilai lebih optimal memberikan efek analgesik dibandingkan kelompok kontrol negatif sedangkan di menit 60 perbandingan selisih pre-post test antara kelompok kontrol positif dan negatif terlihat nilai signifikannya $> 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan dalam memberikan efek analgesik antara kedua kelompok tersebut.

Perbandingan selisih *pre-post test* antara kelompok kontrol positif dan kelompok FEBPT dosis 125 mg/kgBB di menit 30, 90, dan 120 menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya ada perbedaan secara signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kontrol positif pada ketiga waktu pengamatan tersebut dinilai lebih optimal memberikan efek analgesik dibandingkan kelompok FEBPT dosis 125 mg/kgBB sedangkan di menit 60 perbandingan selisih pre-post test antara kelompok kontrol positif dan FEBPT dosis 125 mg/kgBB terlihat nilai signifikannya $> 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan dalam memberikan efek analgesik antara kedua kelompok tersebut.

Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB pada menit 30, 90, dan 120 menunjukkan adanya perbedaan signifikan dengan nilai $< 0,05$ yang artinya kelompok kontrol positif lebih optimal dalam memberikan efek analgesik pada ketiga waktu pengamatan tersebut dibandingkan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB sedangkan di menit 60 terlihat tidak adanya perbedaan signifikan dalam memberikan efek analgesik antara kedua kelompok tersebut atau setara.

Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok FEBPT dosis 500 mg/kgBB pada seluruh waktu pengamatan menunjukkan nilai signifikan $> 0,05$ yang artinya selisih pre-post test antara kontrol positif dan FEBPT dosis 500 mg/kgBB memiliki nilai yang setara dalam memberikan efek analgesik.

Pada uji *independent* kelompok kontrol negatif dengan kelompok FEBPT dosis 125 mg/kgBB menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan

dengan nilai signifikan $> 0,05$ yang artinya kedua kelompok tersebut dari seluruh waktu pengamatan memiliki efek analgesik yang setara atau sama.

Perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB menunjukkan di menit 30 dan 60 tidak terdapat perbedaan dalam memberikan efek analgesik atau dapat dikatakan bahwa kelompok kontrol negatif dengan kedua kelompok dosis memberikan efek yang setara sedangkan di menit 90, dan 120 menunjukkan adanya perbedaan signifikan yaitu $< 0,05$ dengan kedua kelompok dosis memberikan efek analgesik yang lebih optimal dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Perbandingan kelompok variasi dosis, pada kelompok FEBPT 125 mg/kgBB menunjukkan nilai signifikan $> 0,05$ di menit 30 dan 60 yang artinya tidak terdapat perbedaan dalam penghambatan rasa nyeri antara kelompok FEBPT 125 mg/kgBB dengan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB, sedangkan pada menit 90 dan 120 menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan dalam penghambatan rasa nyeri antara kelompok FEBPT 125 mg/kgBB dengan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB.

Perbandingan kelompok variasi dosis, pada kelompok FEBPT 125 mg/kgBB menunjukkan nilai signifikan $> 0,05$ di menit 30 yang artinya tidak terdapat perbedaan dalam penghambatan rasa nyeri antara kelompok FEBPT 125 mg/kgBB dengan kelompok 500 mg/kgBB, sedangkan pada menit 60, 90 dan 120 menunjukkan nilai signifikan $< 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan dalam penghambatan rasa nyeri antara kelompok FEBPT 125 mg/kgBB dengan kelompok FEBPT 500 mg/kgBB.

Pada perbandingan kelompok FEBPT dosis 250 mg/kgBB dengan dosis 500 mg/kgBB juga menunjukkan tidak adanya perbedaan dalam memberikan efek analgesik pada seluruh waktu pengamatan dengan nilai signifikan $> 0,05$.

Adanya peningkatan dalam memberikan efek analgesik pada kelompok uji dikarenakan terdapat aktivitas senyawa aktif yang terkandung. Pada kelompok kontrol positif yang diberi asam mefenamat terus mengalami peningkatan dalam memberikan efek analgesik. Hal ini mengindikasikan bahwa asam mefenamat mempunyai kemampuan dalam meredakan nyeri dengan cepat dan kuat, karena obat ini mampu mencapai kadar puncak plasma dalam waktu 30-60 menit serta

memiliki waktu paruh yang relatif singkat yaitu 1-3 jam. Selain itu, kemampuan asam mefenamat sebagai obat analgesik dipengaruhi oleh mekanisme kerjanya yaitu dapat menghambat enzim siklooksigenase (COX) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin sebagai mediator nyeri. ketika aktivitas COX dihambat, produksi prostaglandin menurun sehingga rangsangan nyeri dapat berkurang dan efek analgesik yang dihasilkan menjadi optimal (Muhsin *et al.*, 2024). Dalam pemberian na cmc tidak menunjukkan tidak adanya pengaruh dalam penghambatan rasa nyeri dikarenakan tidak adanya kandungan zat aktif untuk menghambat rasa nyeri dan na cmc hanya bersifat sebagai pembawa sehingga tidak memiliki pengaruh apapun (Keswara & Handayani, 2019).

FEBPT dosis 125 mg/kgBB juga belum menunjukkan adanya efek analgesik karena jumlah senyawa aktif yang masuk ke dalam tubuh diduga tidak mencapai kadar terapeutik yang dibutuhkan untuk menimbulkan respon farmakologis. Dosis yang terlalu rendah menyebabkan konsentrasi senyawa dalam aliran darah berada di bawah ambang efektivitas, sehingga tidak mampu berinteraksi secara optimal dengan reseptor yang berperan dalam mekanisme penghambatan nyeri. Kondisi ini membuat proses modulasi rasa sakit tidak berlangsung secara memadai, sehingga efek analgesik yang diharapkan tidak muncul pada dosis tersebut sedangkan pada FEBPT dosis 250 mg/kgBB mulai terlihat peningkatan efek analgesik, yang artinya pada dosis tersebut kadar senyawa aktif yang terkandung ikut meningkat sehingga dapat menunjukkan peningkatan waktu hambatan nyeri. Sementara itu, pada FEBPT dosis 500 mg/kgBB menunjukkan efek analgesik yang paling mendekati kelompok kontrol positif (asam mefenamat) karena dinilai paling kuat dan stabil diantara kedua fraksi dosis (Sa'adah *et al.*, 2022).

Adanya kemampuan fraksi etil asetat bunga pacing tawar dalam menghambat rasa nyeri diduga karena terkandung senyawa flavonoid yang berperan sebagai senyawa aktif utama. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fathirah *et al.*, pada tahun 2022 menunjukkan bahwa bunga pacing tawar mengandung senyawa flavonoid yang berperan sebagai antiinflamasi. Flavonoid diketahui mampu bekerja dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) pada jalur asam arakidonat. Mekanisme ini menyebabkan terhambatnya pembentukan mediator nyeri

termasuk menurunkan produksi prostaglandin sehingga proses peradangan dapat berhenti, menstabilisasi reseptor nyeri dan menjadi penentu lamanya nyeri. Hal ini juga dapat disebabkan oleh peningkatan kadar senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi, yang artinya semakin tinggi konsentrasi senyawa aktif yang terkandung maka semakin besar efek analgesik yang dihasilkan. Namun perbedaan kecepatan dan kekuatan dalam memberikan efek analgesik juga dapat dipengaruhi oleh waktu ADME senyawa aktif dalam tubuh (Sa'adah *et al.*, 2022).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi ekstrak bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) mengandung senyawa flavonoid yang terdapat pada fraksi etil asetat bunga pacing tawar (*Costus speciosus*)
2. Fraksi etil asetat bunga pacing tawar (*Costus speciosus*) memiliki pengaruh dalam memberikan efek analgesik dengan cara menghambat rasa nyeri pada mencit (*Mus musculus*) putih yang diinduksi nyeri menggunakan metode tail flick
3. Fraksi dosis 500 mg/kgBB memiliki efektivitas sebagai analgesik yang lebih baik dan optimal dibandingkan dosis fraksi 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB serta memiliki efek yang setara dengan kontrol positif asam mefenamat yang terlihat pada seluruh waktu pengamatan menunjukkan nilai p value ($> 0,05$).

