

SKRIPSI

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK BUNGA CENGKEH
(*Syzygium aromaticum. L*) sebagai ANALGESIK
TERHADAP REAKSI MENJILAT MENCIT
JANTAN (*Mus musculus. L*) yang
DIINDUKSI FORMALIN**



Oleh :

VINA PUSPITASARI
061611535013

**PRODI KEDOKTERAN HEWAN KAMPUS BANYUWANGI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BANYUWANGI
2020**

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*.
L) SEBAGAI ANALGESIK TERHADAP REAKSI MENJILAT MENCIT
JANTAN (*Mus musculus. L*) yang DIINDUKSI FORMALIN**

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

Vina Puspitasari
061611535013

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Retno Sri Wahjuni, drh., M.S)
Pembimbing Utama



(Amung Logam Saputro, drh., M.Si)
Pembimbing Serta

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*.
L) SEBAGAI ANALGESIK TERHADAP REAKSI MENJILAT MENCIT
JANTAN (*Mus musculus*. L) yang DIINDUKSI FORMALIN**

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.

Banuwangi, 27 Mei 2020



Vina Puspitasari

NIM. 061611535013

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 22 Mei 2020

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si.

Sekretaris : Faisal Fikri, drh., M. Vet.

Anggota : Prima Ayu Wibawati, drh., M. Si.

Pembimbing Utama : Retno Sri Wahjuni, drh., M. S.

Pembimbing Serta : Amung Logam Saputro, drh., M.Si.

Telah diuji pada

Tanggal : 28 Mei 2020

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Iwan Syahril Hamid, drh., M.Si

Anggota : Faisal Fikri, drh., M.Vet

Prima Ayu Wibawati, drh., M.Si

Retno Sri Wahjuni, drh., M.S

Amung Logam Saputro, drh., M.Si

Banyuwangi, 28 Mei 2020

Fakultas Kedokteran Hewan

PSDKU Universitas Airlangga

Dekan,



RINGKASAN

Nyeri merupakan gejala dari sensori, emosi dan juga kognitif yang biasanya sering berhubungan dengan kerusakan jaringan. Obat yang bisa menyembuhkan nyeri biasa disebut analgesik, yaitu bahan atau obat yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Analgesik termasuk dalam golongan *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAIDs) yang dalam jangka panjang penggunaannya dapat mengiritasi saluran cerna, berefek samping pada ginjal, hati, gangguan fungsi trombosit serta penggunaan opiod yang dapat mengakibatkan ketergantungan. Upaya meminimalisasi efek samping aspirin, antara lain: timbulnya keracunan secara akut (terjadi pada pengguna aspirin dengan dosis tunggal yang berlebihan) maupun kronik (pengguna dengan dosis supra *therapeutic* dalam jangka waktu lama) yang hingga menyebabkan kematian, maka diperlukan suatu terapi yang aman untuk menggantikan aspirin. Salah satunya adalah dengan minyak atsiri yang ada pada bunga cengkeh. Bunga cengkeh mengandung eugenol, saponin, tannin, dan flavonoid.

Kandungan utama cengkeh adalah senyawa golongan *fenol* yaitu eugenol. Senyawa eugenol mempunyai salah satu turunan senyawa, yaitu isoeugenol yang dapat dipergunakan sebagai bahan baku obat antiseptik dan analgesik. Hal tersebut mendorong peneliti untuk melakukan sebuah penelitian mengenai uji efektifitas ekstrak bunga cengkeh (*syzygium aromaticum*) sebagai analgesik terhadap reaksi menjilat mencit jantan yang diinduksi formalin.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group*. Sampel yang digunakan yaitu mencit jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 25-30gram Mencit dipilih secara random sederhana kemudian dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan melakukan pengacakan terhadap 20 ekor mencit yang terbagi dalam lima kelompok perlakuan ($t=5$) dan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali ($n=4$).

Mencit diadaptasikan selama 7 hari. Setelah itu mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Sebelum perlakuan mencit dipuasakan selama 12 jam tetapi masih diberi minum, setelah itu mencit jantan diberi perlakuan dengan memberikan CMC Na (K-), aspirin (K+), ekstrak bunga cengkeh 1% (P1), ekstrak bunga cengkeh 2% (P2) dan ekstrak bunga cengkeh 3% (P3). Setelah itu ditunggu 30 menit, selanjutnya diberikan induksi formalin 20 μ l. Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah jilatan pada mencit jantan dari semua kelompok dalam menjilati kaki belakang yang sudah diinduksi formalin. Pengamatan pertama fase I pada menit ke 0-5, dilanjutkan fase II pada menit ke 15-30. Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk detik.

Hasil penelitian menunjukkan perbandingan antara aktivitas analgesik pada kelompok perlakuan. Dari hasil penelitian diketahui bahwa K+, P1, P2, dan P3 memberikan pengaruh terhadap jumlah *licking time* mencit jantan (*Mus musculus. L*) pada fase I dan fase II. ekstrak bunga cengkeh dengan dosis 1%

memiliki dosis yang paling efektif dari kelompok perlakuan lainnya. Hal ini dilihat dari kemampuannya dalam menurunkan jumlah waktu menjilat (*licking time*) pada mencit jantan (*Mus musculus. L*). Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) memiliki efektifitas analgesik terhadap reaksi menjilat Mencit jantan (*Mus musculus. L*) yang diinduksi formalin.

The Effectiveness Test of Clove Flower Extracts (Syzygium aromaticum. L) as An Analgesic Towards Licking Time of Male Mice (Mus musculus. L) that Induced by Formalin

Vina Puspitasari

ABSTRACT

This study is about testing the effectiveness of clove flower extract (*Syzygium aromaticum*) as an analgesic against the beating time induced by formalin male rats. The study was experimental with randomization for 20 rats divided into five treatment groups ($t = 5$) and repeated four times ($n = 4$). Data were analyzed using ANAVA factorial test Then followed by Duncan test. All tests are carried out with Product Solutions and Service Statistics (SPSS). The results of research and statistical analysis prove that clove flower extract (*Syzygium aromaticum. L*) with a dose of 1% is an effective dose compared to other treatment groups, seen from the amount of time licking male rats (*Mus musculus. L*) which is smaller than other treatment groups . It can be concluded that the results of the study and the results of statistical analysis prove that the most effective dose is at a dose of 1%, which can reduce the licking time of male mice (*Mus musculus. L*). It can be concluded that the administration of clove flower extract (*Syzygium aromaticum. L*) has analgesic effectiveness against the reaction of male mice (*Mus musculus. L*) induced by formalin.

Keywords: *Eugenol, Analgesics, Licking Time.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rakhmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul: **Uji Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum. L*) sebagai Analgesik Terhadap Reaksi Menjilat Mencit Jantan (*Mus Musculus. L*) yang Diinduksi Formalin.**

Terima kasih yang tak terhingga, penulis sampaikan kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penyusunan skripsi ini, terutama kepada:

1. Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta jajarannya atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M.Si. selaku Koordinator Program Studi S1 Kedokteran Hewan PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi.
3. Retno Sri Wahjuni, drh., M.S. selaku pembimbing utama dan Amung Logam Saputro, drh., M.Si. selaku pembimbing yang telah banyak membimbing penulis selama menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M.Si. selaku ketua penguji, Faisal Fikri, drh., M.Vet. selaku sekretaris penguji dan Prima Ayu Wibawati, drh., M.Si. selaku anggota penguji yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi.

5. Bodhi Agustono, drh., M.Si. selaku dosen wali yang telah banyak memberi nasehat, arahan, motivasi, dan dukungan selama proses perkuliahan, maupun penulisan skripsi.
6. Seluruh dosen pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi yang telah memberikan ilmu serta wawasan kepada penulis.
7. Seluruh staf administrasi PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi yang telah banyak memberi bantuan selama penulis menempuh pendidikan di PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi.
8. Kedua orang tua penulis, Bapak Alm. Drs. Edy Muhartoyo dan Ibu Jematun yang telah memberikan kasih sayang serta cinta yang tak terbatas. Doa yang dipanjatkan tiada terputus untuk anak-anaknya serta terima kasih juga untuk kakak penulis Dani Kurniawan yang selalu memberikan dukungan.
9. Terimakasih kepada rekan-rekan yang sudah membantu penelitian: Zehansyah Alghifari Pasha, dan Tisya Yumn Al-Zuhroh atas waktu dan dukungan dalam kelancaran penelitian ini. Arif Noer Achmadi Jatmiko yang memberikan dukungan moril. Sahabatku Novi Fitria Hanifah, Arny Gusniar Saputri, Brillia Yulianti dan Virgy Dzakina Fahrezy. Saudaraku Elephas PSDKU Universitas Airlangga di Banyuwangi serta banyak pihak yang berpengaruh dalam proses penulisan skripsi yang tidak disebut satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Untuk itu segala kritik dan saran yang membangun selalu penulis harapkan. Selanjutnya, penulis berharap penelitian ini mampu memberikan manfaat kepada semua pihak, khususnya demi kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Hewan. Terima kasih.

Banyuwangi, 27 April 2020



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
RINGKASAN.....	iv
ABSTRACT	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Landasan Teori.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
1.5.1 Manfaat Teoritis	6
1.5.2 Manfaat Praktis	6
1.6 Hipotesis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Deskripsi Tumbuhan Cengkeh	7
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Cengkeh	7
2.1.2 Nama Lain Cengkeh	8
2.1.3 Deskripsi Tanaman Cengkeh	8
2.1.4 Habitat.....	9
2.1.5 Zat Aktif dari Bunga Cengkeh	10
2.2 Nyeri	12

2.3 Mekanisme Nyeri	14
2.4 Mekanisme Kerja Eugenol terhadap Nyeri	15
2.5 Analgesik	16
2.5.1 Definisi Aspirin	17
2.5.1.1 Mekanisme Kerja Aspirin.....	18
2.5.1.2 Farmakokinetik Aspirin.....	19
2.5.2 Uji Refleks Menjilat Kaki (<i>Licking Test</i>).....	19
2.6 Kerangka Konseptual.....	21
BAB 3 MATERI DAN METODE	22
3.1 Rancangan Penelitian.....	22
3.2 Sampel dan Besar Sampel.....	22
3.2.1 Sampel Penelitian	22
3.2.2 Besar Sampel Penelitian	22
3.3 Variabel yang Diamati	23
3.3.1 Variabel Bebas	23
3.3.2 Variabel Terikat.....	24
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.4 Definisi Operasional Variabel	24
3.4.1 Ekstrak Bunga Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)	24
3.4.2 Induksi Formalin	24
3.4.3 <i>Licking Time</i>	24
3.5 Tempat Tanggal dan Waktu	25
3.6 Bahan dan Materi Penelitian	25
3.6.1 Bahan Penelitian.....	25
3.6.2 Alat Penelitian	26
3.7 Prosedur Penelitian	26
3.7.1 Uji Etika Medik	26
3.7.2 Persiapan Hewan Coba	26
3.7.3 Persiapan Bahan	27
3.7.4 Pembuatan Sediaan Ekstrak	27
3.7.5 Konsentrasi Ekstrak Bunga Cengkeh	28

3.7.6 Perubahan yang Diamati	28
3.7.7 Perhitungan <i>Licking Time</i>	28
3.8 Analisis Data	29
3.9 Alur Penelitian.....	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	31
BAB 5 PEMBAHASAN	34
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	37
6.1 Kesimpulan	37
6.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bunga Cengkeh	9
Gambar 2.2	Struktur Kimia Eugenol.....	11
Gambar 2.3	Struktur Aspirin atau Asam Asetil Salisilat	18
Gambar 2.4	Kerangka Konseptual Penelitian	21
Gambar 3.1	Alur Penelitian	30
Gambar 4.1	Grafik Rerata <i>Licking Time</i> Pada Mencit Jantan (<i>Mus musculus. L</i>) Fase I dan II	31
Gambar 4.2	Diagram batang jumlah <i>Licking Time</i> setiap kelompok perlakuan	32

