

The Effect of Giving Melinjo Leaves (*Gnetum gnemon L.*) Methanol Extract on the Pain Response in Male White Mice Using the Chemical Stimulation Method

*Pengaruh Pemberian Ekstrak Metanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) terhadap Respon Nyeri pada Mencit Putih Jantan dengan Metode Rangsang Kimia*

Evelyne Citra Dewi, Anwar Sodik*, Muhammad Husnul Khuluq

Program Farmasi Program Sarjana, Universitas Muhammadiyah Gombong, Indonesia

ABSTRACT

Pain is an unpleasant sensory and emotional feeling, associated with tissue damage. Melinjo leaves are a plant that is useful as a traditional medicine for treating pain. Using traditional medicines has lower side effects than chemical medicines. This study aims to determine the analgesic activity and best dose of melinjo leaf methanol extract in mice induced by 1% acetic acid. This research method is experimental research with 25 mice as research subjects divided into 5 treatment groups with each group consisting of 5 mice. The treatment groups consisted of negative control CMC-Na 1%, positive control is mefenamic acid, melinjo leaf methanol extract group at doses of 50, 100, and 150 mg/kgBB, and the pain inducer was given 1% acetic acid. Observations were made by observing the movements of mice to calculate the % protection. The data was then tested for One Way Anova and Post-Hoc LSD or Games-Howell statistics. The results of the methanol extract of melinjo leaves at a dose of 150 mg/kgBW had the best analgesic effect because it had a % protection of 78.04% and a significant impact in mice induced by 1% acetic acid. Melinjo leaf methanol extract significantly had the best analgesic effect on mice ($p < 0.05$), and the mean difference value was greater.

Keywords: Analgesic, melinjo leaves, methanol, acetic acid

ABSTRAK

Nyeri merupakan perasaan sensoris serta emosional tidak menyenangkan, berhubungan dengan kerusakan jaringan. Daun melinjo salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai obat tradisional untuk mengobati nyeri. Penggunaan obat tradisional efek sampingnya lebih rendah dibandingkan obat kimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas analgetik dan dosis terbaik ekstrak metanol daun melinjo pada mencit yang diinduksi asam asetat 1%. Metode penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan subjek penelitiannya mencit sebanyak 25 ekor yang dibagi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri 5 ekor mencit. Kelompok perlakuan terdiri kontrol negatif CMC-Na 1%, kontrol positif asam mefenamat, kelompok ekstrak metanol daun melinjo dosis 50, 100, 150 mg/kgBB, penginduksi nyeri diberikan asam asetat 1%. Pengamatan dilakukan dengan mengamati geliat mencit untuk dihitung % proteksinya. Data kemudian diuji statistik *One Way Anova* dan *Post-Hoc LSD* atau *Games-Howell*. Hasil ekstrak metanol daun melinjo dengan dosis 150 mg/kgBB memiliki efek analgetik paling baik karena memiliki % proteksi 78,04%, serta memberikan efek yang signifikan pada mencit yang diinduksi asam asetat 1%. Ekstrak metanol daun melinjo memiliki efek analgetik terbaik pada mencit secara signifikan ($p < 0,05$) dan nilai *mean differencenya* lebih besar.

Kata Kunci : Analgetik, daun melinjo, metanol, asam asetat

*Corresponding Author: **Anwar Sodik**

Program Farmasi Program Sarjana, Universitas Muhammadiyah Gombong, Indonesia

Email: anwarsodik@unimugo.ac.id

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang mempunyai kurang lebih 30.000 jenis tanaman, di antaranya yang bermanfaat sebagai tanaman obat sekitar 940 jenis. Kekayaan alam tersebut menjadikan Indonesia sebagai penghasil tanaman obat terbesar di dunia dengan iklim tropisnya yang memungkinkan beragam

tanaman dapat tumbuh dengan subur (Marjoni *et al.*, 2017). Pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional akhir-akhir ini semakin meningkat di Indonesia, karena pemanfaatan obat tradisional diyakini memiliki efek samping yang rendah dibandingkan dengan penggunaan obat kimia. Selain itu, bahan baku obat tradisional juga lebih mudah didapatkan. Salah satunya ialah tanaman melinjo (Andasari *et al.*, 2020). Tanaman melinjo (*Gnetum gnemon L.*) adalah salah satu spesies tanaman *Gymnospremae* yang berasal dari Asia Tenggara, khususnya Indonesia (Suryani & Zulkarnain, 2021). Daerah yang memiliki tanaman melinjo cukup banyak terdapat di daerah Kabupaten Kebumen, Jawa Tengah. Berdasarkan data statistik Kabupaten Kebumen pada tahun 2020, jumlah tanaman melinjo cukup besar yaitu mencapai 121.295 pohon (BPS, 2020).