5.2 Saran

Diharapkan kepada peneliti berikutnya dapat melakukan studi lebih lanjut mengenai pengujian ekstrak maupun fraksi bunga pacing tawar terhadap aktivitas farmakologis lainnya sehingga dapat diketahui lebih banyak mengenai potensi bunga pacing tawar selain sebagai analgesik serta dapat menjadi peluang untuk mengembangkannya dalam pembuatan sediaan berbasis ekstrak maupun fraksi bunga pacing tawar (*Costus speciosus*)

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, U. H., Nofita, & Selvi Marcelia. (2024). Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum X Africanum Lour.*) Dan Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius Roxb.*) Sebagai Antibakteri Pada Salmonella Typhi. *Jurnal Malahayat*, 11(1), 185–196.
- Amir, M. N., Aulia, R., Suardi, H., Hatifah, Z. A., Ismail, I., Raihan, M., & Evary, Y. M. (2023). Studi In Vivo Ekstrak Etanol Kulit Buah Nangka (*Artocarpus Heterophyllus L.*) Sebagai Kandidat Obat Analgetik Terhadap Model Hewan Uji Mecit (*Mus musculus*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(1), 139–147.
- Ananta, A., Pratama, I. Surya, Dhuhani, A., Azizah, H., Dewi, M. S., Amrullah, N. A., & Yanuar, R. P. (2023). Evaluasi Efektivitas Analgesik Jamu “X” Pada Mencit Swiss Webster. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(3), 3093–3100.
- Aprilianti, N. M., Purgiyanti, & Barlian, A. A. (2023). Penentuan Kadar Total Fenol Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Dan Air Herba Pegagan (*Centella Asiatica (L) Urban*). *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 77–85.
- Aprilyanie, I., Handayani, V., & Syarif, R. A. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus Hystrix Dc.*) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Makassar Natural Product Journal*, 1(1), 1–9.
- Azzahra, F., & Budiati, T. (2022). Pengaruh Metode Pengeringan Dan Pelarut Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill.*). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(1), 67–78.
- Bahrudin, M. (2017). Patofisiologi Nyeri (*Pain*). *Saintika Medika*, 13(1), 7–14.
- Berliani, N., Ramadhanti, N., Rahmi, N., & Atifah, Y. (2021). Pengaruh Fotoperiode Terhadap Perkembangan Morfologi Dan Anatomi Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 1(02), 602–610.
- Constanty, I. C., & Tukiran. (2021). Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi N-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Jambu Semarang (*Syzygium Samarangense*). *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 1–7.
- Depkes. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI. In *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Djuwarno, E. N., Marhaba, Z., Abdullah, R., Baharuddin, R., Usuli, T. C., Ismail, N. H., & Tonde, N. A. (2023). Gambaran Pengobatan Pasca Kemoterapi Pasien Kanker Payudara Pada Rumah Sakit Di Provinsi Gorontalo. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(2), 374–382.
- Dwimartyono, F. (2019). Nyeri Neuropatik Pada Penderita Myastenia Gravis Fendy. *Jurnal Kedokteran*, 1(1), 1–16.
- Erlangga, J. (2020). Efektivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (*Costus speciosus*) Terhadap Jumlah Anakan Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Kaos Gl Dergisi*, 1–93.
- Fabanyo, S. H., Hardia, L., Muslihin, A. M., & Budiyanto, A. B. (2023). Analisis Fitokimia Dan Gugus Fungsi Kulit Kayu Akway (*Drymis Sp.*) *Jurnal Promotif Preventif*, 6(6), 976–982.

- Familia, D., Aryzki, S., & Alawiyah, T. (2023). Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Ramania (*Bouea Macrophylla Griffth*) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*) Dengan Metode Writhing Test. *Snapfarma*, 8–19.
- Fathirah, M., Marlina, E., & Ruga, R. (2022). Potensi Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Bunga Pacing Putih (*Costus speciosus (J. Koenig) Sm.*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Dan Terapan Ii*, 40–44.
- Hafizah, D. A., & Sunardi. (2024). Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis Pada Asam Amino Dengan Menentukan Nilai Faktor Retensi. *Jurnal Kimia Dan Rekayasa*, 5(1), 1–7.
- Harnis, Z. E., & Murdiani. (2019). Frekuensi Penggunaan Obat Analgesik Pada Pasien Pasca Bedah Sesar Di Rumah Sakit Umum Tanjung Pura Kabupaten Langkat Periode Januari Sampai Juni 2018 Zola. *Jifi (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 2(2), 51–58.
- Ismail, S. (2022). Pengaruh Penggunaan Model Pembelajaran Berbasis Proyek “Project Based Learning” Terhadap Hasil Belajar Fisika Peserta Didik Kelas X Ipa Sma Negeri 35 Halmahera Selatan Pada Konsep Gerak Lurus”. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(5), 256–269.
- Jannah, M., Dewi, F., Santi, I., & Tahir, M. (2024). Review Artikel: Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Dari Beberapa Jenis Tanaman. *Makassar Natural Product Journal*, 2(1), 2024–2047.
- Jayantini, N. L. P. E. P., Ayundita, N. P. T., Mahaputra, I. P. A., Fatturochman, F. D., & Putra, A. A. G. R. Y. (2021). Uji Aktivitas Analgesik Gel Bulung Boni (*Caulerpa Sp.*) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(1), 27–31.
- Keswara, Y. D., & Handayani, S. R. (2019). Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Ingg (*Ruta Angustifolia [L.] Pers*) Pada Tikus Putih Jantan. *Journal Syifa Sciences And Clinical Research*, 1(2), 57–69.
- Kumala, M. E. (2024). Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Mutiara: Multidiciplinary Scientifict Journal*, 2(5), 358–370.
- Kumontoy, G. D., Deeng, D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongndow Timur. *16*(3), 1–16.
- Lara, A. D., Elisma, & Fathnur, S. K. (2021). Uji Aktivitas Analgesik Infusa Daun Jeruju (*Acanthus Ilcifolius L.*) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Indonesian Journal Of Pharma Science*, 03(02), 71–80.
- Larasati, A. A., Rosyunita, & Djannah, F. (2024). *Antibacterial Activity Of Centella Asiatica N-Hexane Fraction Against Pseudomonas Aeruginosa Clinical Isolates*. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(4), 604–611.
- Lestari, F. (2020). Efektivitas Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Anti Hiperglikemia Pada Mencit (*Mus musculus*). 1–75.
- Lina, R. N., & Rahmawaty, A. (2022). Uji Efektivitas Analgesik Kombinasi Ekstrak Etanol Umbi Rumput Teki (*Cyperus Rotundus L.*) Dan Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam.*) Pada Mencit Jantan Dengan Metode Geliat. *Cendekia Journal Of Pharmacy*, 6(1), 55–64.
- Maisarah, M., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Karakteristik Dan Fungsi

- Senyawa Alkaloid Sebagai Antifungi Pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 231–236.
- Marselia, A., Wahdaningsih, S., & Nugraha, F. (2022). Analisis Gugus Fungsi Dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Menggunakan Ft-Ir.
- Maulana, F. (2024). Uji Efektivitas Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens*) Pada Mencit (*Mus musculus*).
- Mita, R. S., & Husni, P. (2017). Pemberian Pemahaman Mengenai Penggunaan Obat Analgesik Secara Rasional Pada Masyarakat Di Arjasari Kabupaten Bandung. *Aplikasi Ipteks Untuk Masyarakat*, 6(3), 193–194.
- Mumpunia, E., Purwangganab, A., Mulatsaric, E., & Lakstiad, Y. (2018). Desain Senyawa Turunan Kuersetin Sebagai Inhibitor Pertumbuhan *Candida Albicans* Menggunakan Analisis Qsar. *Talenta Conference Series: Tropical Medicine*, 1(3), 54–60.
- Muthia, R., Saputri, R., & Asfia, N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mundar (*Garcinia Forbesii King*) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil). *Borneo Journal Of Pharmascientech*, 2(2), 48–58.
- Nainggolan, R. M., Rahayu, M. P., Rejeki, E. S., Total, F., & Daun, F. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan , Kadar Flavonoid , Dan Fenolik Total Ekstrak Dan Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica L.*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 397–410.
- Nasrudin, Wahyono, Mustofa, & Susidarti, R. A. (2017). Isolasi Senyawa Steroid Dari Kukit Akar Senggugu (*Clerodendrum Serratum L.Moon*). *Pharmacon :Journal Ilmiah Farmasi - Unsrat*, 6(3), 2302–2493.
- Nengsi, S., Novrianti, I., & Wijayanti, S. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pacing (*Costus speciosus*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Hewan Uji Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Journal Borneo*, 1(1), 19–26.
- Nofita, D., & Dewangga, R. (2021). Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin Pada Daun Matoa (*Pometia Pinnata J.R & G. Forst*) Secara Spektrofotometri. *Chimica Et Natura Acta*, 9(3), 102–106.
- Noviyanti, Y., Ayuningtyas, S., Novia, D., & Hepiyansori. (2025). Profil Fitokimia Dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Szygium Myrtifolium Walp.*). *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 12(1), 71–82.
- Noviyanti, Y., Hepiyansori, & Marlina, R. (2019). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Kalamansi (*Citrus X Microcarpa Bunge*). *Jurnal Ilmiah Farmacy*, 6(2), 312–321.
- Nugraha, I. M. A. D. P., Safitri, I., Krismasanthi, L. G. E., Wardani, K. S. L. A., Dewi, N. K. T. A., Suarniti, N. M. D., Sari, N. P. M., & Wijayanti, N. P. A. D. (2019). Uji Aktivitas Analgesik Gel Fraksi Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode Hot Plate. *Iptekma*, 8(2), 101–107.
- Nurba'id, A. R. C., Nafilah, Z., Magdalena, M., Khoirotun, H., Nisyak, Lailatul, S., Mutmainah, R., Ghurri, A., Andriana, L. M., & Ningsih, A. W. (2022). Artikel Review : Penerapan Paired T-Test Pada Penelitian Farmasi Review. *Jurnal Farmasi Dan Farmakoinformatika*, 2(2), 146–153.
- Pasaribu, R. K. U., Iqbal, M., Rahayu, I. D., Afriyani, & Triyandi, R. (2025).