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Parameter Mutu Minyak Atsiri Bunga Cengkeh	11
Tabel 4.1 Rerata dan Standart jumlah <i>Licking Time</i> setiap Kelompok Perlakuan.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Langkah Pembuatan Ekstrak Bunga Cengkeh	45
Lampiran 2	Alat dan Bahan Uji Coba	46
Lampiran 3	Surat keterangan Hewan Coba	47
Lampiran 4	Kelayakan Etical Clereance	47
Lampiran 5	Dosis	48
Lampiran 6	Preparasi Hewan Coba.....	49
Lampiran 7	Hasil <i>Licking Time</i>	50
Lampiran 8	Hasil Analisis Data.....	51

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Δ = delta

μ = mu

μL = Microliter

κ = kappa

AINS = Antipiretik serta Inflamasi Nonsteroid

AAS = Asam Asetil Salisilat

Aspirin = asam asetilsalisilat

CMC = *carbocymethyl cellulose*

COX = *cyclooxygenase*

COX-2 = cyclooxygenase II

C_6H_{14} = hidrokarbon alkane

HIV = Human Immunodeficiency Virus

H₂ = histamine 2

IL-1 β = Interleukin-1 Beta

IL-5 = Interleukin-5

IL-5R = Interleukin- 5 Receptor

IL-6 = Interleukin 6

K^+ = Kalium

NGF = *Nerve growth factor*

NSAIDs = *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs*

PGE_2 = prostaglandin E₂

PGI_2 = *Prostacyclin*

SPSS = *Statistical Product and Service Solutions*

TXA_2 = *Thromboxane A₂*

5-HT = Serotonin

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri merupakan gejala dari sensori, emosi dan juga kognitif yang biasanya sering berhubungan dengan kerusakan jaringan (Ardinata, 2007). Nyeri berfungsi sebagai peringatan ataupun pelindung utama secara alamiah terhadap suatu rangsangan, tetapi memberikan rasa yang tidak nyaman seperti ketakutan, berkeringat, mual dan palpitasi (Ezeja, *et. al.*, 2011).

Nyeri dapat diklasifikasikan menjadi nyeri akut dan nyeri kronik berdasarkan lama nyerinya. Nyeri yang durasinya sampai 7 hari yang terjadi secara mendadak disebut nyeri akut. Nyeri kronik adalah nyeri yang durasinya lebih dari 7 hari, bisa berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun (Ikawati, 2011). Obat yang bisa menyembuhkan nyeri disebut analgesik, analgesik adalah bahan atau obat yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (Sumardjo, 2009).

Menurut Wilmana dan Gunawan (2012), analgesik merupakan senyawa yang dapat menekan fungsi saraf pusat secara selektif, digunakan untuk mengurangi rasa sakit tanpa menghilangkan kesadaran. Analgesik termasuk dalam golongan *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) bekerja menghambat enzim *siklooksigenase* (COX). NSAID termasuk dalam kelompok obat yang paling sering diresepkan untuk pengobatan. Umumnya, NSAID menurunkan sensitivitas pembuluh darah terhadap bradikinin dan histamin, mempengaruhi produksi limfokin dari limfosit T, dan melawan vasodilatasi yang terjadi saat inflamasi. NSAID bersifat analgesik, antiinflamasi, dan hampir semua

menghambat agregasi platelet. Kebanyakan NSAID juga bersifat mengiritasi lambung, nefrotoksik (karena penghambatan terhadap prostaglandin yang berperan dalam autoregulasi aliran darah ginjal), dan hepatotoksik (Katzung, Masters, dan Trevor, 2012).

Analgesik yang sering digunakan saat ini adalah aspirin. Menurut Paikin and Eikelboom (2012) aspirin dilaporkan sering menimbulkan keracunan hingga kematian. Keracunan aspirin bisa terjadi secara akut maupun kronik. Keracunan akut terjadi pada pengguna aspirin dengan dosis tunggal yang berlebihan, sedangkan keracunan kronik yang terjadi pada pengguna dengan dosis *supra therapeutic* dalam jangka waktu lama.

Berkaitan dengan adanya efek samping dari aspirin, maka diperlukan upaya untuk meminimalisasinya. Salah satunya adalah melakukan suatu terapi yang aman untuk menggantikan aspirin dengan minyak atsiri yang ada pada bunga cengkeh. Bunga cengkeh mengandung eugenol, saponin, tannin, dan flavonoid (Fatimatuazzahroh, dkk. 2015). Kandungan minyak atsiri di dalam bunga cengkeh mencapai 21,3% dengan kadar eugenol 78-95%, pada tangkai atau gagang bunga cengkeh kandungan minyak atsiri mencapai 6% dengan kadar eugenol 89-95%, dan dari daun cengkeh kandungan minyak atsiri mencapai 2-3% dengan kadar eugenol antara 80-85% (Hadi, 2012). Senyawa eugenol mempunyai aktivitas farmakologi sebagai analgesik, antiinflamasi, antimikroba, *stimulant*, dan anestetik lokal sehingga senyawa ini banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi (Pramod *et al.*, 2010). Kandungan utamanya cengkeh adalah senyawa golongan *fenol* yaitu eugenol. Senyawa eugenol mempunyai salah satu turunan senyawa,

yaitu isoeugenol yang dapat dipergunakan sebagai bahan baku obat antiseptik dan analgesik (Sharma *et al.*, 2006). Kinerja dari eugenol dalam menghambat nyeri dengan cara memblokir jalur enzim *siklooksigenase* sehingga produksi prostaglandin menurun (Xiaojun, *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian di atas mendorong peneliti untuk melakukan sebuah penelitian mengenai Uji Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) sebagai Analgesik Terhadap Reaksi Menjilat mencit jantan (*Mus musculus*, *L*) yang Diinduksi formalin.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki efektifitas sebagai analgesik terhadap reaksi menjilat mencit jantan (*Mus musculus*, *L*) yang diinduksi formalin?

1.3 Landasan Teori

Nyeri adalah suatu kondisi yang tidak nyaman dan menyiksa bagi penderitanya, namun terkadang nyeri digunakan sebagai tanda adanya kerusakan jaringan pada tubuh. Inflamasi merupakan manifestasi dari kerusakan jaringan, dimana salah satu gejalanya yaitu nyeri (Esvandiary, 2006). Nyeri berfungsi sebagai tanda peringatan atau perlindungan utama secara alamiah terhadap rangsangan, namun memberi dampak rasa ketidaknyamanan yang besar seperti berkeringat, ketakutan, mual dan palpitasi (Ezeja, 2011).

Terapi nyeri yang biasa digunakan yakni dengan pemberian aspirin sebagai obat analgesik golongan NSAID. Aspirin merupakan obat analgesik dan anti

inflamasi untuk mengobati nyeri dengan intensitas ringan sampai sedang. Aspirin juga merupakan ukuran standar bagi semua agen-agen analgesik dan anti inflamasi dalam sebuah penelitian (Syarif, 2012). Penggunaan aspirin mempunyai efek samping seperti gangguan lambung (intoleransi) dan ulkus lambung serta duodenum, hepatotoksisitas, asma, penurunan fungsi ginjal dan perdarahan. Kebanyakan NSAID juga bersifat mengiritasi lambung, nefrotoksik dan hepatotoksik (Katzung, Masters, dan Trevor, 2012).

Upaya untuk meminimalisasi efek samping dari aspirin dapat dilakukan melalui penggantian aspirin dengan ekstrak daun cengkeh. Bunga cengkeh mengandung eugenol (Fatimatuazzahroh, dkk. 2015). Senyawa eugenol merupakan komponen utama yang terkandung dalam minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan kandungan mencapai 70-96%. Senyawa eugenol didalamnya terkandung beberapa gugus fungsional, yaitu alil ($-\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$), fenol (OH) dan metoksi ($-\text{OCH}_3$) (Towaha, 2012).

Kandungan utamanya cengkeh adalah senyawa golongan *fenol* yaitu eugenol. Senyawa eugenol mempunyai salah satu turunan senyawa, yaitu isoeugenol yang dapat dipergunakan sebagai bahan baku obat antiseptik dan analgesik (Sharma *et al.*, 2006). Kinerja dari eugenol dalam menghambat nyeri dengan cara memblokir jalur enzim *siklooksigenase* sehingga produksi prostaglandin menurun (Xiaojun, *et al.*, 2014). Senyawa eugenol mempunyai aktivitas farmakologi sebagai analgesik, antiinflamasi, antimikroba, *stimulant*, dan anestetik lokal sehingga senyawa ini banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi (Pramod *et al.*, 2010).

Penelitian pendahulu tanaman cengkeh khususnya bagian bunganya sudah banyak diteliti. Penelitian yang dilakukan Putra (2013) tentang efek analgesik bunga cengkeh untuk induksi nyeri menggunakan asam asetat yang diberikan secara intraperitoneal membuktikan bahwa bunga cengkeh terbukti memiliki efek analgesik ditandai dengan menurunnya jumlah geliat tikus, dimana semakin tinggi dosis ekstrak bunga cengkeh, semakin sedikit geliat tikus.

Penelitian lainnya adalah tentang ekstrak bunga cengkeh sebagai penyembuhan luka (Fatimatuzzhroh, 2015), ekstrak bunga cengkeh sebagai stimulansia (Anas, 2012), ekstrak bunga cengkeh sebagai anti inflamasi dan analgesik (Khalilzadeh, 2014), minyak bunga cengkeh sebagai antimikroba (Aneja dan Joshi, 2010). Bagian daun kurang dimaksimalkan daya gunanya dalam bidang kesehatan, namun ada penelitian mengenai ekstrak daun cengkeh sebagai histopatologik pada tikus wistar (Sidabutar, 2016). Penelitian tentang nyeri yang digunakan pada hewan coba seperti mencit atau tikus untuk meniru kondisi klinis manusia. Induksi nyeri dilakukan dengan menginjeksikan formalin pada kaki kanan belakang pada hewan coba. Respon nyeri ditunjukkan dengan gerakan menjilat kaki kemudian diukur sebagai *licking time* (Laily, dkk., 2016).

Berdasarkan uraian di atas serta beberapa penelitian terdahulu, mendorong keinginan peneliti untuk melakukan penelitian mengenai potensi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) sebagai analgesik terhadap reaksi menjilat (*licking time*) mencit jantan (*Mus musculus. L*) yang diinduksi formalin.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah : Mengetahui efektifitas ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum, L*) sebagai analgesik terhadap reaksi menjilat mencit jantan (*Mus musculus, L*) yang diinduksi formalin.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis:

- a. Memberi dasar ilmiah tentang penggunaan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum, L*) sebagai analgesik.
- b. Memberikan informasi kepada masyarakat dan membuat terobosan baru tentang pikiran ilmiah di bidang farmasi tentang efektifitas ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum, L*) sebagai analgesik.

1.5.2 Manfaat Praktis:

Menambah pengetahuan dalam rangka pemanfaatan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum, L*) sebagai analgesik.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah: Pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) memiliki efektifitas analgesik terhadap reaksi menjilat Mencit jantan (*Mus musculus. L*) yang diinduksi formalin.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tumbuhan Cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*)

Thomas (2007) mengatakan bahwa cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) mampu hidup sampai puluhan tahun bahkan sampai ratusan tahun, tinggi pohon cengkeh dapat mencapai 20-30 meter dan cabang-cabangnya yang banyak.

Cengkeh mulai berbunga pada umur 4,5-8,5 tahun bergantung pada jenis cengkeh dan kondisi lingkungan. Warna bunga mula-mula hijau muda, kemudian kuning pucat dan akhirnya merah. Bunga cengkeh kering akan berwarna coklat kehitaman dan berasa pedas karena mengandung minyak atsiri (Khansa dkk. 2019).