Tanaman melinjo memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, tanin, dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai diuretik, antidiabetes, antihiperlipidemia, dan antioksidan (Lestari *et al.*, 2022). Menurut penelitian Adikusuma & Ananda (2016), pada tanaman melinjo terutama bagian daunnya yang mengandung flavonoid berpotensi meredakan nyeri dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menjelaskan bahwa ekstrak etanol daun melinjo dengan dosis 51,84 mg/kgBB memiliki efek analgetik yang tidak berbeda signifikan dengan asam mefenamat dosis 1,3 mg/kgBB ($p > 0,05$). Penelitian ini sebelumnya belum pernah dilakukan, namun ada penelitian yang sejenis tetapi memiliki perbedaan pada pelarut dan metodenya yaitu pada penelitian yang sejenis menggunakan pelarut etanol dengan metode rangsang panas.

Nyeri merupakan perasaan sensoris serta emosional yang tidak menyenangkan, berhubungan dengan adanya kerusakan jaringan (Tjay & Rahardja, 2015). Menurut Kemenkes RI (2019), penanganan nyeri dapat dilakukan menggunakan terapi farmakologi dengan pengobatan pereda nyeri atau yang dikenal dengan analgetik. Golongan obat analgetik dibagi menjadi analgetik opioid/narkotik (morfin, petidin, kodein, tramadol) dan analgetik non-narkotik (paracetamol, asam mefenamat, ibuprofen, asetosal). Penggunaan obat analgesik umumnya akan memberikan reaksi yang merugikan terutama gangguan lambung, seperti mual, muntah, dan dapat menyebabkan sembelit, gagal ginjal, maupun kerusakan hati (DiPiro *et al.*, 2015).

Penggunaan obat herbal banyak diminati pada masyarakat, karena memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan obat konvensional (Lestari, 2020). Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti melakukan uji efek analgetik dari ekstrak metanol daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) pada mencit putih jantan dengan metode induksi asam asetat 1%.

Bahan dan Metode

Bahan

Alat yang digunakan meliputi neraca analitik (*Bel Engineering*), blender (*Philips*), oven (*Memmert*), timbangan khusus untuk mencit, waterbath (Biobase), stopwatch, pipa kapiler (*Camag*), sonde, spuit. (*OneMed*) dan kalkulator. Adapun bahan yang digunakan mencakup daun melinjo segar dari Kabupaten Kebumen, asam mefenamat, asam asetat glasial, metanol, CMC-Na, HCl, FeCl₃, magnesium (Mg), reagen *Dragendorff*, dan mencit putih jantan.

Metode

1. Determinasi Daun Melinjo

Uji determinasi tanaman di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan

2. Ekstraksi Daun Melinjo

Ekstraksi daun melinjo dilakukan dengan tahapan berikut ini:

- a. Daun melinjo segar sebanyak 2500 gram dicuci kemudian dipanaskan secara tidak langsung dengan sinar matahari.
- b. Setelah mengering, daun melinjo dihaluskan
- c. Simplisia daun melinjo direndam dengan metanol dengan perbandingan 1: 10
- d. Ekstraksi selama 3 kali selama 24 jam dengan sesekali diaduk lalu disaring
- e. Filtrat dipanaskan dengan waterbath hingga menjadi ekstrak kental.
- f. Terakhir, dilakukan perhitungan rendemen

Dengan demikian, maserasi daun melinjo menggunakan metode maserasi telah selesai dilakukan, menghasilkan ekstrak kental yang siap untuk digunakan dalam penelitian selanjutnya.

3. Standarisasi Ekstrak Metanol Daun Melinjo

3.1 Organoleptis

Parameter organoleptis ekstrak ditentukan dengan menggunakan panca indera manusia untuk mengamati karakteristik seperti warna, aroma, dan rasa (Triastuti, 2021).

3.2 Kadar Air

Menimbang sekitar 10 gram sampel, keringkan pada temperatur 105°C dalam waktu 5 jam kemudian timbang kembali. Proses pengeringan dilanjutkan dengan menimbang sampel setiap 1 jam selama proses berlangsung (Kemenkes RI, 2017)..