- Pengaruh Pemilihan Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi. *Sains Medisina*, 3(5), 275–279.
- Pradana, G. W., Ma'ruf, M. F., & Eprilianto, D. F. (2022). Penerapan Student T-Test Untuk Menilai Efektivitas Pengembangan Buku Ajar Mata Kuliah Desentralisasi Fiskal Di Jurusan Administrasi Publik Unesa. *Jurnal Dimensi Pendidikan Dan Pembelajaran*, 10(2), 183–190.
- Prasetyawan, H. R., Kusumawati, I., & Primaharinastiti, R. (2024). Teknik Aplikasi Sampel Pada Pengujian Kuantitatif Kromatografi Lapis Tipis: Tinjauan Terhadap Area Dan Faktor Retensi. *Media Farmasi*, 20(2), 143–150.
- Pratiwi, D. N., Utami, N., & Pratimasari, D. (2022). Karakterisasi Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Dan Fraksi Bunga Pepaya Jantan (*Carica Papaya L.*) Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 18(2), 219–233.
- Pratiwi, S. A., Februyani, N., & Basith, A. (2023). Skrining Dan Uji Penggolongan Fitokimia Dengan Metode KLT Pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocium Basilicum L*) Dan Sereh Dapur (*Cymbopogon Ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 140–147.
- Rahmawati, E. M., Marliana, E., & Ruga, R. (2022). Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Pacing Putih (*Costus speciosus (J. Koenig) Sm.*) Terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Dan Terapan*, 1(2), 22–25.
- Rahmiyani, I., & Zustika, D. S. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Pacing (*Costus Speciosa*) Dengan Metode Dpph. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 15(1), 28.
- Ramadhani, M. A., Sunnah, I., & Mardiyanti, D. (2024). Analisis Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Ekstrak Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Of Holistic And Health Sciences*, 6(2), 307–317.
- Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. (2018). Ovariektomi Pada Tikus Dan Mencit. In *Airlangga University Press*.
- Riany, H., & Wahyuningtyas, R. K. (2024). *Analysis Of The Antioxidant Potential Of Ethanol Extracts From Pacing Plant (Costus speciosus) With Dpph Method. Organisms*, 4(2), 1–11.
- Rika, E. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Etanol Tali Kuning (*Anamirta Cocculus*) Dengan Metode Dpph. 7(2), 381–391.
- Riskiana, N. P. Y. C. V., & Vifta, R. L. (2021). Kajian Pengaruh Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Alga Coklat Genus *Sargassum* Dengan Metode Dpph. *Journal Of Holistic And Health Sciences*, 3(2), 201–213.
- Rohmania, S., Budiyanto, A. B., & Astuti, R. A. (2024). Efektivitas Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora Foetida L.*) Sebagai Analgesik. *Jurnal Promotif Preventif*, 7(3), 607–616.
- Rosalina, V., Malaysiana, Y., & Ayuningtyas, S. P. (2025). Skrining Fitokimia Dan Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid Dengan Fase Gerak N-Heksan: Etil Asetat Pada Ekstrak Etanol 70% Buah Ranti Hitam. *Jurnal Pengembangan*

- Ilmu Dan Praktik Kesehatan Volume*, 4(5), 297–306.
- Rosmini, Lasmini, S. A., Ete, A., Wulandari, D. R., Edy, N., Hayati, N., & Taeyeb, A. (2021). Bimbingan Teknik Budidaya Tumbuhan Obat Untuk Penyediaan Simplisia Obat Herbal Bagi Masyarakat. *Dinamisia : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 5(2), 294–299.
- Rudini, M. (2016). Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (*Costus speciosus*) Dan Taurin Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (*Mus musculus*) Yang Di Induksi Aloksan. 1–68.
- Rudini, M., Wulansari, S. M., Kuswanto, E., & Indarto. (2022). Efektivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (*Costus speciosus*) Terhadap Tingkah Laku Seksual Mencit Jantan (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Organisms*, 1(1), 35–48.
- Rusli, N., Saehu, M. S., & Fatmawati. (2023). Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun *Meistera Chinensis* Dengan Metode DPPH (1,1 –Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia (Jmpi)*, 9(1), 43–48.
- Rusnaeni, Sinaga, D. I., Lanuru, F., Payungallo, I. M., & Ulfiani, I. I. (2016). Identifikasi Asam Mefenamat Dalam Jamu Rematik Yang Beredar Di Distrik Heram Kota Jayapura, Papua. *Pharmacy*, 13(01), 84–91.
- Sa'adah, N., Chasanah, N., Pertamina, S. D. I., Rohmaniar, P. D., Adriansyah, A. A., & Ulah, A. M. (2022). Efek Analgesik Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman* (Jacq.) Merr.) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus*). *Padjadjaran Journal Of Dental Researchers And Students*, 6(2), 120–126.
- Sabtaulina, H. G. (2021). Uji Formulasi Dan Efektivitas Antibakteri Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Dan Buah Pacing Tawar *Costus speciosus* (Koenig) J.E Smith Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*.
- Safitri, R. A., Rahayu, M. P., & Widodo, G. P. (2022). Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Batang Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa*) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Surya Medika*, 7(2), 205–209.
- Saputri, M. A., Pratiwi, G., Shiyan, S., Arina, Y., & Trisakti, I. (2023). Profil Spektra FTIR (Fourier Transform Infrared Spectrophotometry) Sari Ikan Gabus (*Channa Striata*) Dengan variasi Metode Ekstraksi. *Babul Ilmi Jurnal Ilmiah Multi Science Kesehatan*, 15(2), 59–75.
- Sari, N. W., Fajri, M. Y., & Anjas, W. (2018). Analisis Fitokimia Dan Gugus Fungsi Dari Ekstrak Etanol Pisang (*Musa Acuminata* (L)). *Ijobb*, 2(1), 30–35.
- Shina, M. A. I., Wardani, T. S., & Artini, K. S. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak , Fraksi Air , Fraksi Etil Asetat , Fraksi N- Heksan Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 Universitas Duta Bangsa , Indonesia. *Obat: Jurnal Riset Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2(6), 1–37.
- Siagian, E., & Angeline, D. L. (2019). *In House Training Pada Perawat Pk I-Pk Iv Terhadap Pengetahuan Tentang Manajemen Nyeri*. 1(2), 1–23.
- Sinata, N., & Luthfi, A. (2020). Uji Efek Analgetik Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* (Christm.) Swing) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus* L) Jantan Yang Diinduksi Asam Asetat 1%. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), 12–20.
- Sohrab, S., Mishra, P., & Mishra, S. K. (2021). *Phytochemical Competence And Pharmacological Perspectives Of An Endangered Boon—Costus speciosus*

- (Koen.) Sm.: *A Comprehensive Review. Bulletin Of The National Research Centre*, 45(1), 1–27.
- Sumardiyono, Lowa, Azzam, N.W., Huda, A.M.K. N., & Nurfauziah, N. (2017). Kejadian Myalgia Pada Lansia Pasien Rawat Jalan. *JRST: Jurnal Riset Sains Dan Teknologi*, 1(2), 59–63.
- Sunardi. (2023). Analisis Gugus Fungsi Dan Penentuan Kadar Total Fenol Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Dan Putih. *Jurnal Redoks*: *Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 6(1), 8–18.
- Syahmani, Leny, & Iriani, R. (2022). Fitokimia Dan Aplikasinya. *Lambung Mangkurat University Press* 11(1).
- Syamsul, E. S., Amanda, N. A., & Lestari, D. (2020). Perbandingan Ekstrak *Lamur Aquilaria Malaccensis* Dengan Metode Maserasi Dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(2), 97–104.
- Tamimi, A. A. ., Queljoe, E. De, & Siampa, J. P. (2020). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam.*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*). *Pharmacon*, 9(3), 325–333.
- Tsaqila, N. R., Mulana, N., Alviany, A. Z., Fauziyyah, A., & Pendahuluan, A. (2020). Inovasi Teh Bunga Zinnia (*Zinnia Elegans*) Sebagai Alternatif Minuman Fungsional. *Seminar Terbuka Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Terbuka*, 9315, 1185–1195.
- Victoria Ire, T. V., & Margareta, H. (2020). Limbah Air Ac Sebagai Pelarut Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) Pada Jamur *Candida Albicans*. *Jurnal Masker Medika*, 8(1), 15–20.
- Wahdaningsih, S., Nugraha, F., Kurniawan, H., Marselia, A., & Sari, D. N. (2022). Identifikasi Gugus Fungsi Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi N-Heksan *Hylocereus Polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose. *Jurnal Pharmascience*, 9(1), 113–123.
- Wahyuningtyas, R. K. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun, Bunga, Dan Batang Pacing (*Costus speciosus*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazin (DPPH). 1–49.
- Wardani, H. A., Adnan, J., & Musawir, S. (2020). Uji Efek Analgetik Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*) Kombinasi Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina Del*) Terhadap Mencit Jantan Putih (*Mus musculus*). *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 44–48.
- Wati, N. K., Kesumadewi, T., & Inayati, A. (2022). Penerapan *Guided Imagery* (Imajinasi Terbimbing) Terhadap Skala Nyeri Pasien Thalasemia Dan Dispepsia Di Rsud Jend. Ahmad Yani Kota Metro. *Jurnal Cendikia Muda*, 2(3), 375–382.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi *Ascidian Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Typhimurium* Dan *Candida Albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706–712.
- Wijayanti, S. N., Pratama, K. J., & Permatasari, D. A. I. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Air Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Atcc 11827 Secara Difusi. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(23), 755–

770.