Bunga cengkeh tumbuh pada ujung ranting daun, tangkainya pendek dan bercabang. Bunga cengkeh merupakan bunga majemuk karena ujung ibu tangkainya selalu ditutup bunga. Bunga cengkeh terdiri dari tangkai, ibu tangkai dan dasar bunga. Bunga cengkeh adalah bunga tunggal. Kucup bunga yang pada awalnya berwarna pucat dan secara bertahap menjadi hijau, dan setelah itu akan berkembang menjadi merah terang, ini waktu yang tepat untuk dipetik. Kelopak bunga berbentuk bintang dengan panjang 4-5 mm, benang sari banyak, panjangnya ± 5 mm, tangkai putik pendek, saat masih muda bewarna hijau dan setelah tua akan bewarna merah (Aspan, 2008).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Cengkeh

Menurut Rajhsekar, *et al.* (2012), tanaman cengkeh diklasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Familiy	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Spesies	: <i>S. aromaticum</i> <i>Syzygium aromaticum (L) Merr. & Perry</i>

2.1.2 Nama Lain Cengkeh

Cengkeh dikenal dengan berbagai macam istilah di beberapa daerah, seperti: Cengkeh (Lampung), Cengkeh (Melayu), Cengkeh (Sunda), Cengkeh (Jawa), Cengkeh (Bali), Cengke (Madura), Cangke (Makasar), Cenke (Bugis), Cangke (Bima), Cangke (Dayak Ngaju), Singke (Flores), Bunga cengkeh (Minangkabau), Beungue lawing (cayo), Bunga lawang (Batak), Singhe (Karo), Bunga lasang (Toba), Bunga rawan (Sangir), Pungo lawan (Gorontalo), Bungo Lango (Buol), Poirawane (Seram), Balawala (Ternate), Gomode (Tidore) (Aspan, 2008).

2.1.3 Deskripsi Tanaman Cengkeh

Tanaman cengkeh mempunyai daun tunggal, berhadapan, berbentuk lonjong dengan ujung dan pangkal runcing dan tepinya rata. Pertulangan daun menyirip sedangkan permukaan atas terlihat mengkilap. Panjang daun cengkeh 6-13 cm dan lebarnya 2,5-5 cm. panjang tangkai 1-2 cm, daun cengkeh pada saat masih muda akan bewarna merah dan setelah tua bewarna hijau (Aspan, 2008). Daun cengkeh ini termasuk daun majemuk karena dalam satu ibu tangkai terdapat lebih dari satu daun.

Bunga cengkeh tumbuh pada ujung ranting daun, tangkainya pendek dan bercabang. Bunga cengkeh merupakan bunga majemuk karena ujung ibu tangkainya selalu ditutup bunga. Bunga cengkeh terdiri dari tangkai, ibu tangkai dan dasar bunga. Bunga cengkeh adalah bunga tunggal. Kucup bunga yang pada awalnya berwarna pucat dan secara bertahap menjadi hijau, dan setelah itu akan berkembang menjadi merah terang, ini waktu yang tepat untuk dipetik. Kelopak bunga berbentuk bintang dengan panjang 4-5 mm, benang sari banyak, panjangnya ± 5 mm, tangkai putik pendek, saat masih muda berwarna hijau dan setelah tua akan berwarna merah. (Aspan. 2008).



Gambar 2.1 Bunga Cengkeh (Aspan, 2008)

2.1.4 Habitat

Pohon cengkeh tumbuh dengan baik di iklim tropis dengan kondisi tanah liat yang lembab dan dapat tumbuh dengan baik di tanah merah serta di daerah perbukitan. Iklim yang lebih dingin dengan curah hujan yang lebih tinggi sangat ideal untuk tanaman ini tumbuh subur. Budidaya tanaman cengkeh membutuhkan drainase yang baik, agar tanaman tidak dapat menahan air berlebihan (Milind *et al.*, 2011).

2.1.5 Zat Aktif dari Bunga Cengkeh

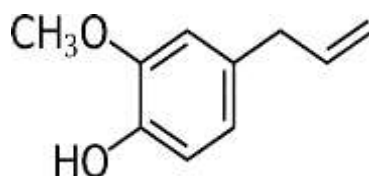
Menurut Prianto dkk (2013) semua bagian tanaman cengkeh mengandung minyak atsiri tetapi kandungan tertinggi terdapat pada bunganya. (Diego *et al.*, 2014) menjelaskan bahwa letak minyak atsiri pada bunga cengkeh yaitu pada sel epidermis atas dan bawah dari daun mahkota dan daun kelopak. Sel epidermis tersebut terdapat kelenjar minyak skizolisigen yang mengandung minyak atsiri.

Tanaman cengkeh mengandung rendemen minyak atsiri dengan jumlah cukup besar, baik dalam bunga (10-20%), tangkai (5-10%) maupun daun (1-4%) (Nurdjannah, 2007). Minyak atsiri dari bunga cengkeh memiliki kualitas terbaik karena hasil rendemennya tinggi dan mengandung eugenol mencapai 80–90%.

Kandungan minyak atsiri bunga cengkeh didominasi oleh eugenol dengan komposisi eugenol (81,20%), trans- β -kariofilen (3,92%), α -humulene (0,45%), eugenol asetat (12,43%), kariofilen oksida (0,25%) dan trimetoksi asetofenon (0,53%) Prianto dkk. (2013).

Eugenol adalah sebuah ikatan allyl ($C_{10}H_{12}O_2$) atau nama lainnya adalah 2-methoxy-4-(2-propenyl) phenol dan merupakan anggota dari Allyl benzene. Eugenol reaktif terhadap basa kuat NaOH dan KOH. Eugenol berupa zat cair berbentuk minyak tidak berwarna dan sedikit kekuning-kuningan. Eugenol dapat larut dalam eter, klorofom, alcohol dan sedikit larut dalam air, berbau tajam minyak cengkeh, berasa membakar dan panas di kulit. Eugenol memiliki titik didih $256^{\circ}C$ titik leleh $-9^{\circ}C$, titik nyala $104^{\circ}C$, tekanan uap 10 mmHg pada $123^{\circ}C$, densitas 1,064 – 1,068 g/ml, berat molekul 164,20 g/mol dan indeks bias 1,541

pada 20°C. widayat dkk. (2012). Struktur kimia eugenol ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur Kimia Eugenol
(Iswari, 2007)

Mutu minyak atsiri pada bunga cengkeh didasarkan atas kriteria yang dituangkan di dalam standar mutu (Tabel 2.1). Standar mutu mencantumkan kandungan-kandungan yang terdapat di dalam minyak atsiri, sifat-sifat tersebut bukan merupakan hal yang ditambahkan atau dibuat, tetapi kandungan yang asli dimiliki oleh setiap jenis minyak atsiri. Sifat fisik yang ada dapat digunakan untuk mengetahui keaslian minyak atsiri tersebut.

Tabel 2.1 Parameter Mutu Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (Sumber: SNI 06-2387-2006)

No	Parameter Mutu	Persyaratan
1	Warna	Tak berwarna - Kuning muda
2	Bau	Khas minyak cengkeh
3	Bobot Jenis 20/20°C	1,025 - 1,049
4	Indeks Bias ($n_{D_{20}}$)	1,528 - 1,535
5	Putaraan Optik	0° - 1°35
6	Kelarutan dalam Etanol 70%	1:2 jernih
7	Eugenol Total (v/v)	Min. 78
8	β -caryophyllene, %, (v/v)	Maks. 17

Sifat kimia minyak atsiri dapat memberikan gambaran secara umum tentang komponen kimia yang terdapat dalam minyak atsiri tersebut. Komponen kimia dapat menentukan kegunaan minyak tersebut.

2.2 Nyeri

Nyeri adalah suatu kondisi yang tidak nyaman dan menyiksa bagi penderitanya, namun terkadang nyeri digunakan sebagai tanda adanya kerusakan jaringan pada tubuh. Inflamasi merupakan manifestasi dari kerusakan jaringan, dimana salah satu gejalanya yaitu nyeri (Esvandiary, 2006).

Nyeri merupakan hasil yang diterima oleh reseptor rasa sakit “reseptor nosiseptor” pada ujung saraf bebas. Saat terjadinya cedera, nyeri yang dirasakan diperantarai oleh serabut myelin A delta, setelah cedera awal. Sinyal tentang terjadinya kerusakan jaringan akan berjalan lambat dengan diperantarai oleh serabut C tak bermielin (Sherwood, 2014). Reseptor nyeri merupakan ujung saraf bebas, yang mana terdapat di kulit dan semua jaringan lainnya. Reseptor ini tersebar luas pada permukaan superfisial kulit dan jaringan dalam tertentu, misalnya yaitu periosteum, dinding arteri, permukaan sendi, dan *falx cerebri* serta tentorium tempurung kepala. Jaringan pada bagian dalam hanya sedikit yang dipersyarafi oleh ujung saraf nyeri, namun apabila terjadi kerusakan yang luas dapat mengakibatkan nyeri jenis lambat, kronis maupun tumpul (Guyton dan Hall, 2012). Nyeri erat berhubungan dengan hasil produksi beberapa bahan kimia dalam tubuh. Bahan kimia tersebut seperti prostaglandin, histamine, bradikinin, serotonin dan kalium ion (Guyton *et al.*, 2012).

Selain itu, menurut (Guyton. 2014). Menyatakan bahwa nyeri dapat disebabkan oleh berbagai jenis rangsangan. Rangsangan ini dapat dikelompokkan sebagai rangsangan nyeri mekanik, suhu, dan kimia. Ada beberapa jenis nyeri yaitu jenis nyeri lambat yang disebabkan oleh ketiga rangsangan tersebut. Substansi

zat kimia sebagai jenis rangsangan kimia yang dapat menyebabkan nyeri adalah bradikinin, serotonin, ion kalium, asam, asetilkolin, dan enzim proleolitik. Selain itu prostaglandin dan substansi P meningkatkan sensitivitas ujung-ujung serabut nyeri. Substansi kimia penting untuk perangsang nyeri lambat, jenis nyeri yang terjadi setelah terjadinya cedera jaringan, yaitu respons nyeri fase pertama (fase neurogenik) yang merupakan jenis rasa nyeri yang menusuk.

Respons nyeri fase pertama selesai, akan terjadi respons nyeri fase kedua (fase inflamasi) yang diakibatkan oleh proses inflamasi. Terjadinya proses inflamasi, jaringan yang rusak akan mengkode sel-sel imun yang memproduksi mediator inflamasi, seperti sitokin, lipid, protease, dan *growth factors*. Mediator tersebut mengaktifkan noniseptor pada saraf perifer sehingga menimbulkan respons nyeri, selama degranulasi. Sel mast menghasilkan interleukin 5 (IL-5), serotonin (5-HT), histamine dan *nerve growth factor* (NGF). Sel mast bereaksi dengan IL-5R, 5-HT₂, reseptor histamine 2 (H₂), dan neuron noniseptor yang masing-masing menimbulkan respons nyeri. Neuron noniseptor juga di sensitisasi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF α), IL-1 β , dan IL-6 yang diproduksi oleh sel mast, makrofag, dan neutrophil. Prostaglandin E₂ (PGE₂) yang dihasilkan oleh makrofag dan sel imun innate lainnya juga ikut mengaktifkan neuron noniseptor melalui reseptor PGE₂ 1-4 (Ribiero *et al.*, 2016).