3.3 Kadar Abu

Bahan uji 2-3 gram dimasukkan krus silikat lalu dipijarkan dan ditimbang terlebih dahulu. Proses pijarkan dilakukan dengan hati-hati hingga arang habis terbakar, kemudian biarkan sampel mendingin dan timbang kembali (Kemenkes RI, 2017).

4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk ekstrak metanol dari daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) melibatkan pengujian keberadaan senyawa-senyawa tertentu, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

5. Uji Efek Analgesik

5.1 Persiapan Mencit

Mencit putih Jantan 25 ekor antara 20-30 gram, yang sebelumnya telah diadaptasi dalam kondisi kesehatan, digunakan dalam penelitian ini. Mencit dibagi menjadi 5 grup dan tiap grup terdiri dari 5 ekor.

5.2 Pembuatan NaCMC 1%

NaCMC 1 gram dilarutkan dalam sebagian akuades hangat. Campur larutan dengan cara diaduk, lalu tambahkan secara bertahap akuades sambil diaduk sampai larut. Tambahkan akuades sampai volumenya 100 mL

5.3 Pembuatan Larutan Asam Asetat 1%

Tambahkan 1 mL asam asetat glasial ke dalam labu ukur berukuran 100 mL, kemudian tambahkan akuades secara bertahap hingga mencapai tanda batas.

5.4 Pembuatan dan Penentuan Dosis Asam Mefenamat

Dalam menentukan dosis asam mefenamat untuk mencit, kita perlu mengonversi dosis yang biasa diberikan kepada manusia ke dalam dosis yang sesuai untuk mencit. Diketahui bahwa dosis asam mefenamat untuk manusia adalah 500 mg per 70 kg berat badan (KgBB). Jika dikonversikan ke dalam dosis untuk mencit, maka dosisnya menjadi 65 mg per kg berat badan mencit (mg/kgBB), atau setara dengan 1,3 mg per 20 gram berat badan mencit (mg/20gBB) (Widiyani & Listyawati, 2022). Untuk pembuatan larutan asam mefenamat, 500 mg asam mefenamat digerus terlebih dahulu, kemudian dilarutkan dalam larutan CMC Na 1% secara perlahan-lahan hingga volume mencapai 100 mL.

5.5 Uji Analgesik

Uji analgesik menggunakan 25 mencit dikelompokkan dalam 5 grup percobaan.. Grup tersebut terdiri dari grup kontrol positif, grup kontrol negatif, dan tiga grup perlakuan dengan dosis ekstrak 50, 100, dan 150 mg/kgBB. Mencit tidak diberikan makanan selama 3-4 jam dan tetap diberikan minuman. Sebelum diinduksi dengan asam asetat 1% intraperitoneal, mencit diam selama 30 menit. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah gerakan yang ditunjukkan oleh mencit setiap 30 menit selama periode pengamatan 120 menit.

Analisis Data

Efek analgetik dengan persamaan *Hendersoth* dan *Forsaitth* (Dilllasamola, 2021) sebagai berikut :

$$\text{Persen Proteksi} = 100 - \left(\frac{P}{K} \times 100\% \right)$$

Keterangan :

P : jumlah geliat kelompok perlakuan

K : jumlah geliat kelompok kontrol negatif

Analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS. Tahap awal adalah melakukan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengevaluasi normalitas data. Tahap kedua melakukan uji Levene untuk mengetahui kehomogenitasan data. Jika uji *Shapiro-Wilk* hasilnya data terdistribusi secara normal, langkah selanjutnya uji Anova One Way untuk menganalisis perbedaan antar grup. Apabila uji Levene datanya homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* menggunakan metode *Least Significant Difference (LSD)*. Apabila data tidak homogen, akan dilakukan menggunakan metode *Games Howel*.

Hasil dan Pembahasan

Daun melinjo (*Gnetum gnemon*) yang diteliti berasal dari Kebumen. Sebelumnya, daun melinjo telah dideterminasi. Daun melinjo diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode ini sederhana, membutuhkan peralatan tidak rumit, dan sesuai untuk ekstraksi zat yang sensitif dengan panas (Nugroho, 2017). Penggunaan pelarut metanol karena sifatnya yang polar, yang memungkinkan metanol untuk melarutkan senyawa polar seperti gugus fenol (Romadanu *et al.*, 2014). Struktur molekul methanol yang kecil memungkinkannya menembus seluruh jaringan tanaman dan mengekstraksi zat aktif yang terkandung di dalamnya (Rahayu *et al.*, 2015)

Rendemen ekstrak metanol dari daun melinjo yang diperoleh sebesar 21,462%, memenuhi standar yang ditetapkan, di mana rendemen ekstrak kental harusnya tidak kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2017). Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian disubjekkan pada proses standarisasi, diikuti dengan skrining fitokimia agar diketahui komposisi yang terkandung dalam ekstrak.