- Yazidah, N., Fakhruddin, F., & Jaluri, P. D. C. (2022). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Batang Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (W.Ait.) Hassk) Sebagai Analgesik Terhadap Mencit Putih Yang Diinduksi Asam Asetat. *Jurnal Borneo Cendekia*, 6(1), 88–96.
- Zulkifli, & Octaviany, E. E. (2019). Uji Efek Analgetik Ekstrak Akar Binasa (*Plumbago Indica L*) Asal Kabupaten Sidenreng Rappang Terhadap Mencit Dengan Metode *Writhing Reflex Test*. *Jurnal Herbal Indonesia*, 1(1), 43–49.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kode Etik Penggunaan Hewan Dalam Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI MAKASSAR**
THE HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI MAKASSAR

**SURAT KETERANGAN
ETHICAL APPROVAL**
Nomor: 07.140/KOMETIK/STIFA/VII/2025

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, menyatakan dengan ini bahwa penelitian dengan judul:
The Health Research Ethical Committee of Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar states hereby that the following proposal:

“Studi In-Vivo Ekstrak Etanol Bunga Pacing Tawar (*Costus speciosus*) sebagai Analgesik pada Mencit (*Mus musculus*) Putih”

Nomor Protokol : 122507140
Protocol number

Lokasi Penelitian : Laboratorium Farmakologi & Toksikologi Farmasi Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong
Location

Waktu Penelitian : 7 Juli - 31 Agustus 2025
Time schedule
7th July until 31th August 2025

Responden/Subyek Penelitian : Mencit (*Mus musculus*)
Respondent/Research Subject
(*Mus musculus*)

Peneliti Utama : Indri Maharani Syahputri
Principal Investigator
Mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Sains Terapan Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong
NIM: 144820121022

Telah melalui prosedur kaji etik dan dinyatakan layak untuk dilaksanakan

Demikianlah surat keterangan lolos kaji etik ini dibuat untuk diketahui dan dimaklumi oleh yang berkepentingan dan berlaku sejak tanggal 7 Juli 2025 sampai dengan 7 Juli 2026
This ethical approval is issued to be used appropriately and understood by all stakeholders and valid from the 7th July 2025 until 7th July of 2026.

Makassar, July 7th 2025
Chairman,

Signed by LUKMAN (L.01.KNU1010)
Signed at Jul 8, 2025 07:25

apt. Lukman, M.Farm.
NIDN 0913078704

Bersama ini menyatakan bahwa dengan dikeluarkannya surat lolos etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan STIFA Makassar, maka saya **berkewajiban**:

1. Menyerahkan Laporan hasil penelitian **dan atau** Publikasi dari hasil penelitian
2. Menyerahkan laporan Serious Adverse Event (SAE) ke komisi etik dalam 27 jam dan dilengkapi dalam 7 hari serta laporan Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction (SUSAR) dalam 72 jam setelah peneliti utama menerima laporan.
3. Melaporkan penyimpangan dari protokol yang telah disetujui (*Protocol deviation/violation*)
4. Mematuhi semua peraturan yang berlaku



Lampiran 2. Perhitungan Campuran Fase Gerak Uji KLT

Pembuatan Fase Gerak dalam uji kromatografi lapis tipis dilakukan dengan menggunakan 3 campuran pelarut (N-Butanol : Asam asetat : Air) (4:1:5)

Campuran akan dibuat dalam 20 ML dengan menggunakan rumus :

$$\text{Volume Pelarut} = \frac{\text{Perbandingan Pelarut}}{\text{Total Perbandingan Pelarut}} \times \text{Volume Target}$$

1. N-Butanol

$$= \frac{4}{10} \times 20 = 8 \text{ mL}$$

2. Asam Asetat

$$= \frac{1}{10} \times 20 = 2 \text{ mL}$$

3. Air

$$= \frac{5}{10} \times 20 = 10 \text{ mL}$$

Lampiran 3. Perhitungan Dosis Kelompok Uji

1. Na CMC (Kontrol Negatif)

Perhitungan suspensi Na CMC :

$$\begin{aligned}\text{Na CMC } 1\% &= \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ gram}\end{aligned}$$

Perhitungan volume pemberian na cmc pada mencit :

- Volume Pemberian Mencit ke-1 (30 g)
$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-2 (22 g)
$$= \frac{22}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,7 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-3 (26 g)
$$= \frac{26}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-4 (21 g)
$$= \frac{21}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,7 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-5 (27 g)
$$= \frac{27}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

2. Asam Mefenamat (Kontrol Positif)

Dosis lazim asam mefenamat = 500 mg

Faktor konversi manusia ke mencit (30 gr) = 0,0026

Perhitungan dosis asam mefenamat untuk mencit :

$$\begin{aligned}\text{Dosis mencit} &= \text{DL} \times \text{FK} \\ &= 500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg/kgBB}\end{aligned}$$

Dosis asam mefenamat untuk mencit 30 gr adalah 1,3 mg/30 gr BB mencit.

BB mencit yang ditimbang adalah 30 gr sebagai patokan

$$\begin{aligned}&= \frac{\text{BB mencit yang ditimbang}}{\text{BB mencit standar}} \times 1,3 \text{ mg} \\ &= \frac{30 \text{ gr}}{30 \text{ gr}} \times 1,3 \text{ mg} \\ &= 1,3 \text{ mg}\end{aligned}$$

Penentuan berat rata-rata per tablet asam mefenamat maka dilakukan penimbangan untuk setiap tablet nya yaitu :

Tablet 1 = 651 mg

Tablet 2 = 655 mg

Tablet 3 = 649 mg

Tablet 4 = 649 mg

Tablet 5 = 649 mg

Tablet 6 = 647 mg

Tablet 7 = 652 mg

Tablet 8 = 649 mg

Tablet 9 = 652 mg

Tablet 10 = 652 mg

Total bobot untuk 10 tablet asam mefenamat adalah 6.505 mg, maka dapat dihitung dengan perhitungan dibawah ini :

$$\begin{aligned}\text{Berat rata-rata 1 tablet} &= \frac{\text{Jumlah berat asam mefenamat}}{\text{Jumlah tablet}} \\ &= \frac{6.505 \text{ mg}}{10 \text{ tablet}} \\ &= 650 \text{ mg/tab}\end{aligned}$$

Volume maksimal yang diberikan untuk BB mencit standar adalah 1 mL yang mengandung 1,3 mg/30 gr BB. Jika akan dibuat dalam 10 mL, maka dihitung $10 \text{ mL} \times 1,3 \text{ mg} = 13 \text{ mg}/10 \text{ mL}$.

Serbuk tablet asam mefenamat yang ditimbang:

$$\begin{aligned}&\frac{\text{Jumlah yang dibutuhkan}}{\text{Berat rata – rata tablet}} \times \text{dosis untuk manusia} \\ &= \frac{13 \text{ mg}}{650 \text{ mg}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 10 \text{ mg} \rightarrow 0,01 \text{ gr}\end{aligned}$$

Serbuk tablet asam mefenamat yang akan ditimbang adalah 0,01 gr untuk 10 mL.

Perhitungan volume pemberian na cmc pada mencit :

- Volume Pemberian Mencit ke-1 (27 g)

$$= \frac{27}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-2 (29 g)

$$= \frac{29}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-3 (23 g)

$$= \frac{23}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,7 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-4 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$
- Volume Pemberian Mencit ke-5 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

3. Ekstrak Bunga Pacing Tawar (*Costus speciosus*)

Dosis ekstrak yang digunakan menggunakan 3 variasi dosis yaitu dosis ekstrak 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Dalam pemberian dosis pada mencit, dilihat faktor konversi dari manusia ke mencit yaitu 0,0026.