Jenis rangsangan suhu, nyeri akan terasa bila seseorang dirangsang panas dengan suhu diatas 45°C. Suhu 45°C merupakan suhu ketika jaringan mengalami kerusakan akibat panas, jika suhu menetap pada nilai ini akhirnya jaringan akan

rusak. Nyeri yang disebabkan oleh rangsangan panas erat hubungannya dengan kecepatan kerusakan (Guyton *et al.*, 2014)

Komponen nyeri ada 2, yaitu persepsi dan reaksi. Persepsi adalah suatu komponen fisik dari rasa sakit dan melibatkan pesan nyeri dilakukan melalui saraf hingga ke korteks. Korteks somatosensoris otak depan bertanggung jawab pada sensoris-diskriminatif terhadap rangsangan nyeri perifer (contohnya lokasi dan intensitas nyeri). Berbagai daerah otak dalam korteks limbik dan thalamus bertanggung jawab terhadap persepsi komponen motivasi-afektif nyeri. Reaksi adalah komponen psikologis rasa sakit dan melibatkan respon emosional pasien dari rasa sakit. Penurunan ambang nyeri (reaksi yang lebih besar terhadap rasa sakit) dikatakan berhubungan dengan emosional, kecemasan, kelelahan, usia, kebangsaan, jenis kelamin, dan kekhawatiran. Ambang nyeri dapat dibangkitkan oleh tidur, kegiatan, simpati, dan analgesik. (Bruns *et al*, 2010).

2.3 Mekanisme Nyeri

Menurut DiPiro *et al* (2008), proses penghantaran nyeri terdiri atas empat tahap yaitu tranduksi, transmisi, persepsi, dan modulasi. Didukung oleh pendapat beberapa ahli yang lain, tahap-tahap tersebut dapat diuraikan sebagai berikut.

Tranduksi merupakan proses rangsangan yang mengganggu sehingga menyebabkan depolarisasi nosiseptor dan memicu stimulus nyeri (Hartwig & Wilson, 2012). Sensasi nyeri diawali dengan adanya pembebasan reseptor nyeri akibat rangsangan mekanis, panas, dan kimia. Adanya rangsangan tersebut (noxious stimuli) akan menyebabkan lepasnya bradikinin, K^+ , prostaglandin, histamine, leukotriene, dan serotonin. aktivasi dari reseptor menimbulkan aksi

potensial yang ditransmisikan sepanjang serabut saraf aferen menuju sumsum tulang belakang (DiPiro *et al.*, 2008).

Transmisi adalah proses transmisi melibatkan penyaluran implus nyeri dari tempat transduksi melewati saraf perifer hingga ke otak (Hartwig & Wilson, 2012). Transmisi merupakan rangsangan nyeri yang terjadi di serabut aferen As dan C. Serabut saraf aferen tersebut merangsang serabut nyeri di berbagai lamina *spinal cord's dorsal horn* melepaskan berbagai neurotransmitter termasuk glutamate, dan kalsitonin (DiPiro *et al.*, 2008).

Persepsi merupakan titik utama transmisi implus nyeri. Otak akan mengartikan sinyal nyeri dengan batas tertentu, sedangkan fungsi kognitif dan tingkah laku akan memodifikasi nyeri sehingga tidak menimbulkan lebih parah. Relaksasi, pengalihan, meditasi, dan berkhayal dapat mengurangi rasa nyeri. Sebaliknya, perubahan biokimia saraf yang terjadi pada keadaan seperti stress dan depresi dapat memperparah rasa nyeri (DiPiro *et al.*, 2008).

Modulasi yaitu nyeri yang melalui sejumlah proses yang kompleks. Telah diketahui bahwa sistem opiate endogen terdiri atas neurotransmitter-neurotransmitter (seperti dinorfin, enkephalin, dan β -endorfin dan reseptor-reseptor (seperti μ , δ dan κ) yang ditemukan dalam sistem saraf pusat. Opioid endogen berikatan dengan reseptor opioid dan menghantarkan transmisi rangsangan nyeri (DiPiro *et al.*, 2008).

2.4 Mekanisme Kerja Eugenol terhadap Nyeri

Mekanisme eugenol menghambat nyeri yaitu dengan menghambat mediator-mediator inflamasi antara lain *siklooksigenase* dan *lipooksigenase* yang

berhubungan dengan proses nyeri (Seon *et al.*, 2008). Menurut Walton dan Torabinejad (2008) senyawa eugenol secara biologis merupakan bagian yang paling aktif dari semen zinc oxide eugenol, dimana kemampuan eugenol dalam memblokir transmisi impuls syaraf sangat bermanfaat dalam mengurangi rasa nyeri.

Menurut Sadeghian, Seyedi, Saberi, Arghiani, dan Riazi (2008), eugenol (*4-allyl-2-methoxyphenol*) merupakan senyawa alam yang menunjukkan aktivitas sebagai antispasmodik, antipiretik, antibakteri (Ayoola *et al.*, 2008), dan antiinflamasi dengan menghambat pembentukan prostaglandin pada jalur COX-2.

Kinerja eugenol dalam menghambat nyeri yakni dengan memblokir jalur enzim siklooksigenase sehingga produksi prostaglandin menurun (Xiaoujun *et al.*, 2014).

2.5 Analgesik

Analgesik adalah istilah medis yang digunakan untuk suatu bahan yang dapat mengurangi nyeri tanpa menyebabkan hilangnya kesadaran (Dorland, 2012). Analgesik adalah kelompok obat yang memiliki aktivitas untuk mengurangi rasa nyeri. Analgesik diklasifikasi ke dalam analgesik opioid dan non opioid. Analgesik opioid bertindak pada kedua sistem saraf pusat dan perifer sementara analgesik non opioid termasuk obat *Non steroid anti-inflammatory drugs (NSAID)* dan bertindak dengan menghambat sintesis prostaglandin yang merupakan molekul yang terlibat dalam persepsi perifer nyeri. (Mcgettigan *et al.*, 2012).

Obat analgesik yang paling sering diresepkan pada pengobatan modern ini adalah *Non steroid anti-inflammatory drugs (NSAID)*. *NSAID* obat yang sangat

efektif untuk menangani nyeri, demam dan peradangan. *NSAID* dapat dikelompokkan sebagai salisilat dengan aspirin sebagai obat yang terkenal. Asam arylalkanioc dengan anggotanya yaitu *diklofenak*, *indometasin*, *nabumeton*, dan *sulindak*, asam 2-arylpropionic atau *profens* yaitu terdiri dari *ibuprofen*, *flurbiprofen*, *ketoprofen*, dan *naprofen*, asam *fenamic* dengan anggotanya yaitu *asam mefenamat*, *asam meclofenamic*, turunan *pyrazolidine N-arylanthranilik* dengan Fenilbutazon sebagai anggotanya yaitu *oxicams* yang memiliki dua anggota yaitu *piroksikam*, *meloxicam*, serta *sulfonanilides* yang memiliki satu anggota yaitu *nimesulide* (Vonkeman *et al.*, 2010).

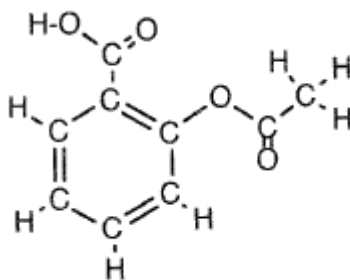
2.5.1 Definisi Aspirin

Obat anti radang bukan steroid atau yang lazim dinamakan *non steroidal anti inflammatory drugs (NSAIDs)* atau anti inflamasi non steroid (OAINS) adalah golongan obat yang bekerja terutama di perifer yang berfungsi sebagai *analgesik* (peredai nyeri), *antipirektik* (penurun panas) dan *antiinflamasi* (anti radang). Obat *asam asetil salisilat (aspirin)* ini mulai digunakan pertama kalinya untuk pengobatan *simptomatis* penyakit-penyakit rematik pada tahun 1899 sebagai obat anti radang bukan steroid sintetik dengan kerja antiradang yang kuat (Dannhardt dan Laufer, 2000).

Obat anti radang bukan steroid diindikasikan pada penyakit rematik yang disertai radang seperti *rheumatoid* dan *osteoarthritis* untuk menekan reaksi peradangan dan meringankan nyeri (Dannhardt dan Laufer, 2000; Crofford, 2000). Dibandingkan dengan obat antiradang bukan steroid yang lain, penggunaan

asam asetil salisilat jauh lebih banyak, bahkan termasuk produk farmasi yang paling banyak digunakan dalam pengobatan.

Obat anti radang nonsteroid (OAINS) menurut Insel (1991) dan Reynolds (1982) dibagi dalam 8 (delapan) golongan yaitu turunan asam salisilat (asam asetil salisilat dan *diflunisal*), turunan *pirazolon* (*fenilbutazon*, *oksifenbutazon*, *antipirin* dan *arninopirin*), turunan *paraaminofenol* (*fenasetin*), *Indometasin* (*indometasin* dan *sulindak*), turunan asam *propionat* (*ibuprofen*, *naproksen*, *fenoprofen*, *ketoprofen* dan *flurbiprofen*), turunan asam antranilat (asam *flufenamat* dan asam *mafenamat*), obat antiradang yang tidak mempunyai penggolongan tertentu (*tolmetin*, *piroksikam*, *diklofenak*, *etodolak*, *nebumeton*, senyawa emas) dan obat *pirro* (*gout*), *kolkisin*, *alopurinol*. Asam asetil salisilat (AAS) yang lebih dikenal sebagai asetosal adalah *analgetik*, *antipiretik* dan *antiinflamasi* yang sangat luas digunakan dan digolongkan dalam obat bebas.



Gambar 2.3 Struktur Aspirin atau Asam Asetil Salisilat
(Kauffman, 2000)

2.5.1.1 Mekanisme Kerja Aspirin

Pemberian oral, sebagian salisilat diabsorpsi dengan daya absorpsi 70% dalam bentuk utuh dalam lambung, tetapi sebagian besar absorpsi terjadi dalam usus halus bagian atas. Sebagian AAS dihidrolisa, kemudian didistribusikan ke

seluruh tubuh. Salisilat segera menyebar ke seluruh tubuh dan cairan transeluler setelah diabsorpsi. Kecepatan absorpsi tergantung dari kecepatan disintegrasi dan disolusi tablet, pH permukaan mukosa dan waktu pengosongan lambung. Salisilat dapat ditemukan dalam cairan sinovial, cairan spinal, liur dan air susu. Kadar tertinggi dicapai kira-kira 2 jam setelah pemberian (Wimana, 1995). Sediaan OAINS memiliki aktivitas penghambat radang dengan mekanisme kerja menghambat biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat melalui penghambatan aktivitas enzim *siklooksigenase* (Nadi, 1992).

2.5.1.2 Farmakokinetik Aspirin

Asam asetil salisilat yang lebih dikenal sebagai asetosal atau aspirin adalah analgesik, antipiretik, dan anti-inflamasi yang banyak digunakan sebagai golongan obat bebas (Wilmana, 1995). Dosis oral aspirin untuk memperoleh efek analgesik dan antipiretik pada manusia adalah 325 – 650 mg empat kali sehari, konsentrasi dalam plasmanya 100 – 300 mcg/ml. Untuk memperoleh efek antiinflamasi adalah 4 – 6 gram secara oral per hari, dan untuk mendapatkan efek anti agregasi platelet adalah 60 – 80 mg secara oral per hari (Mycek *et al.*, 2001).