Tabel 1. Hasil standarisasi ekstrak metanol daun melinjo

Karakteristik	Hasil	Standar Literatur
Organoleptis	Warna : hijau kehitaman Bau : bau khas Rasa : pahit	-
Kadar Air	3,02%	<10%
Kadar Abu Total	4,72%	<16,6%

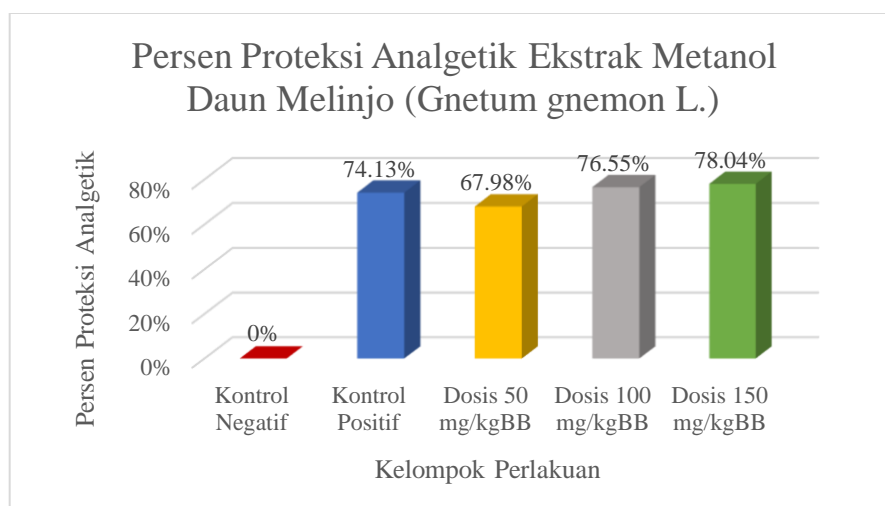
Hasil pengamatan menunjukkan ekstrak memiliki warna hijau kehitam-hitaman, rasa yang pahit, dan aroma yang khas. Pengujian kadar abu total 4,72% dan kadar air 3,02%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak sesuai dengan standar.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun melinjo

Skrining Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Uji Flavonoid	Mg + HCl pekat	Jingga	Positif
Uji Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau gelap	Positif
Uji Saponin	Akuades + HCl 1N	Busa stabil	Positif
Uji Alkaloid	HCl 2% + reagen Dragendorff	Endapan jingga	Positif

Tabel 3. Hasil rata-rata geliat mencit dan persen proteksi analgetik ekstrak metanol daun melinjo

No.	Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Geliat	Persen Proteksi Analgetik
1.	Kontrol Negatif	43,5	0%
2.	Kontrol Positif	11,25	74,13%
3.	Dosis 50 mg/kgBB	13,925	67,98%
4.	Dosis 100 mg/kgBB	10,2	76,55%
5.	Dosis 150 mg/kgBB	9,55	78,04%

**Gambar 1.** Grafik persentase proteksi analgetik ekstrak metanol daun melinjo

Penelitian uji efek analgetik ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas analgetik dan dosis terbaik ekstrak metanol daun melinjo terhadap mencit putih jantan yang diinduksi asam asetat 1%. Mencit dipilih sebagai hewan uji karena memiliki sistem pernapasan, reproduksi, dan peredaran darah yang mirip dengan manusia. Menggunakan mencit putih jantan sebagai subjek dalam penelitian ini dikarenakan kondisi mencit jantan lebih stabil dibandingkan mencit betina yang dapat mengalami perubahan kondisi hormonal pada waktu-waktu tertentu, seperti masa siklus estrus, masa kehamilan, dan menyusui yang dapat mempengaruhi keadaan psikologi hewan uji (Yusuf *et al.*, 2022).