Perhitungan konsentrasi dosis

a. Dosis rendah 125 mg/kgBB

$$= \frac{125 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ gr}$$

$$= \frac{0,125 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ gr}$$

$$= 0,00375 \text{ g} = 3,75 \text{ mg}$$

Volume maksimal yang diberikan untuk mencit 30 g = 1 mL

Volume yang dibuat 10 mL

Jumlah fraksi etil asetat bunga pacing tawar yang ditimbang:

$$= \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 3,75 \text{ mg}$$

$$= 37,5 \text{ mg}$$

Kemudian dihitung dosis volume pemberian pada mencit menggunakan rumus :

$$\frac{BB \text{ Mencit}}{BB \text{ standar mencit}} \times \text{Volume pemberian maksimal}$$

Perhitungan volume pemberian dosis ekstrak 125 mg pada mencit :

- Volume Pemberian Mencit ke-1 (29 g)

$$= \frac{29}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-2 (23 g)

$$= \frac{23}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,7 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-3 (25 g)

$$= \frac{25}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-4 (25 g)

$$= \frac{25}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-5 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

b. Dosis sedang 250 mg/kgBB

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

$$= \frac{0,25 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g}$$

$$= 0,0075 \text{ g} = 7,5 \text{ mg}$$

Volume maksimal yang diberikan untuk mencit 30 g = 1 mL

Volume yang dibuat 10 mL

Jumlah fraksi etil asetat bunga pacing tawar yang ditimbang

$$= \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 7,5 \text{ mg}$$

$$= 75 \text{ mg}$$

Kemudian dihitung dosis volume pemberian pada mencit menggunakan rumus :

$$\frac{BB \text{ Mencit}}{BB \text{ standar mencit}} \times \text{Volume pemberian maksimal}$$

Perhitungan volume pemberian dosis ekstrak 250 mg pada mencit :

- Volume Pemberian Mencit ke-1 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-2 (26 g)

$$= \frac{26}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-3 (29 g)

$$= \frac{29}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-4 (21 g)

$$= \frac{21}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,7 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-5 (28 g)

$$= \frac{28}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

c. Dosis tinggi 500 mg/kgBB

$$= \frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g}$$

$$= \frac{0,5 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g}$$

$$= 0,015 \text{ g} = 15 \text{ mg}$$

Volume maksimal yang diberikan untuk mencit 30 g = 1 mL

Volume yang dibuat 10 mL

Jumlah fraksi etil asetat bunga pacing tawar yang ditimbang

$$= \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times 15 \text{ mg}$$

$$= 150 \text{ mg}$$

Kemudian dihitung dosis volume pemberian pada mencit menggunakan rumus :

$$\frac{BB \text{ Mencit}}{BB \text{ standar mencit}} \times \text{Volume pemberian maksimal}$$

Perhitungan volume pemberian dosis ekstrak 500 mg pada mencit :

- Volume Pemberian Mencit ke-1 (27 g)

$$= \frac{27}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-2 (27 g)

$$= \frac{27}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-3 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-4 (24 g)

$$= \frac{24}{30} \times 1 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$$

- Volume Pemberian Mencit ke-5 (30 g)

$$= \frac{30}{30} \times 1 \text{ mL} = 1 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Dokumentasi Penyiapan Simplisia Bunga Pacing Tawar



Pengambilan sampel



Sortasi basah



Pencucian sampel



Pengeringan sampel menggunakan oven



Penghalusan sampel



Pengayakan sampel

Lampiran 5. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Bunga Pacing Tawar



Disiapkan alat dan bahan



Timbang simplisia bunga pacing tawar



Masukkan simplisia kedalam wadah maserasi



Masukkan pelarut etanol 96% kedalam wadah



Aduk hingga tercampur



Ekstraksi metode maserasi dan remaserasi



Penyaringan ekstrak



Hasil ekstrak cair



Penguapan ekstrak cair

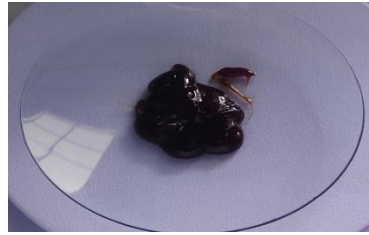


Hasil ekstrak kental

Lampiran 6. Dokumentasi Tahap Fraksinasi Ekstrak Bunga Pacing Tawar



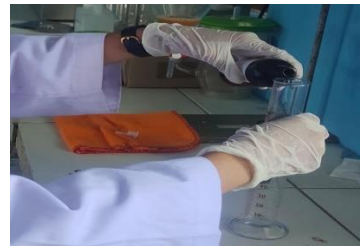
Disiapkan alat dan bahan



Timbang sampel ekstrak



Larutkan sampel ekstrak dengan aquadest



Ukur volume pelarut n-heksan dan etil asetat



Masukkan sampel dan pelarut kedalam corong pisah



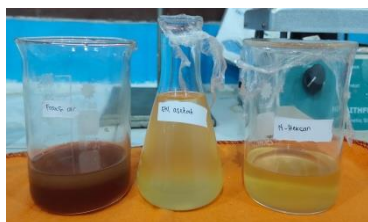
Kocok corong pisah



Diamkan hingga kedua pelarut memisah



Pisahkan hasil fraksinasi dalam wadah terpisah



Hasil fraksinasi cair

Lampiran 7. Dokumentasi Uji Kromatografi Lapis Tipis



Disiapkan alat dan bahan



Campurkan n-butanol, asam asetat dan air hingga homogen



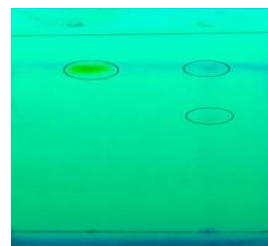
Totolkan quersetin dan sampel pada plat KLT



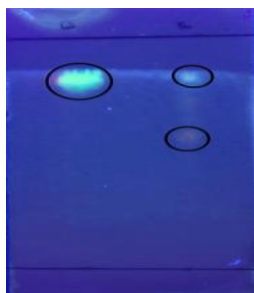
Masukkan plat yang telah ditotolkan ke dalam wadah



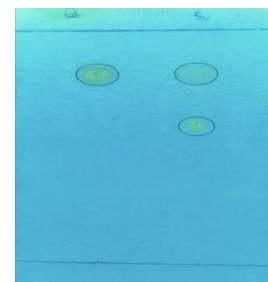
Tutup dan tunggu hingga eluen menuju keatas



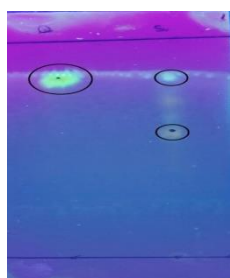
Bercak noda sebelum disemprot AlCl_3 dibawah sinar uv 254nm



Bercak noda sebelum disemprot AlCl_3 dibawah sinar uv 366nm



Bercak noda setelah disemprot AlCl_3 dibawah sinar UV 254nm



Bercak noda setelah disemprot AlCl_3 dibawah sinar UV 366nm

Lampiran 8. Dokumentasi Pembuatan Suspensi Uji



Ditimbang fraksi etil asetat bunga
pacing tawar



Ditimbang serbuk na cmc



Ditimbang serbuk asam mefenamat



Hasil suspensi bahan uji

Lampiran 9. Dokumentasi Perlakuan Pada Hewan Uji



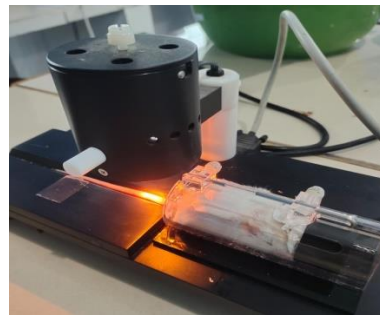
Timbang hewan uji



Masukkan suspensi uji secara oral pada mencit



Masukkan mencit pada alat analgesy meter



Diamati ketika mencit menjentikkan ekor nya



Dicatat waktunya

Lampiran 10. Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak dan Fraksi Bunga Pacing Tawar

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

1. Rendemen Ekstrak Bunga Pacing Tawar

$$= \frac{34 \text{ gram}}{150 \text{ gram}}$$

$$= 22,6 \%$$

2. Rendemen Fraksi N-Heksan Bunga Pacing Tawar

$$= \frac{0,4 \text{ gram}}{10 \text{ gram}}$$

$$= 4 \%$$

3. Rendemen Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar

$$= \frac{1,3 \text{ gram}}{10 \text{ gram}}$$

$$= 13 \%$$

4. Rendemen Fraksi Air Bunga Pacing Tawar

$$= \frac{5,1 \text{ gram}}{10 \text{ gram}}$$

$$= 51 \%$$

Lampiran 11. Perhitungan Hasil Pada Uji Kromatografi Lapis Tipis

Rumus Perhitungan Rf (*Retention factor*) :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh fraksi (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}}$$