2.5.2 Uji Refleks Menjilat Kaki (*Licking Test*)

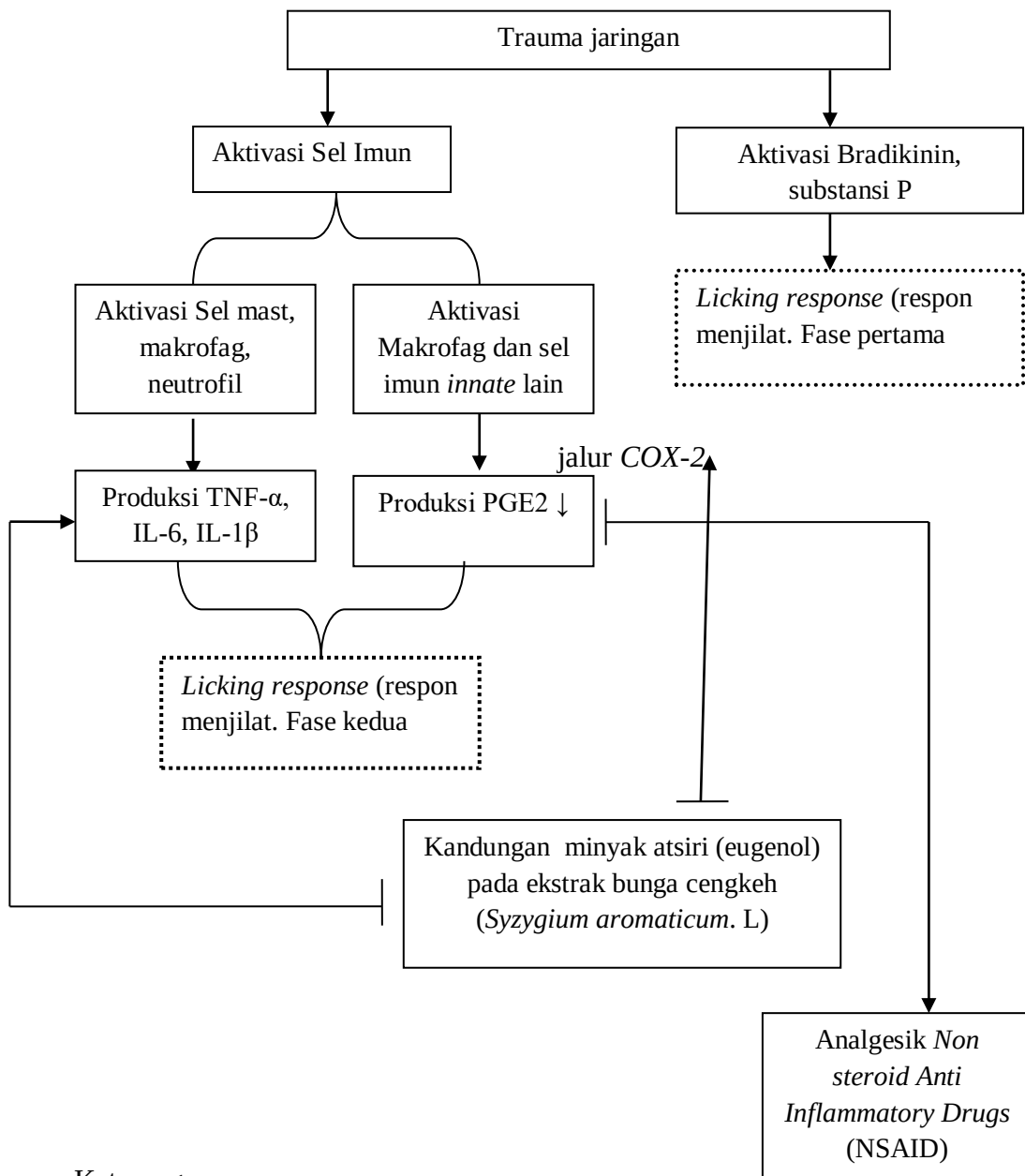
Metode ini merupakan metode yang lebih valid untuk menguji nyeri klinik dibandingkan dengan sebagian besar nosiseptif lainnya, seperti uji *Writhing reflex*, *tail flick test* dan *hot-plate test* yang hanya menunjukkan pengalaman nosiseptif jangka pendek. Uji *Writhing reflex* merupakan metode dengan penginduksi nyeri yaitu asam asetat. Sedangkan *tail flick test* merupakan metode pengujian dengan

menggunakan menilai waktu yang dibutuhkan hewan coba untuk menarik ekornya yang diletakkan pada sumber panas. Metode *hot-plate test* merupakan metode yang digunakan untuk melihat efek *licking and jump time* pada hewan yang diletakkan pada *hot plate* dengan suhu 55°. *Licking test* dapat menilai pengalaman nosiseptif dengan jangka panjang, yaitu adaptasi tonik terhadap jaringan yang rusak pada hewan (Fisher *et al.*, 2013).

Formalin adalah larutan solusio dengan konsentrasi 37% formaldehida. Injeksi subkutan dengan formalin encer menimbulkan respons perilaku yang mudah dikenali, seperti menjilat atau menggigit kaki yang diinduksi formalin. Respon tersebut bersifat bifasik dengan durasi yang sesuai dengan test nosiseptif, yaitu sekitar 1 jam (Fisher *et al.*, 2013).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa injeksi formalin yang baik dilakukan pada kaki belang. Perilaku mencit jantan pada kondisi normal yaitu jarang menjilat kaki belakang, sehingga respon noniseptif pada kaki belakang lebih spesifik dibandingkan dengan respon pada kaki depan. Beberapa peneliti sudah pernah melakukan injeksi formalin dengan cara yang berbeda-beda, namun cara injeksi yang paling banyak dilakukan adalah secara subcutan (Fischer *et al.*, 2013).

2.6 Kerangka Konseptual



Keterangan:

- : arah hubungan, mempengaruhi
- : Variabel yang mempengaruhi
- : Variabel yang diamati

Gambar 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang uji efektivitas ekstrak bunga cengkeh sebagai analgesik ini merupakan jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design*. Mencit dipilih secara random sederhana kemudian dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberi ekstrak bunga cengkeh dengan beberapa konsentrasi kemudian dihitung jumlah menjilatnya, sedangkan untuk kelompok kontrol diberi perlakuan dengan menambahkan aspirin pada kontrol positif, dan untuk kontrol negatif diberi perlakuan dengan menambahkan CMC Na.

3.2 Sampel dan Besar Sampel

3.2.1 Sampel Penelitian

Sampel penelitian menggunakan hewan percobaan yaitu mencit jantan (*Mus musculus. L*), dengan kriteria seperti mencit berjenis kelamin jantan, mencit dalam keadaan sehat usia 2-3 bulan dengan berat 25-30 gram. Mencit dipelihara di kandang kelompok, serta diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

3.2.2 Besar Sampel Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan melakukan pengacakan terhadap 20 ekor mencit yang terbagi dalam lima kelompok perlakuan ($t=5$) dan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali ($n=4$).

Menurut Kusrieningrum (2010), untuk penelitian eksperimental, besar sampel dapat ditentukan berdasarkan jumlah ulangan atau replikasi dengan rumus, sebagai berikut:

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t = Treatment/perlakuan

n = Replikasi/ulangan

sehingga didapatkan jumlah hewan coba yang digunakan sebanyak 20 ekor mencit jantan (*Mus musculus. L*) dengan lima perlakuan dan masing-masing perlakuan berjumlah empat ekor mencit jantan (*Mus musculus*).

Berikut perlakuan yang diberikan:

k- : CMC Na 0.5% 0,2 ml (peroral) + 20 µl formalin 1% (subcutan).

k+ : Aspirin 0,4ml (peroral)+ 20 µl formalin 1% (subcutan).

P1 : ekstrak bunga cengkeh 1% (peroral) + 20 µl formalin 1% (subcutan).

P2 : ekstrak bunga cengkeh 2% (peroral) + 20 µl formalin 1% (subcutan).

P3 : ekstrak bunga cengkeh 3% (peroral) + 20 µl formalin 1% (subcutan).

3.3 Variabel yang Diamati

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) konsentrasi 1%, 2%, dan 3%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya analgesik dari ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) untuk mengurangi rasa nyeri yang melalui *licking time* pada mencit jantan (*Mus musculus. L*) yang diinduksi formalin.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini meliputi informasi mencit jantan (*Mus musculus. L*) yang berkaitan dengan jenis kelamin, pakan, minum, kandang, litter, perawatan, berat badan dan umur.

3.4 Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Ekstrak bunga cengkeh adalah bahan hasil ekstrak bunga cengkeh dengan pelarut *n*-heksana.

3.4.2 Induksi Formalin

Formalin digunakan sebagai penginduksi nyeri diinjeksi secara subkutan pada permukaan kaki/tangan tikus. Jumlah formalin yang diberikan adalah 20µl formalin (konsentrasi 1%) (Wicaksono *et al.*, 2015).

3.4.3 Licking Time

Licking time adalah parameter yang diamati dalam *formalin test*, yaitu akumulasi waktu yang dibutuhkan untuk melihat munculnya respon nyeri pada mencit. Respon nyeri bisa dilihat dari lamanya mencit menjilati kaki atau menggigit kaki pada kaki belakang (Jakaria *et al.*, 2015). Respons dilihat pada fase pertama, fase respons rangsangan direk pada nosiseptor, yaitu 1-5 menit

pertama. Setelah itu, diamati fase kedua, yaitu fase inflamasi akibat produksi mediator pro-inflamasi, yaitu 15-45 menit berikutnya (Fischer *et al.*, 2013). Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk satuan detik (Jakaria *et al.*, 2015).

3.5 Tempat Tanggal dan Waktu

Pelaksanaan penelitian dilakukan mulai Januari 2020 sampai dengan bulan Februari 2020. Pembuatan ekstrak bunga cengkeh dilakukan di Laboratorium di Departemen Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Pakan dan Nutrisi PSDKU Universitas Airlangga Banyuwangi.

3.6 Bahan dan Materi Penelitian

3.6.1 Bahan Penelitian

a. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah 20 mencit jantan (*Mus musculus*, *L*) dengan usia 2-3 bulan dengan berat 25-30 mg, berjenis kelamin jantan, mencit dalam keadaan sehat (aktif bergerak). mencit jantan (*Mus musculus*, *L*) diadaptasikan dengan lingkungannya selama tujuh hari. Hewan coba dikatakan sehat apabila dalam masa adaptasi berat badannya bertambah atau tetap.

b. Bahan penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah bunga cengkeh, *n*-heksana 2000ml, aspirin, formalin, CMC Na (*carbocymethyl cellulose*) 0,5%, spirtus, aquades, pakan mencit.

3.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah glove (Maxter, Indonesia), masker (Sensi, Indonesia), *Autoclave* (Hanshin Medical Co., Ltd., HS-85E, Korea), *syringe 1 cc* (One-Med, Indonesia), wadah toples kaca bertutup, botol kaca, ayakan, kertas saring, sonde lambung, mortal dan stamper, sudip, penjepit, penghitung waktu (stop watch), blender (miyako, Indonesia), timbangan analitik (Ohaus® PA 214), *beaker glass* (pyrex, Japan), gelas ukur (pyrex, Japan), ekstraktor *soxhlet*, *Rotary evaporator*, kandang mencit, alas kandang, tempat pakan dan minum mencit.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Etika Medik

Uji Etika Medik dilakukan sebelum melakukan penelitian sehingga diharapkan tindakan yang dilakukan dapat sesuai *Standards Operasional Procedur* (SOP). Penelitian dengan menggunakan hewan coba harus memenuhi aturan etis untuk meminimalisir jumlah hewan yang digunakan sehingga pada hasil penelitian akan memberikan harapan bahwa intervensi kepada manusia akan memberikan efikasi (Williams, 2005). Uji Etika Medik dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya.

3.7.2 Persiapan Hewan Coba

Mencit jantan (*Mus musculus. L*) berjumlah 20 ekor dimasukkan di kandang mencit. Mencit jantan (*Mus musculus. L*) diadaptasikan terhadap kandang di Laboratorium Pakan dan Nutrisi PSDKU Universitas Airlangga Banyuwangi selama 7 hari. Hewan coba diberi makan dan minum setiap hari

secara *ad libitum*. Setelah itu Mencit jantan (*Mus musculus. L*) dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok yang diberi ekstrak bunga cengkeh 1%, 2% dan 3%.