Pengujian analgetik dilakukan menggunakan 25 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok perlakuan diantaranya yaitu kelompok kontrol negatif CMC-Na 1%, kontrol positif asam mefenamat (ponstan), kelompok ekstrak metanol daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB. Pemilihan CMC-Na sebagai kontrol negatif dikarenakan CMC-Na merupakan senyawa yang tidak mempunyai efek analgetik, sedangkan dipilihnya kontrol positif menggunakan asam mefenamat dikarenakan asam mefenamat adalah salah satu obat yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai anti nyeri ringan hingga sedang, seperti nyeri kepala, sakit gigi, dan nyeri perut yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase, dimana merupakan enzim yang berperan dalam produksi prostaglandin (Haryani, 2021). Alasan dipilih asam mefenamat jenis ponstan karena memiliki kelarutan air yang rendah, namun permeabilitas tinggi. Bioavailabilitas absolut obat ini yaitu sekitar 90-100%. Sehingga proses disolusi sangat penting untuk memastikan penyerapan obat yang tinggi (Nurhikmah *et al.*, 2016). Penginduksi nyeri yang digunakan ialah asam asetat 1%, karena asam asetat dapat menyebabkan peradangan pada dinding rongga perut, sehingga menimbulkan reaksi menggeliat pada hewan uji. Asam asetat bekerja secara tidak langsung dengan mendorong pelepasan prostaglandin sebagai produk dari siklooksigenase (COX) ke dalam peritoneum (Rahimah *et al.*, 2023).

Larutan uji diberikan 30 menit sebelum diinduksi asam asetat 1% yang bertujuan untuk memberikan efek proteksi nyeri pada mencit (Pasita, 2018). Pengamatan dilakukan setelah pemberian asam asetat dengan

mengamati geliat pada mencit yang ditandai dengan menarik kedua kaki ke belakang sehingga tubuh mencit terlihat memanjang dan perutnya menempel pada dasar kandang. Jumlah geliat mencit diamati selama 2 jam, karena asam mefenamat mulai bekerja dalam 2 sampai 4 jam sehingga memerlukan waktu untuk pengamatan selama 2 jam.

Berdasarkan hasil geliat mencit ekstrak metanol daun melinjo (Tabel 3), menunjukkan bahwa kontrol negatif memiliki rata-rata geliat tertinggi yakni 43,5. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC-Na sebagai kontrol negatif tidak mampu menurunkan jumlah geliat pada mencit. Pada kelompok ekstrak metanol dengan dosis 150 mg/kgBB menunjukkan rata-rata geliat terendah yaitu 9,55. Setelah didapatkan hasil rata-rata geliat pada mencit, kemudian dihitung % proteksi analgetik pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil % proteksi analgetik ekstrak metanol (Tabel 3 & Gambar 1) menunjukkan bahwa CMC-Na sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas analgetik karena % proteksi yang didapatkan yaitu 0%, sedangkan ekstrak metanol daun melinjo dosis 150 mg/kgBB memiliki % proteksi tertinggi yaitu 78,04%. Rata-rata geliat berbanding terbalik dengan nilai persentase proteksi, yang mana semakin besar persentase proteksi analgetik maka akan semakin kecil rata-rata geliat pada mencit dan sebaliknya (Pasita, 2018). Semakin kecil rata-rata geliat pada mencit dan semakin besar persentase proteksi analgetik, maka akan semakin baik efek analgetik yang dihasilkan.

Tabel 4. Hasil uji *Post Hoc* (LSD) ekstrak metanol daun melinjo

Kelompok Perlakuan	Kelompok Perlakuan	Mean Difference	Nilai p
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	32,25000	0,000
	Dosis 50 mg/kgBB	25,20000	0,000
	Dosis 100 mg/kgBB	33,30000	0,000
	Dosis 150 mg/kgBB	33,95000	0,000

Hasil yang diperoleh kemudian dianalisis data secara statistik menggunakan aplikasi SPSS untuk mengetahui normalitas dan homogenitas suatu data, serta dilakukan analisis uji statistik menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui signifikansi hubungan antara kelima kelompok perlakuan. Data yang digunakan untuk menganalisis menggunakan SPSS yaitu data rata-rata geliat tiap mencit. Pada uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* yang bertujuan untuk melihat kenormalan suatu data, diperoleh hasil dengan nilai $p > 0,05$ yang berarti data yang dianalisis terdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan uji *Levene* diperoleh hasil dengan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data yang diamati terdistribusi homogen.