1. Rf Kuersetin $= \frac{6,5}{8,0} = 0,81$

2. Rf Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar) $= \frac{6,4}{8,0} = 0,80$
 $= \frac{4,5}{8,0} = 0,56$

Lampiran 12. Hasil Data Pengujian Analgesik

Kelompok	BB	T0	T30	T60	T90	T120	Rata-rata $\pm$ SD
K+	27	4.45	7.11	8.35	15.78	22.9	13.54 $\pm$ 7.324
	29	10.24	13.22	14.12	20	21.64	17.25 $\pm$ 4.198
	23	7.84	14.46	14.64	17.76	22.44	18.28 $\pm$ 3.926
	30	14.31	16.24	15.83	18.45	20	17.63 $\pm$ 1.955
	30	14.7	19.81	20.11	25.63	28.02	23.39 $\pm$ 4.084
Rata-rata $\pm$ SD		10.31 $\pm$ 3.891	14.10 $\pm$ 5.380	14.61 $\pm$ 4.218	19.52 $\pm$ 3.735	23.00 $\pm$ 3.016	
K-	30	18.5	7.09	4.05	15.12	6.02	8.070 $\pm$ 4.866
	22	8.44	6.12	14.14	12.98	12.09	11.33 $\pm$ 3.575
	26	11.44	6.81	6.67	11.44	18.92	10.96 $\pm$ 5.751
	21	9.66	12.25	6.9	6.84	4.65	7.66 $\pm$ 3.234
	27	11.73	14.18	21.35	13.91	7.85	14.32 $\pm$ 5.522
Rata-rata $\pm$ SD		11.95 $\pm$ 3.898	9.290 $\pm$ 3.664	10.62 $\pm$ 7.073	12.06 $\pm$ 3.212	9.906 $\pm$ 5.766	
D1	29	15.45	9.86	4.18	15.56	11.24	10.21 $\pm$ 4.696
	23	6	7.18	7.92	13.07	18.59	11.69 $\pm$ 5.294
	25	9.08	9.97	10.52	11.44	15.74	11.92 $\pm$ 2.619
	25	9.08	7.01	14.25	15.42	15.48	13.04 $\pm$ 4.060
	30	15.78	12.23	6.72	15.23	13.49	11.92 $\pm$ 3.677
Rata-rata $\pm$ SD		11.08 $\pm$ 4.330	9.250 $\pm$ 2.184	8.718 $\pm$ 3.843	14.14 $\pm$ 1.822	14.91 $\pm$ 2.741	
D2	30	14.89	11.41	16.98	17.79	25	17.80 $\pm$ 5.578
	26	15.64	13.38	18.53	20.05	20.18	18.04 $\pm$ 3.192
	29	6.31	9.2	11.13	14.94	15.41	12.670 $\pm$ 3.004
	21	13.92	12.98	12.66	16.67	19.32	15.41 $\pm$ 3.180
	28	14.78	15.79	16.2	17.31	17.78	16.77 $\pm$ 0.930
Rata-rata $\pm$ SD		13.11 $\pm$ 3.849	12.55 $\pm$ 2.444	15.10 $\pm$ 3.091	17.35 $\pm$ 1.854	19.54 $\pm$ 3.550	
D3	27	6.98	16.13	16.37	16.78	17.98	16.82 $\pm$ 0.822
	27	16.43	13.7	16.74	17.74	20	17.05 $\pm$ 2.614
	30	10.8	7.49	12.61	16.64	24.62	15.34 $\pm$ 7.232
	24	15.75	18.33	23.07	23.33	25.12	22.46 $\pm$ 2.902
	30	19.25	16.31	19.86	20.3	21.13	19.40 $\pm$ 2.126
Rata-rata $\pm$ SD		13.84 $\pm$ 4.897	14.39 $\pm$ 4.193	17.73 $\pm$ 3.940	18.96 $\pm$ 2.851	21.77 $\pm$ 3.052	

Keterangan :

K+ : Kontrol Positif

K- : Kontrol Negatif

D1 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 125 mg/kgBB

D2 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 250 mg/kgBB

D3 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 500 mg/kgBB

Lampiran 13. Perhitungan Persen Hambatan Nyeri (PHN)

Kelompok Uji	Persentase Hambatan Nyeri % (rata-rata $\pm$ SD)
Asam Mefenamat	99.41 $\pm$ 54.19
Na CMC	-
FEBPT Dosis 125 mg	18.39 $\pm$ 32.83*
FEBPT Dosis 250 mg	62.73 $\pm$ 47.80
FEBPT Dosis 500 mg	85.91 $\pm$ 66.95

Keterangan :

* : Berbeda signifikan dengan kontrol positif

FEBPT : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar

Lampiran 14. Hasil Analisis Data

Lampiran 14.1 Hasil Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Selisih Pre-Post Test 30	K+	.275	5	.200*	.910	5	.465
	K-	.211	5	.200*	.904	5	.431
	D1	.226	5	.200*	.923	5	.552
	D2	.160	5	.200*	.973	5	.895
	D3	.266	5	.180	.977	5	.917
Selisih Pre-Post Test 60	K+	.215	5	.200*	.968	5	.860
	K-	.172	5	.200*	.966	5	.847
	D1	.298	5	.166	.862	5	.237
	D2	.198	5	.200*	.980	5	.935
	D3	.290	5	.142	.863	5	.243
Selisih Pre-Post Test 90	K+	.274	5	.165	.985	5	.959
	K-	.209	5	.200*	.937	5	.645
	D1	.225	5	.200*	.879	5	.306
	D2	.262	5	.174	.854	5	.216
	D3	.238	5	.200*	.902	5	.421
Selisih Pre-Post Test 120	K+	.191	5	.200*	.974	5	.902
	K-	.193	5	.200*	.966	5	.847
	D1	.244	5	.200*	.918	5	.517
	D2	.232	5	.200*	.916	5	.503
	D3	.212	5	.200*	.930	5	.595

Keterangan : Uji normalitas dengan nilai signifikansi normal > 0,05

K+ : Kontrol Positif

K- : Kontrol Negatif

D1 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 125 mg/kgBB

D2 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 250 mg/kgBB

D3 : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar Dosis 500 mg/kgBB

Lampiran 14.2 Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Selisih Pre-Post Test 30	Based on Mean	1.977	4	20	.137
	Based on Median	.782	4	20	.550
	Based on Median and with adjusted df	.782	4	9.338	.564
	Based on trimmed mean	1.811	4	20	.166
Selisih Pre-Post Test 60	Based on Mean	1.985	4	20	.133
	Based on Median	1.880	4	20	.153
	Based on Median and with adjusted df	1.880	4	11.241	.183
	Based on trimmed mean	1.974	4	20	.161
Selisih Pre-Post Test 90	Based on Mean	.636	4	20	.643
	Based on Median	.501	4	20	.735
	Based on Median and with adjusted df	.501	4	18.608	.735
	Based on trimmed mean	.668	4	20	.622
Selisih Pre-Post Test 120	Based on Mean	1.579	4	20	.219
	Based on Median	.684	4	20	.611
	Based on Median and with adjusted df	.684	4	14.906	.614
	Based on trimmed mean	1.600	4	20	.213

Keterangan : Uji homogenitas dengan nilai signifikansi homogen > 0,05

Lampiran 14.3 Hasil Uji Paired Sample T-Test

Paired Samples Test										
		Paired Differences								
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig (2-tailed)	
					Lower	Upper				
Kontrol Positif (Asam Mefenamat)	Pre Test – Post Test 30	-3.86000	1.94418	.86947	-6.27402	-1.44598	-4.440	4	.011	
	Pre Test – Post Test 60	-4.30200	1.97148	.88167	-6.74991	-1.85409	-4.879	4	.008	
	Pre Test – Post Test 90	-9.21600	2.91394	1.30315	-12.83413	-5.59787	-7.072	4	.002	
	Pre Test – Post Test 120	-12.69200	4.68739	2.09627	-18.51217	-6.87183	-6.055	4	.004	
Kontrol Negatif (Na CMC)	Pre_Test - Post_Test30	2.66400	5.79296	2.59069	-4.52891	9.85691	1.028	4	.362	
	Pre_Test - Post_Test60	1.33200	9.42518	4.21507	-10.37091	13.03491	.316	4	.768	
	Pre_Test - Post_Test90	-.10400	3.34241	1.49477	-4.25415	4.04615	-.070	4	.948	
	Pre_Test - Post_Test120	2.04800	7.81355	3.49433	-7.65380	11.74980	.586	4	.589	
FEBPT Dosis 125 mg	Pre_Test - Post_Test30	1.82800	2.89880	1.29638	-1.77133	5.42733	1.410	4	.231	
	Pre_Test - Post_Test60	2.36000	7.30988	3.26908	-6.71642	11.43642	.722	4	.510	
	Pre_Test - Post_Test90	-3.06600	3.50225	1.56625	-7.41461	1.28261	-1.958	4	.122	
	Pre_Test - Post_Test120	-3.83000	6.95427	3.11004	-12.46486	4.80486	-1.231	4	.286	
FEBPT Dosis 250 mg	Pre_Test - Post_Test30	.55600	2.54598	1.13860	-2.60526	3.71726	.488	4	.651	
	Pre_Test - Post_Test60	-1.99200	2.22015	.99288	-4.74868	.76468	-2.006	4	.115	
	Pre_Test - Post_Test90	-4.24400	2.56128	1.14544	-7.42426	-1.06374	-3.705	4	.021	
	Pre_Test - Post_Test120	-6.43000	3.04422	1.36142	-10.20990	-2.65010	-4.723	4	.009	
FEBPT Dosis 500 mg	Pre_Test - Post_Test30	-.55000	5.38328	2.40748	-7.23423	6.13423	-.228	4	.830	
	Pre_Test - Post_Test60	-3.88800	4.18079	1.86971	-9.07914	1.30314	-2.079	4	.106	
	Pre_Test - Post_Test90	-5.11600	3.85854	1.72559	-9.90701	-.32499	-2.965	4	.041	
	Pre_Test - Post_Test120	-7.92800	5.04487	2.25613	-14.19203	-1.66397	-3.514	4	.025	