3.7.3 Persiapan Bahan

Bunga cengkeh (*syzygium aromaticum. L*) ditimbang sebanyak 500 gram. Bunga yang digunakan yaitu bunga yang sudah berwarna merah. Setelah itu bunga cengkeh (*syzygium aromaticum. L*) dikekeringkan di bawah sinar matahari sampai kering. Kemudian bunga cengkeh (*syzygium aromaticum. L*) yang sudah kering dihancurkan hingga halus dengan menggunakan blender. Kemudian hasil bunga cengkeh yang sudah halus diayak dengan saring berdiameter 80 mesh dan menghasilkan serbuk. Simpan serbuk bunga cengkeh didalam wadah tertutup.

3.7.4 Pembuatan Sediaan Ekstrak

Serbuk bunga cengkeh yang sudah halus, ditimbang serbuk bunga cengkeh sebanyak 500 gram. Kemudian serbuk bunga cengkeh direndam dengan pelarutnya selama 3 hari dialat ekstraktor *soxhlet* , setelah 3 hari mulai melakukan ekstraksi dengan kondisi operasi 150-160°C karena titik didih n-heksana 69°C sedangkan titik didih Eugenol 256°C proses ekstraksi kurang dari 24 jam. Hasil rendaman kemudian dilakukan proses penyaringan, proses penyaringan diulang kembali hingga sempurna, filtrat yang terbentuk kemudian disaring satu kali. Untuk memisahkan eugenol dengan pelarutnya. Filtrate diuapkan dibawah konsentrator dengan tekanan menurun dengan alat vakum *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C sampai menghasilkan ekstrak kental.

3.7.5 Konsentrasi ekstrak Bunga Cengkeh

konsentrasi yang aman digunakan pada ekstrak bunga cengkeh ini yaitu 1%, 2%, dan 4%. Ini didukung dengan penelitian Anas *et al.*, (2012), kemudian dosis yang digunakan tersebut pada penelitian ini, mengubah dosis aman menjadi konsentrasi yaitu 1%, 2% dan 3%.

3.7.6 Perubahan yang diamati

Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah waktu menjilat dari semua kelompok mencit jantan pada kaki yang sudah diinduksi formalin. Pengamatan pertama fase I pada menit ke 0-5, dilanjutkan fase II pada menit ke 10-30. Fase pertama disebut dengan fase neurogenic karena nyeri pada fase ini ditimbulkan oleh direk serat saraf sensori akibat diinduksi formalin, sedangkan fase kedua disebut juga fase inflamasi Karena pada nyeri ini muncul akibat mediator-mediator inflamasi. (Chang *et al.*, 2010). Pengambilan data dilakukan oleh 1 orang pengamat setiap mencit.

3.7.7 Perhitungan *Licking Time*

Perhitungan *licking time* menurut (Wicaksono *et al.*, 2015) dapat dihitung % daya analgetiknya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ daya analgetik persisten} = \frac{(tn - tp)}{tn} \times 100\%$$

Keterangan:

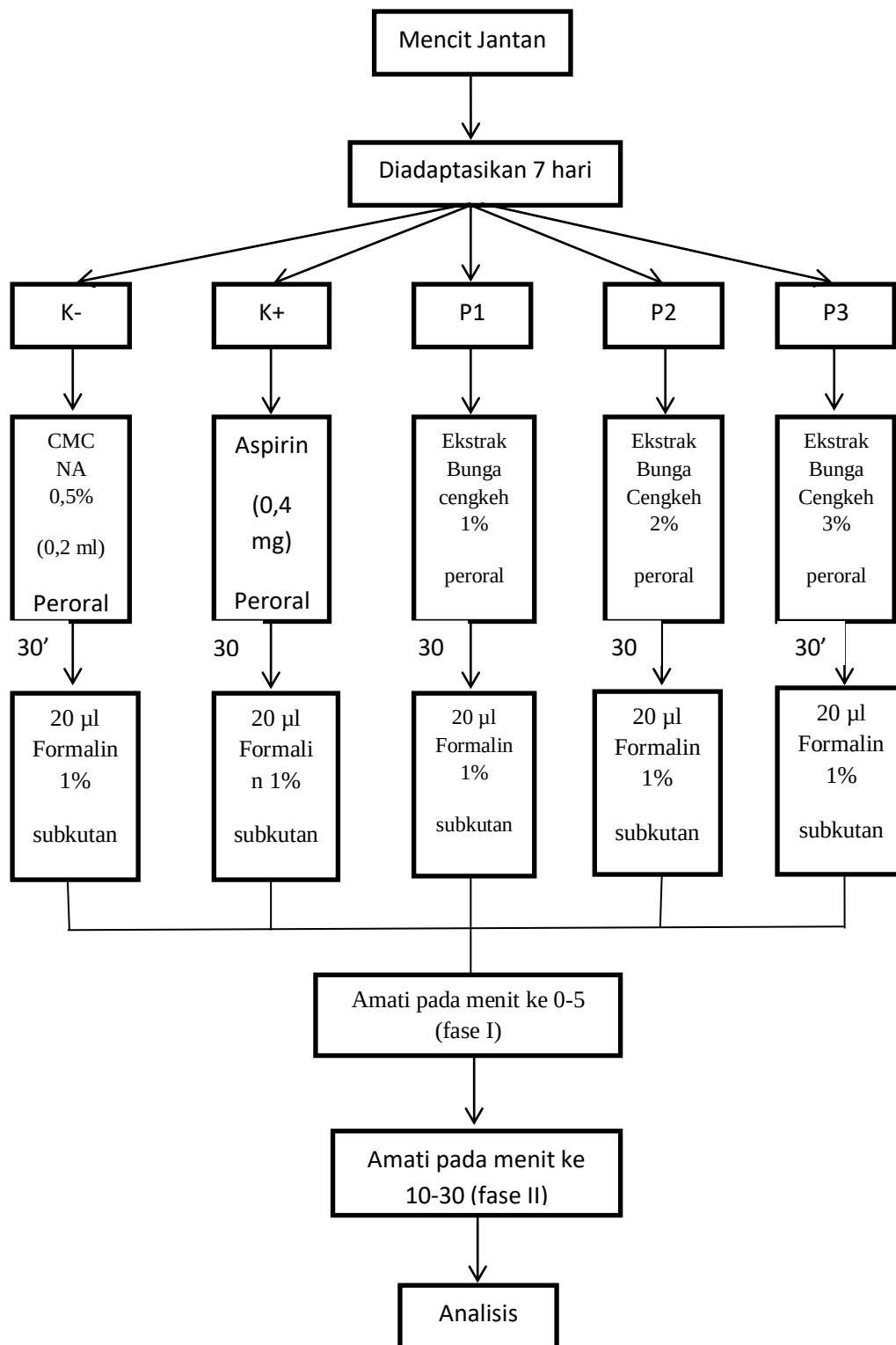
tn = total waktu menjilat kontrol negatif

tp = total waktu menjilat perlakuan

3.8 Analisis Data

Hasil penelitian yang diperoleh dengan pengukuran jumlah menjilat mencit (*Mus musculus. L*). Data yang diperoleh dianalisis uji ANAVA Faktorial. Kemudian dilanjutkan dengan uji jarak *Duncan* untuk membandingkan perlakuan. Semua uji dilakukan dengan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS).

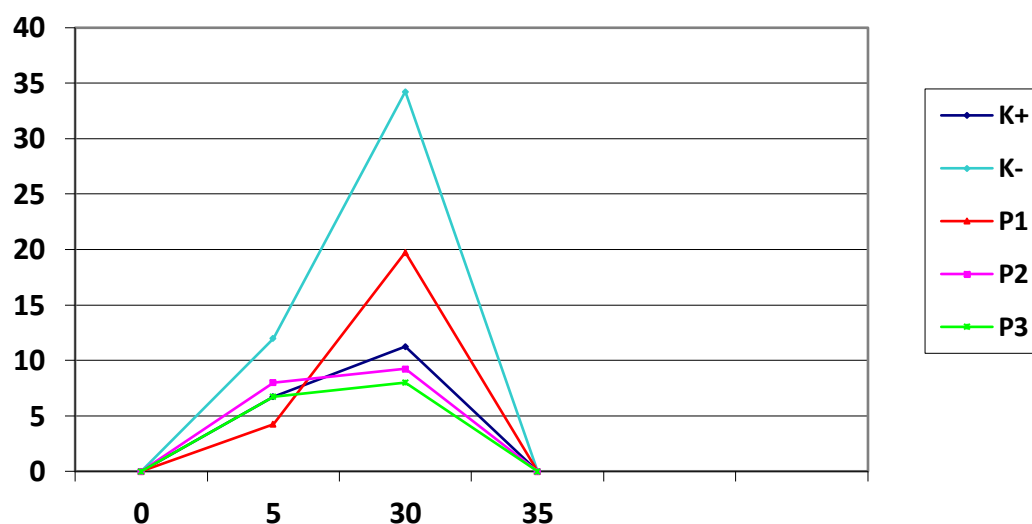
3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Data hasil pengamatan jumlah waktu menjilat mencit jantan (*Mus musculus. L*) setelah diberi perlakuan pada kontrol positif, kontrol negatif, P1, P2, dan P3. Berikut merupakan grafik rerata jumlah Data hasil pengamatan jumlah waktu menjilat mencit jantan (*Mus musculus. L*) pada Fase I dan Fase II dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Rerata *Licking Time* Pada Mencit Jantan (*Mus musculus. L*) Fase I dan II

Jumlah *Licking time* setiap Fase

Analisis statistic menggunakan ANOVA Faktorial, diketahui rerata jumlah hasil *Licking time* menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) untuk setiap fase pengamatan. Namun, hanya terdapat 2 faktor sehingga tidak dapat diketahui adanya interaksi yang sangat signifikan setiap fase terhadap rerata jumlah *licking time* dan tidak dapat dilanjutkan uji Duncan

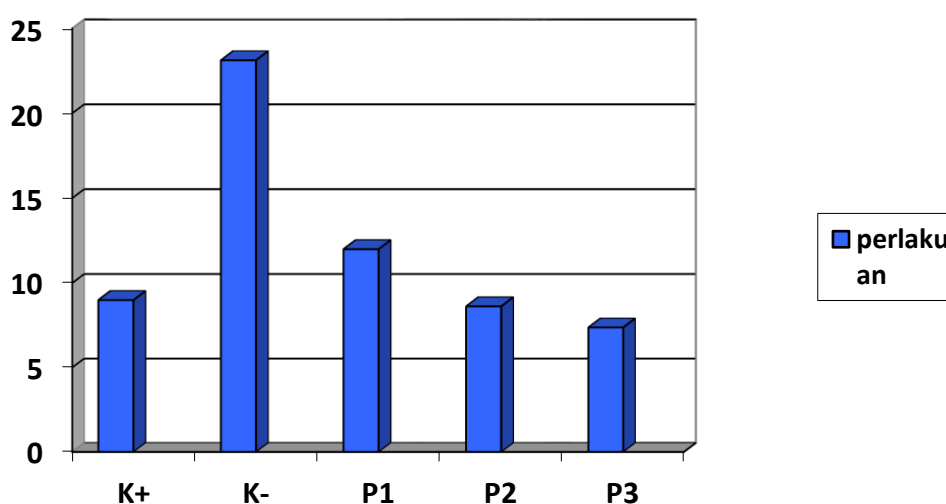
Jumlah *Licking time* setiap Kelompok Perlakuan

Analisis statistic menggunakan ANOVA Faktorial, diketahui rerata jumlah hasil *Licking time* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$) untuk setiap kelompok perlakuan. Setiap fase pengamatan terdapat rata-rata terendah sampai tertinggi jumlah *Licking time* yang dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Rerata dan Standart jumlah *Licking Time* setiap Kelompok Perlakuan

No	Kelompok perlakuan	Jumlah data pengulangan	Rata-rata $\pm$ Std. Deviation
1	K+	8	9.00 ^a $\pm$ 2.219
2	K-	8	23.13 ^b $\pm$ 2.219
3	P1	8	12.00 ^a $\pm$ 2.219
4	P2	8	8.63 ^a $\pm$ 2.219
5	P3	8	7.38 ^a $\pm$ 2.219

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)



Gambar 4.2 Diagram batang jumlah *Licking Time* setiap kelompok perlakuan

Jumlah Licking time setiap Fase dan Kelompok Perlakuan

Analisis statistic menggunakan ANOVA Faktorial, diketahui rerata jumlah hasil *Licking time* menunjukkan tidak berbeda nyata ($P=0,05$) untuk setiap fase pengamatan dengan jenis kelompok perlakuan. Sehingga tidak dapat diketahui adanya interaksi yang sangat signifikan setiap fase terhadap rerata jumlah *licking time* dan tidak dapat dilanjutkan uji Duncan.