Tahap uji selanjutnya yaitu melakukan analisis menggunakan *One Way Anova* yang bertujuan untuk melihat perbedaan dari masing-masing kelompok. Hasil yang diperoleh dengan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dalam setiap kelompok. Tahap berikutnya yaitu melakukan uji *Post Hoc* dengan *LSD* yang bertujuan untuk menunjukkan kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Pada data (Tabel 4) diketahui bahwa seluruh kelompok ekstrak metanol daun melinjo memiliki perbedaan yang signifikan, dinyatakan dengan nilai $p < 0,05$. Selain itu juga dilihat dari nilai *mean difference* yang positif, maka menandakan bahwa efek analgetiknya lebih kuat pada ekstrak metanol dosis 150 mg/kgBB daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*).

Kesimpulan

Hasil penelitian uji efek analgetik ekstrak metanol daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) memiliki efek analgetik terhadap mencit putih jantan yang diinduksi asam asetat 1%. Ekstrak metanol daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) pada dosis 150 mg/kgBB juga memiliki efek analgetik terbaik pada mencit putih jantan yang dinyatakan signifikan dengan nilai $p < 0,05$ dan *mean difference* yang positif terbesar.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada pihak Laboratorium Program Studi Farmasi Program Sarjana Universitas Muhammadiyah Gombong yang telah mengizinkan dan memfasilitasi penulis untuk melakukan penelitian, serta semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini

Referensi

- Marjoni, R., Naim, A. & Sari, R. S. 2017. Aktivitas Analgetik Ekstrak Metanol Daun Mangga Arum Manis (*Mangifera indica* L. Var. Arum manis) terhadap Mencit Putih Betina. *Jurnal Ipteks Terapan Research of Applied Science and Education* V12.i 1 (41-52) \
- Andasari, S. D., Hermanto, A. A. & Wahyuningsih, A. 2020. Perbandingan Hasil Skrining Fitokimia Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan Metode Maserasi dan Sokhletasi. **11**, 27–31
- Suryani, E. & Zulkarnain. 2021. Inventarisasi dan Karakterisasi Melinjo (*Gnetum Gnemon*) di Kota Solok. *Jurnal Menara Ilmu* **XV**, 29–36
- BPS. 2020. *Buku Statistik Pertanian Tahun 2020*. (Dinas Pertanian dan Pangan, Kebumen,
- Lestari, Herlina, Annisa, Amriani. & Wijaya, D. P. 2022. Accute Toxicity of Extract from Melinjo (*Gnetum Gnemon* L) Leaf with Fixed Dose Procedure Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **9**, 140
- Adikusuma, W. & Ananda, D. R. 2016. Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum Gnemon* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* **1**, 71–78
- Tjay, T. H. & Rahardja, K. 2015. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan Dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo
- Kemendes RI. 2019. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Nyeri. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
- DiPiro, J. T., Wells, B. G., Schwinghammer, T. L. & DiPiro, C. V. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*. United States : Mc Graw-Hill Education.
- Lestari, D. A. 2020. Gambaran Pengetahuan, Kepercayaan Masyarakat dan Efek Samping Penggunaan Obat Herbal di Kabupaten Lampung Timur. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Dillasamola, D. 2021. *Teknik Evaluasi Bioaktivitas. Paper Knowledge. Toward a Media History of Documents* vol. 3 Padang : LPPM-Universitas Andalas.
- Ulfah, M., Kurniawan, R. C. & Metalia, E. 2020. Standarisasi Paramater Non Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)* **17**, 35–43
- Yusuf, M., Al-Gizar, M. R., Yudistira, Badaring, D. R. & Aswanti, H. 2022. *Teknik Manajemen Dan Pengelolaan Hewan Percobaan*. Makassar : Jurusan Biologi FMIPA UNM, Makassar.
- Haryani, Y. 2021. Gambaran Penggunaan Obat Asam Mefenamat di Klinik Adibah Kabupaten Brebes. Tegal : Politeknik Harapan Bersama.
- Nurhikmah, W., Sumirtapura, Y. C. & Pamudji, J. S. 2016. Dissolution Profile of Mefenamic Acid Solid Dosage Forms in Two Compendial and Biorelevant (FaSSiF) Media. *Scientia Pharmaceutica* doi:10.3797/scipharm.ISP.2015.09.

Rahimah, S. *et al.* 2023. Pengujian Aktivitas Analgetik dan Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Tendani (*Goniothalamus macrophyllus* (Blume) Hook. F. & Thomson). **8**, 32–36

Pasita, E. 2018. Uji Efektivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) terhadap Mencit Putih (*Mus musculus* L) dengan Metode Witkin.