Keterangan : Uji paired t test dengan nilai signifikansi terdapat perbedaan < 0,05
FEBPT : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar

Lampiran 14.4 Hasil Uji Independent Sample T-Test

			Independent Samples Test								
			Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
			F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
										Lower	Upper
Kontrol Positif-Kontrol Negatif	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	3.216	.111	2.387	8	.044	6.52400	2.73270	.22238	12.82562
		Equal variances not assumed			2.387	4.890	.064	6.52400	2.73270	-.54852	13.59652
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	6.502	.034	1.308	8	.227	5.63400	4.30629	-4.29633	15.56433
		Equal variances not assumed			1.308	4.349	.256	5.63400	4.30629	-5.95280	17.22080
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.274	.615	4.595	8	.002	9.11200	1.98306	4.53905	13.68495
		Equal variances not assumed			4.595	7.854	.002	9.11200	1.98306	4.52421	13.69979
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.679	.231	3.617	8	.007	14.74000	4.07488	5.34331	24.13669
		Equal variances not assumed			3.617	6.549	.010	14.74000	4.07488	4.96827	24.51173
Kontrol Positif-FEBPT Dosis 125mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.978	.352	3.644	8	.007	5.68800	1.56095	2.08844	9.28756
		Equal variances not assumed			3.644	6.993	.008	5.68800	1.56095	1.99618	9.37982
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	19.258	.002	1.968	8	.085	6.66200	3.38588	-1.14586	14.46986
		Equal variances not assumed			1.968	4.579	.112	6.66200	3.38588	-2.28808	15.61208
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.774	.405	3.018	8	.017	6.15000	2.03749	1.45155	10.84845
		Equal variances not assumed			3.018	7.744	.017	6.15000	2.03749	1.42436	10.87564
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.671	.232	2.363	8	.046	8.86200	3.75056	.21319	17.51081
		Equal variances not assumed			2.363	7.013	.050	8.86200	3.75056	-.00341	17.72741
Kontrol Positif-FEBPT Dosis 250mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.397	.546	3.082	8	.015	4.41600	1.43261	1.11239	7.71961
		Equal variances not assumed			3.082	7.481	.016	4.41600	1.43261	1.07209	7.75991
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	.012	.917	1.740	8	.120	2.31000	1.32784	-.75200	5.37200
		Equal variances not assumed			1.740	7.890	.121	2.31000	1.32784	-.75947	5.37947
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.038	.850	2.866	8	.021	4.97200	1.73500	.97107	8.97293
		Equal variances not assumed			2.866	7.870	.021	4.97200	1.73500	.95958	8.98442

	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.321	.587	2.505	8	.037	6.26200	2.49956	.49801	12.02599
		Equal variances not assumed			2.505	6.865	.041	6.26200	2.49956	.32778	12.19622
Kontrol Positif-FEBPT Dosis 500mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	5.049	.055	1.293	8	.232	3.31000	2.55967	-2.59261	9.21261
		Equal variances not assumed			1.293	5.026	.252	3.31000	2.55967	-3.25962	9.87963
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	8.105	.022	.200	8	.846	.41400	2.06716	-4.35288	5.18088
		Equal variances not assumed			.200	5.695	.848	.41400	2.06716	-4.71053	5.53853
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	1.072	.331	1.896	8	.295	4.10000	2.16238	-.88645	9.08645
		Equal variances not assumed			1.896	7.443	.297	4.10000	2.16238	-.95219	9.15219
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.297	.601	1.547	8	.160	4.76400	3.07969	-2.33777	11.86577
		Equal variances not assumed			1.547	7.957	.161	4.76400	3.07969	-2.34443	11.87243
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	3.216	.111	-2.387	8	.044	6.52400	2.73270	12.82562	.22238
		Equal variances not assumed			-2.387	4.890	.064	6.52400	2.73270	-13.59652	.54852
Kontrol Negatif-Kontrol Positif	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	6.502	.034	-1.308	8	.227	5.63400	4.30629	-15.56433	4.29633
		Equal variances not assumed			-1.308	4.349	.256	5.63400	4.30629	-17.22080	5.95280
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.274	.615	-4.595	8	.002	9.11200	1.98306	13.68495	4.53905
		Equal variances not assumed			-4.595	7.854	.002	9.11200	1.98306	13.69979	4.52421
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.679	.231	-3.617	8	.007	14.74000	4.07488	24.13669	5.34331
		Equal variances not assumed			-3.617	6.549	.010	14.74000	4.07488	24.51173	4.96827
Kontrol Negatif-FEBPT Dosis 125mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	1.597	.242	-.289	8	.780	-.83600	2.89694	-7.51636	5.84436
		Equal variances not assumed			-.289	5.885	.783	-.83600	2.89694	-7.95827	6.28628
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	.156	.703	.193	8	.852	1.02800	5.33420	-11.27269	13.32869
		Equal variances not assumed			.193	7.534	.852	1.02800	5.33420	-11.40652	13.46252
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.108	.751	-1.368	8	.208	-2.96200	2.16506	-7.95464	2.03064
		Equal variances not assumed			-1.368	7.983	.209	-2.96200	2.16506	-7.95653	2.03253
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.040	.847	-1.257	8	.244	-5.87800	4.67789	-16.66524	4.90924
		Equal variances not assumed			-1.257	7.894	.245	-5.87800	4.67789	-16.69055	4.93455

Kontrol Negatif-FEBPT Dosis 250mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	2.154	.180	.745	8	.478	2.10800	2.82986	-4.41766	8.63366
		Equal variances not assumed			.745	5.490	.487	2.10800	2.82986	-4.97548	9.19148
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	6.133	.038	.768	8	.465	3.32400	4.33043	-6.66199	13.30999
		Equal variances not assumed			.768	4.443	.482	3.32400	4.33043	-8.24129	14.88929
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.602	.460	2.198	8	.049	4.14000	1.88318	-.20262	8.48262
		Equal variances not assumed			2.198	7.493	.051	4.14000	1.88318	-.25428	8.53428
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	3.967	.082	2.261	8	.044	8.47800	3.75017	-.16991	17.12591
		Equal variances not assumed			2.261	5.187	.055	8.47800	3.75017	-1.05851	18.01451
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.000	.986	-.909	8	.390	-3.21400	3.53661	-11.36944	4.94144
		Equal variances not assumed			-.909	7.957	.390	-3.21400	3.53661	-11.37706	4.94906
Kontrol Negatif-FEBPT Dosis 500mg	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	2.553	.149	-1.132	8	.290	-5.22000	4.61114	-15.85331	5.41331
		Equal variances not assumed			-1.132	5.515	.304	-5.22000	4.61114	-16.74777	6.30777
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.285	.608	-2.195	8	.049	-5.01200	2.28298	-10.27656	.25256
		Equal variances not assumed			-2.195	7.841	.060	-5.01200	2.28298	-10.29526	.27126
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.006	.345	-2.398	8	.043	-9.97600	4.15938	19.56755	.38445
		Equal variances not assumed			-2.398	6.841	.048	-9.97600	4.15938	19.85784	.09416
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.978	.352	-3.644	8	.007	-5.68800	1.56095	-9.28756	-2.08844
		Equal variances not assumed			-3.644	6.993	.008	-5.68800	1.56095	-9.37982	-1.99618
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	19.258	.002	-1.968	8	.085	-6.66200	3.38588	-14.46986	1.14586
		Equal variances not assumed			-1.968	4.579	.112	-6.66200	3.38588	15.61208	2.28808
FEBPT Dosis 125mg-Kontrol Positif	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.774	.405	-3.018	8	.017	-6.15000	2.03749	-10.84845	-1.45155
		Equal variances not assumed			-3.018	7.744	.017	-6.15000	2.03749	-10.87564	-1.42436
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.671	.232	-2.363	8	.046	-8.86200	3.75056	-17.51081	-.21319
		Equal variances not assumed			-2.363	7.013	.050	-8.86200	3.75056	-17.72741	.00341
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	1.597	.242	.289	8	.780	.83600	2.89694	-5.84436	7.51636
		Equal variances not assumed			.289	5.885	.783	.83600	2.89694	-6.28627	7.95828