BAB 5 PEMBAHASAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris murni karena memenuhi kriteria adanya kelompok kontrol, kelompok perlakuan, variabel terkendali, dan randomisasi sampel. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post test only control group design*. Penelitian ini merupakan percobaan untuk mengetahui efektifitas ekstrak bunga cengkeh sebagai analgesik terhadap mencit jantan yang diinduksi formalin. Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak bunga cengkeh dapat menurunkan jumlah *Licking time* pada kaki belakang mencit.

Metode uji analgesik dalam penelitian ini menggunakan metode formalin test. Penyebab terjadinya nyeri pada uji formalin test karena adanya substansi P dan bradikinin yang ikut bermanifestasi dalam merangsang nyeri fase pertama. Adapun histamine, serotonin, prostaglandin serta bradikinin, terlibat bertanggung jawab terhadap terjadinya fase kedua. Hasil ini mengindikasikan respon yang diinduksi oleh formalin memiliki karakteristik khusus dan sangat berguna untuk pengujian nyeri, *nociception*, dan modulasinya. (Shibata *et al.*, 1989).

Volume dan konsentrasi formalin yang diaplikasikan dalam penelitian cukup variatif, sedangkan konsentrasi yang sering digunakan dalam penelitian adalah 1-5%. Konsentrasi sebesar 15% digunakan pada penelitian dengan hewan coba berupa tikus, sedangkan konsentrasi sebesar 1-5% tersebut merupakan konsentrasi konvensional yang selain memicu efek perilaku menjilat dan menggigit, juga dapat menyebabkan perubahan histologi jangka panjang

sebagaimana terlihat secara makroskopis, yaitu perubahan mulai pengelupasan hingga terbentuk scar pada jaringan yang terinduksi formalin (Chang *et al.*, 2011).

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah *licking time* mencit jantan (*Mus musculus*) terhadap kelompok perlakuan, pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*, L) dan kelompok kontrol positif (Aspirin) mempunyai perbedaan yang nyata terhadap kelompok kontrol negatif (CMC Na). hal ini membuktikan bahwa larutan CMC Na tidak mempunyai senyawa yang dapat menurunkan jumlah *licking time* pada mencit jantan (*Mus musculus*. L).

Pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*. L) dosis 1%, 2% dan 3% memiliki efek analgesik dilihat dari kemampuannya mengurangi jumlah dan kelompok kontrol positif memberikan efektifitas pada jumlah *Licking time* mencit jantan (*Mus musculus*. L) yang diinduksi formalin. Penelitian ini mendukung penelitian yang dilakukan Khalilzadeh (2014) dimana ekstrak bunga cengkeh berpotensi sebagai anti inflamasi dan analgesik. Minyak atsiri mengandung beberapa senyawa seperti eugenol, tannin, saponin, dan Flavonoid (Tohawa,2012). Eugenol berkerja dengan cara memblokir jalur enzim siklooksigenase sehingga menurunkan prostaglandin, menurunnya prostaglandin mengakibatkan berkurangnya rasa nyeri (Kong *et al.*, 2014).

Ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*. L) dosis 1%, 2%, 3% dan aspirin memiliki dosis efektif yang dapat menurunkan jumlah *licking time* mencit jantan (*Mus musculus*. L) itu menjelaskan bahwa ekstrak bunga cengkeh

(*Syzygium aromaticum. L*) mempunyai manfaat yang sama dengan obat aspirin. Aspirin paling efektif meredakan nyeri dengan intensitas ringan hingga sedang melalui efek dari peradangan, proses yang dihambat aspirin dalam meredakan nyeri adalah pada proses *siklooksigenase* sebab pada proses ini sintesis prostaglandin dan tromboksan berkurang (Katzung, 2012). Prostaglandin diduga memiliki peranan penting dalam patogenesis inflamasi, analgesik, dan demam. Secara invitro terbukti bahwa prostaglandin E₂ (PGE₂) dan prostasiklin (PGI₂) dapat menimbulkan eritema, vasodilatasi, dan peningkatan aliran darah lokal (Katzung, 2012).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) memiliki efektifitas analgesic terhadap reaksi menjilat mencit janatan (*Mus musculus. L*) yang diinduksi formalin. Konsentrasi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) 1% yang paling efektif dalam menurunkan *licking time*.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapat, maka saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai bahan aktif lain yang terkandung dalam ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum. L*) sebagai analgesik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek analgetik serupa dengan dosis yang lebih variatif baik dosis lebih tinggi maupun lebih rendah maupun penelitian menggunakan obat pembanding yang berbeda yang memiliki efek analgetik lebih rendah maupun lebih tinggi daripada aspirin sehingga dapat mengetahui dosis yang paling efektif dan kekuatan analgetik dari ekstrak bunga cengkeh sehingga ekstrak bunga cengkeh dapat digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan nyeri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anas, Y., Puspitasari, N., dan Nuria, M. C. 2013. Aktivitas stimulasi Ekstrak Etanol Bunga dan Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) pada Mencit Jantan Galur Swiss Beserta Identifikasi Golongan senyawa Aktifnya. e-Publikasi Fakultas Farmasi, 10(1), 13-22.
- Andries, R. J., Gunawan, Paulina N., dan Supit, Aurelia. Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 2(2): 1-8.
- Ardinata, D. 2007. Multidimensional Nyeri. *Jurnal Keperawatan Rufaidah Sumatera Utara*. 2(2): 77-81.
- Aspan, R. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Deputy Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Ayoola, G. A., Lawore, F. M., Adelowotan, T., Aibinu, I. E., Adenipekun, E., Coker, H. A. B.. 2008. *Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of Syzigium aromaticum (clove)*. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. (2) pp. 162-1.
- Badan Standar Nasional Indonesia, 2006, *SNI 06-2387-2006* tentang Minyak Bunga Cengkih, ICS 71.100.60.
- Bustaman, S. 2011. Potensi Pengembangan Minyak Daun Cengkeh Sebagai Komoditas Ekspor Maluku. *Jurnal Litbang Pertanian*. 30(4): 132-139.
- Chang, H. Y., Sheu M. J., Yang, C. H., Lu, T. C., Chang, Y. S., Peng, W. H., Huang, S. S and Huang, G. J. 2011. *Analgesic effects and the mechanisms of anti-inflammation of hispolon in mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Crofford, L.J. 2000. *Clinical Experience with Specific COX-2 Inhibitors in Arththritis*. *Curr. Pharm.* 6(17): 1725-1736.
- Dannhardt, G. and Laufer, S. 2000. *Structural Approach to Explain the Selectivity of COX-2 Inhibitors*. *Common Pharmacophore*. *Curr. Med. Chem.* 7: 1101-1112.
- Dewoto, H. R. 2012. *Analgesik Opioid dan Antagonis: Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI.
- Dhamardy, Triyanto. 2004. Manajemen Nyeri dalam suatu Tatanan Tim Medis Multidisiplin, *Maj. Ked. Damianus*. 3(1): 1-13.

- Diego, Claudia, and Wanderley (2014) Diego F. C., Claudia, R.F., Wanderley, P.O. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): A Precious Spice. *Asian Pac J Trop Biomed.* 4(2): 91-92.
- DiPiro, J. T., Tabert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B.G., and Posey, M. 2008. *Pharmacotherapy: A Patophysiological Approach*, 7th ed, 989-1002. New Jersey: McGraw-Hill.
- Dorland, W. A. N. 2012. *Dorland's pocket Medical Dictionary*. Twenty Eighth Edition. Michigan: Elsevier. Terjemahan oleh A. A. Mahode. 2012. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: EKG
- Dorland. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 29. Jakarta: EGC.
- Esvandiary, J. 2006. Efek Analgetik dan Anti Inflamasi Beta Karoten pada Mencit. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Ezeja, M. I, Omeh, Y. S, Ezegibo, I., and Ekechukwu, A. 2011. *Evaluation of the Analgesic Activity of the Methanolic Stem Bark Extract of Dialium Guineense (Wild)*. Department of Veterinary Physiology, Pharmacology and Biochemistry. Michael Okpara University of Agriculture Nigeria. *Annals of Medical Health Sciences Research*. 1(1): 55-62.
- Fatimatu Zahroh, F., Firani, N.K., dan Kristianto, H. 2016. Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Fase Proliferasi. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(2), 92-98.
- Ferdinanti, E. 2001. Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merr & Perry) Asal Bunga, Tangkai Bunga, dan Daun Cengkeh Terhadap Bakteri. *Skripsi*. Jakarta: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta.
- Fisher, M. J. M., Carli, G., Raboisson, P., and P. Reeh. 2013. The Interphase of the formalin test. *Research Gate*.
- Guyton, A. C. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C., and Hall, J.E. 2012. *Sensasi Somatik: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Kesebelas. Jakarta: EGC.
- Hadi, Saiful. 2012. Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Clove Oil*) Menggunakan Pelarut N-Heksana dan Benzena. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan. JBAT*. 1(2): 25-30.
- Hall, J. E., dan Guyton, A. C. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Elsevier. Jakarta: EGC

- Hartwig, M. S., dan Wilson, L. M. 2012. *Nyeri: Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6. Jakarta: EGC.
- Hasani, A. S., Soljakova M., Jakupi M. H., and Ustalar-Ozgen S. Z.. 2011. *Preemptive Analgesic Efeect of Diclofenac: Experimental Study in Rats. M.E.J Anesth.* 21(3): 335-359.
- Ikawati, Z. 2011. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Saraf Pusat*. Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Insel, P. A., 1991. *Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Agents: Drugs Employed in the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Gout*. Dalam *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Ed 8. Editor: Gilman, A.G. etal. New York: Pergamon Press. Vol. I. hal. 639-667.
- Iswari, T. R. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Jakaria, M. Parves, R. Zaman, Arifujjaman, I. Hasan, M. A. Sayeed, and H. Ali. 2015. *Investigations of analgesic activity of the methanol extract of haldinacordifolia (Roxb). Bark by using in vivo animal model studies. Research Journal of Botany.* 10(3): 98-103.
- Kamatou, G. P., Vermaak, I. and Viljoen, A. M. 2012. *Eugenol From the Remote Maluku Islands to the Internasional Market Place: A Revies of a Remarkable and Versatile Molecule*, pp. 69536981. Doi: 10.3390/molecules17066953.
- Kardinan, A. 2007. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Terjemahan Nugroho Widhi A., dkk. dari Basic and Clinical Pharmacology. Jakarta: EGC.
- Kauffman, J. M., 2000. *Should you take aspirin to prevent heart attack. Journal of Scientific Exploration.* 14(4): 623-641.
- Khalilzadeh, E., Hazrati, R., and Saiah, G. V. 2014. *Evaluation of Chemical Composition, Anti-Inflammatory And Antinocicptive Effect of Eugenea Caryophyllata Buds Essential Oil. Jurnal Of Herbal Drugs* 5(2).
- Khansa, R.M., Putro, R. F., dan Sari, D. R. P. 2019. Uji Aktivitas Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*. L) Dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Secara In Vitro. Doctoral dissertation. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