	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	.156	.703	-.193	8	.852	-1.02800	5.33420	-13.32869	11.27269
		Equal variances not assumed			-.193	7.534	.852	-1.02800	5.33420	-13.46252	11.40652
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.108	.751	1.368	8	.208	2.96200	2.16506	-2.03064	7.95464
		Equal variances not assumed			1.368	7.983	.209	2.96200	2.16506	-2.03253	7.95653
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.040	.847	1.257	8	.244	5.87800	4.67789	-4.90924	16.66524
		Equal variances not assumed			1.257	7.894	.245	5.87800	4.67789	-4.93455	16.69055
FEBPT Dosis 125mg-FEBPT Dosis 250mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.123	.734	.737	8	.482	1.27200	1.72540	-2.70678	5.25078
		Equal variances not assumed			.737	7.869	.482	1.27200	1.72540	-2.71835	5.26235
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	16.575	.004	1.274	8	.238	4.35200	3.41653	-3.52653	12.23053
		Equal variances not assumed			1.274	4.732	.262	4.35200	3.41653	-4.58237	13.28637
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	1.454	.262	.607	8	.041	1.17800	1.94041	-3.29659	5.65259
		Equal variances not assumed			.607	7.327	.042	1.17800	1.94041	-3.36915	5.72515
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	5.156	.053	.766	8	.036	2.60000	3.39497	-5.22882	10.42882
		Equal variances not assumed			.766	5.479	.035	2.60000	3.39497	-5.90262	11.10262
FEBPT Dosis 125mg-FEBPT Dosis 500mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	2.339	.165	.870	8	.410	2.37800	2.73433	-3.92737	8.68337
		Equal variances not assumed			.870	6.140	.417	2.37800	2.73433	-4.27591	9.03191
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	5.736	.044	1.659	8	.036	6.24800	3.76599	-2.43639	14.93239
		Equal variances not assumed			1.659	6.364	.045	6.24800	3.76599	-2.84079	15.33679
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.068	.801	.880	8	.025	2.05000	2.33041	-3.32394	7.42394
		Equal variances not assumed			.880	7.926	.025	2.05000	2.33041	-3.33267	7.43267
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.935	.362	1.067	8	.017	4.09800	3.84220	-4.76213	12.95813
		Equal variances not assumed			1.067	7.297	.020	4.09800	3.84220	-4.91294	13.10894
FEBPT Dosis 250mg-Kontrol Positif	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.397	.546	-3.082	8	.015	-4.41600	1.43261	-7.71961	-1.11239
		Equal variances not assumed			-3.082	7.481	.016	-4.41600	1.43261	-7.75991	-1.07209
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	.012	.917	-1.740	8	.120	-2.31000	1.32784	-5.37200	.75200
		Equal variances not assumed			-1.740	7.890	.121	-2.31000	1.32784	-5.37947	.75947

	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.038	.850	-2.866	8	.021	-4.97200	1.73500	-8.97293	-.97107
		Equal variances not assumed			-2.866	7.870	.021	-4.97200	1.73500	-8.98442	-.95958
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.321	.587	-2.505	8	.037	-6.26200	2.49956	-12.02599	-.49801
		Equal variances not assumed			-2.505	6.865	.041	-6.26200	2.49956	-12.19622	-.32778
FEBPT Dosis 250mg-Kontrol Negatif	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	2.154	.180	-.745	8	.478	-2.10800	2.82986	-8.63366	4.41766
		Equal variances not assumed			-.745	5.490	.487	-2.10800	2.82986	-9.19148	4.97548
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	6.133	.038	-.768	8	.465	-3.32400	4.33043	-13.30999	6.66199
		Equal variances not assumed			-.768	4.443	.482	-3.32400	4.33043	-14.88929	8.24129
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.602	.460	-2.198	8	.049	-4.14000	1.88318	-8.48262	.20262
		Equal variances not assumed			-2.198	7.493	.051	-4.14000	1.88318	-8.53428	.25428
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	3.967	.082	-2.261	8	.044	-8.47800	3.75017	-17.12591	.16991
		Equal variances not assumed			-2.261	5.187	.061	-8.47800	3.75017	-18.01451	1.05851
FEBPT Dosis 250mg-FEBPT Dosis 125mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.123	.734	-.737	8	.482	-1.27200	1.72540	-5.25078	2.70678
		Equal variances not assumed			-.737	7.869	.482	-1.27200	1.72540	-5.26235	2.71835
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	16.575	.004	-1.274	8	.238	-4.35200	3.41653	-12.23053	3.52653
		Equal variances not assumed			-1.274	4.732	.262	-4.35200	3.41653	-13.28637	4.58237
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	1.454	.262	-.607	8	.041	-1.17800	1.94041	-5.65259	3.29659
		Equal variances not assumed			-.607	7.327	.062	-1.17800	1.94041	-5.72515	3.36915
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	5.156	.053	-.766	8	.036	-2.60000	3.39497	-10.42882	5.22882
		Equal variances not assumed			-.766	5.479	.045	-2.60000	3.39497	-11.10262	5.90262
FEBPT Dosis 250mg-FEBPT Dosis 500mg	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	3.221	.110	.415	8	.689	1.10600	2.66315	-5.03523	7.24723
		Equal variances not assumed			.415	5.704	.693	1.10600	2.66315	-5.49330	7.70530
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	5.934	.041	.896	8	.397	1.89600	2.11698	-2.98577	6.77777
		Equal variances not assumed			.896	6.090	.404	1.89600	2.11698	-3.26561	7.05761
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	1.796	.217	.421	8	.235	.87200	2.07116	-3.90410	5.64810
		Equal variances not assumed			.421	6.952	.236	.87200	2.07116	-4.03239	5.77639

	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	2.634	.143	.568	8	.225	1.49800	2.63507	-4.57848	7.57448
		Equal variances not assumed			.568	6.572	.229	1.49800	2.63507	-4.81616	7.81216
FEBPT Dosis 500mg-Kontrol Positif	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	5.049	.055	-1.293	8	.232	-3.31000	2.55967	-9.21261	2.59261
		Equal variances not assumed			-1.293	5.026	.252	-3.31000	2.55967	-9.87962	3.25963
	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	8.105	.022	-.200	8	.846	-.41400	2.06716	-5.18088	4.35288
		Equal variances not assumed			-.200	5.695	.848	-.41400	2.06716	-5.53853	4.71053
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	1.072	.331	-1.896	8	.095	-4.10000	2.16238	-9.08645	.88645
		Equal variances not assumed			-1.896	7.443	.097	-4.10000	2.16238	-9.15219	.95219
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.297	.601	-1.547	8	.160	-4.76400	3.07969	-11.86577	2.33777
		Equal variances not assumed			-1.547	7.957	.161	-4.76400	3.07969	-11.87243	2.34443
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	.000	.986	.909	8	.390	3.21400	3.53661	-4.94144	11.36944
		Equal variances not assumed			.909	7.957	.390	3.21400	3.53661	-4.94906	11.37706
FEBPT Dosis 500mg-Kontrol Negatif	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	2.553	.149	1.132	8	.290	5.22000	4.61114	-5.41331	15.85331
		Equal variances not assumed			1.132	5.515	.304	5.22000	4.61114	-6.30777	16.74777
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.285	.608	2.195	8	.049	5.01200	2.28298	-.25256	10.27656
		Equal variances not assumed			2.195	7.841	.050	5.01200	2.28298	-.27126	10.29526
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	1.006	.345	2.398	8	.043	9.97600	4.15938	-.38445	-19.56755
		Equal variances not assumed			2.398	6.841	.048	9.97600	4.15938	-.09416	-19.85784
	Selisih Pre-Post Test 30	Equal variances assumed	2.339	.165	-.870	8	.410	-2.37800	2.73433	-8.68337	3.92737
		Equal variances not assumed			-.870	6.140	.417	-2.37800	2.73433	-9.03191	4.27591
FEBPT Dosis 500mg-FEBPT Dosis 125mg	Selisih Pre-Post Test 60	Equal variances assumed	5.736	.044	-1.659	8	.036	-6.24800	3.76599	-14.93239	2.43639
		Equal variances not assumed			-1.659	6.364	.045	-6.24800	3.76599	-15.33679	2.84079
	Selisih Pre-Post Test 90	Equal variances assumed	.068	.801	-.880	8	.025	-2.05000	2.33041	-7.42394	3.32394
		Equal variances not assumed			-.880	7.926	.025	-2.05000	2.33041	-7.43267	3.33267
	Selisih Pre-Post Test 120	Equal variances assumed	.935	.362	-1.067	8	.017	-4.09800	3.84220	-12.95813	4.76213
		Equal variances not assumed			-1.067	7.297	.020	-4.09800	3.84220	-13.10894	4.91294

FEBPT Dosis 500mg- FEBPT Dosis 250mg	Selisih Pre- Post Test 30	Equal variances assumed	3.221	.110	-.415	8	.689	-1.10600	2.66315	-7.24723	5.03523
		Equal variances not assumed			-.415	5.704	.693	-1.10600	2.66315	-7.70530	5.49330
	Selisih Pre- Post Test 60	Equal variances assumed	5.934	.041	-.896	8	.397	-1.89600	2.11698	-6.77777	2.98577
		Equal variances not assumed			-.896	6.090	.404	-1.89600	2.11698	-7.05761	3.26561
	Selisih Pre- Post Test 90	Equal variances assumed	1.796	.217	-.421	8	.235	-.87200	2.07116	-5.64810	3.90410
		Equal variances not assumed			-.421	6.952	.236	-.87200	2.07116	-5.77639	4.03239
	Selisih Pre- Post Test 120	Equal variances assumed	2.634	.143	-.568	8	.225	-1.49800	2.63507	-7.57448	4.57848
		Equal variances not assumed			-.568	6.572	.229	-1.49800	2.63507	-7.81216	4.81616

Keterangan : Uji independent t-test dengan nilai signifikansi < 0,05

Kontrol Positif : Asam Mefenamat

Kontrol Negatif : Na CMC

FEBPT : Fraksi Etil Asetat Bunga Pacing Tawar