- Kurian, R., Arulmozhi, D. K., Veeranjaeyulu, A., and Bhodankar, S. L. 2006. *Effect of eugenol on animal model of nociception. Indian Journal Pharmacology*. 38(5): 341-345.
- Kusriningrum, R. S. 2008. Perancangan Percobaan. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Gadjah Mada Yogyakarta: University Press.
- Kong, X., Liu, X., Li, J., and Yang, Y. 2014. *Advances in Pharmacological Research of Eugenol*, Curr Opin Complement Alternat Med, 1(1), 8-11.
- Lailly, R. S. N., Komariah, C., dan Dewi, R. 2016. Efek ekstrak kulit manga - jantan yang Di induksi Formalin. Pustaka Kesehatan. 4(3), 454-457.
- Mantiri, N. C., Awaloei, H., dan Posangi, J. 2013. Perbandingan Efek Analgesik perasan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum* Thrlaide) Dengan Aspirin Dosis terapi Pada Mencit (*Mus musculus*). Jurnal e-Biomedik, 1(1).
- McGettigan, C., Evans, S., Agnew, Z., Shah, P., and Scott, S.K. 2012. *An application of univariate and multivariate approaches in fMRI to quantifying the hemispheric lateralization of acoustic and linguistic processes*. J. Cogn. Neurosci. 24, 636-652.
- McGuire, D. B and Sheildler, V. R. 1993. Pain. In S. L. Groen, M. H. Fragge, M. Goodman, and C. H. Yarbro (Edt.) *Cancer Nursing: Principles and Practice* (3rd Ed.) (pp. 499-566). Boston, NA: Jones and Bartlett.
- Meliala, L. 2004. Nyeri Keluhan yang Terabaikan: Konsep Dahulu, Sekarang, dan yang Akan Datang. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Milind, P., Monu, Y. 2013. Laboratory models for screening analgesic. Int Res J Pharm 4:15-19.
- Mutschler, E. 1986. *Arieneimittelwirkungen*. Diterjemahkan oleh Mathilda B., Widyanto dan Ranti. Dinamika Obat, 177-197. Bandung: ITB.
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., dan Champe, P.C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi Kedua. Terjemahan H. Hartanto. Jakarta: Widya Medika.
- Nadi, S., 1992. Hasil Pengobatan Gastritis dengan Traksat empat kali sehari dibandingkan dengan dua kali sehari. *Cermin Dunia Kedokteran*. 79: 8-21.

- Notoatmodjo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Nurdjannah, N. 2004. Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. *Jurnal Perspektif*. 3(2): 61-70.
- Nurdjannah, N. 2007. Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development.
- Nursalam. 2013. Metodologi Penelitian Ilmu Keperawatan: Pendekatan Praktis. Jakarta: Salemba Medika.
- Paikin J.s., dan Eikelboom, J.W. 2012. Aspirin. *Circulation*. 125 : 439-42
- Pramod, K., Ansari, S. H., and Ali, J. 2010. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. *Natural Product Communiccations*. 5(12): 1999-2006.
- Prianto, H., Retnowati, R., dan Juswono, U.P. 2013. Isolasi dan Karakterisasi dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering Hasil Distilasi Uap. *Kimia Student Journal*. 1(2): 269-275.
- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, C. L., and Robbins, S. R. J. 1981. *Spices. London: Longman Group Ltd.* (Icus) Strain Wistar Dengan Uji Whriting Test (Doctoral dissertation, University od Muhammadiyah Malang).
- Putra, P. Y. P. 2013. Efek Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzigium Aromaticum* (L.) Merr. & Perry) Sebagai Analgesik Pada Tikus (*Rattus Norvergicus*)
- Rajshekar, Saha., Kuldeep, Bhupendar., Chandaker, Amol., and Upmanyu, Neeraj. 2012. Species Antimicrobial Agent: A Revier. *International Research Journal of Pharmacy*. 3(2): 4-9.
- Reynolds, J.E.F., 1982. *Martindale The Extra Pharmacopoeia*. Ed 28. London: The Pharmaceutical Press.
- Ribiero. F. A. P., Verri, W. A. and Chiu. I. M. 2016. *Nociceptor sensory neuron-immune interactions in pain and inflammation. Trends id Immunology*. 1-6.
- Sadeghian, H., Seyedi, S. M., Saberi, M. R., Arghiani, Z., and Riazi, M. 2008. *Design and Synthesis of Eugenol Derivatives as A Potent 15-Lipoxygenase Inhibitors. Bioorganic and Medicines Chemistry*. 16: 890-901.
- Salim, F. 1975. Pengaruh pelayuan dan pengeringan terhadap sifat kimia cengkeh (Doctoral dissertation, Tesis S1 FATETA, IPB).

- Seon, Hoon, Min, and Ho. 2008. *Effect of Eugenol on Na⁺ currents in rat dorsal Root ganglion neurons*. *Brain Research*. 1234(0). Page 53-62.
- Sharma, S. K., Srivastava, V. K., and Jasra, R. V. 2006. *Selective double bond isomerization of allyl phenyl ethers catalyzed by ruthenium metal complex*. *Jurnal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 245 (1-2): 200-209.
- Shibata, M., Onkubo, T., Takashi, H., and Inoki, R. 1989. *Modified Formalin Test Characteristic Bhipahse Pain Response*, pain, 38: 345-55.
- Sherwood, L. 2014. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Tubuh*. Edisi 8th. Jakarta: EGC.
- Suharmiati dan Lestari Handayani. 2005. *Tanaman obat untuk keadaan darurat di rumah*. Dalam: *Ramuan tradisional untuk keadaan darurat di rumah*. Edisi 1. Jakarta: agromedia Pustaka: 53
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia*. Jakarta: EGC.
- Tainter, D.R. and Grenis, A.T. 1993. *Species and seasonings : Cloves* : P. 64-67.
- Thomas, A. N. S. 2007. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tohawa, J. 2012. *Manfaat eugenol cengkeh dalam berbagai industry di Indonesia*. *Perspektif*, 11(2), 79-90.
- Turk, D. C., and Flor, H. 1999. *Chronic pain: A biobehavioral perspective*. In R. J. Gatchel & D. C. Turk (Ed.). *Psychosocial factors in pain* (pp. 18-34). New York: The Guilford Press.
- Vonkeman, Harald E. and Meek, Inger I. 2010. *Non-steroidal anti-inflammatory drugs: an overview of cardiovascular risk*. *Department of rheumatology and clinical immunology. Medisch spectrum twente and university of twente. Netherlands*. Belanda. *Pharmaceutics*. 3(2146-2162).
- Walton, R.E. and Torabinejad. M. 2008. *Principles and Practice of Endodontics*. Terjemahan N. Sumawinata. Jakarta: EGC.
- Williams, J. 2005. *Panduan etika Medis*. Yogyakarta: PSKI FK UMY.
- Wicaksono, A. J., Yuniarti. N., and Pramono, S. 2015. *analgesic effect of combination of essential oil curcuma xanthorrhiza roxb. and its curcuminoids in mice*. *Majalah Obat Tradisional*, 20(1), 16-23.

Lampiran 1 : Langkah Pembuatan Ekstrak Bunga Cengkeh

Langkah pembuatan ekstrak bunga cengkeh adalah sebagai berikut:

1. Bunga cengkeh yang sudah kering digiling dengan ukuran 80 mesh
2. Timbang sampel sebanyak 500 g
3. Masukkan sampel ke dalam *soxlet*
4. Masukkan pelarut *n-hexana* 2000L kemudian rendam selama 3 hari
5. Rangkai alat
6. Lakukan ekstraksi
7. Lakukan proses penyaringan.
8. Ulangi proses ekstraksi hingga sempurna. Filtrat yang terbentuk kemudian disaring dengan kertas saring sebanyak dua kali.
9. Hasil filtrat ekstrak *n-hexana* 2000L kemudian dipekatkan dengan alat vakum rotary evaporator sampai didapat ekstrak kental.

Lampiran 2 : Alat dan Bahan Uji Coba



Cengkeh



ekstrak bunga cengkeh



Aspirin



Aquadest



Formalin



timbangan analitik



Alat Soxhlet



Alat Evaporatory



syringe 1 cc

Lampiran 3 : Surat Keterangan Hewan Coba

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Supardi
 Alamat : Fakultas Kedokteran Hewan Unair, Jl. Mulyosari Kampus C
 Pekerjaan : Pemilik Hewan Laboratorium

Menerangkan bahwa :

Jenis : Mencit (*Mus musculus*)
 Galur : BALB C
 Umur : 10 - 11 Minggu
 Jenis Kelamin : Jantan
 Berat Badan : 25 - 30 gram
 Jumlah : 25 ekor
 Disampaikan kepada : Vina Puspitasari
 Instansi : Prodi Kedokteran Hewan PSDKU Unair, Banyuwangi.

Kondisi Hewan Laboratorium tersebut : Sehat, tidak cacat dan tidak terjangkit penyakit
 Performa ideal. Bisa digunakan sebagai Hewan Laboratorium dalam penelitian.
 Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Januari 2020

Mengetahui,
 Pemeriksa,


 Dr. Iwan Sahrial Hamid, MSc., drh.


 Supardi



Lampiran 4: Kelayakan Etical Clearance



**KOMISI ETIK PENELITIAN
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
 Animal Care and Use Committee (ACUC)**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
 "ETHICAL CLEARANCE"**

No : 1.KE.018.02.2020

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
 TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
 DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : Uji Efektivitas Bunga Cengkih (*Syzygium aromaticum* L.)
 Sebagai Analgesik Terhadap Reaksi Menjilat Mencit
 Jantan yang Diinduksi Formalin

PENELITI UTAMA : Vina Puspitasari

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi Ilmu Kedokteran Hewan
 Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 11 Februari 2020

Ketua 
 Dr. Nurdianto Triakoso, M.P., Drh.
 NIP. 196805051997021001


 Prof. Dr. Puji Arianto, M.Kes., Drh.
 NIP. 195901051986011001



Lampiran 5 : Dosis**A. Konversi Dosis Ekstrak Bunga Cengkeh**

Konsentrasi 100% = 10 ml

Konsentrasi 1% = 0,1 ml, diartikan 0,1 ml ekstrak bunga cengkeh diencerkan dengan CMC sebanyak 9,9 ml.

Konsentrasi 2% = 0,2 ml, diartikan 0,2 ml ekstrak bunga cengkeh diencerkan dengan CMC sebanyak 9,8 ml.

Konsentrasi 3% = 0,3 ml, diartikan 0,3 ml ekstrak bunga cengkeh diencerkan dengan CMC 9,7 ml.

Keterangan:

20 grBB = 0,2 ml

B. Konversi Dosis Aspirin

Aspirin 500 mg pada manusia = 500 mg x 0,0026g pada mencit

= 1,3 mg/20gBB

= 0,065 mg/gBB

Dosis individu membutuhkan aspirin sebanyak:

$0,065 \text{ mg} \times 20 \text{ g BB mencit} = 1,3 \text{ mg}$

4 ekor mencit pada kelompok kontrol positif membutuhkan aspirin sebanyak:

$= 4 \times 0,065 \text{ mg} \times 20 \text{ g BB mencit} = 5,2 \text{ mg}$

Sediaan aspirin yang diberikan pada setiap mencit:

$= 0,02 \text{ ml} \times 20 \text{ g BB mencit} = 0,4 \text{ ml}$

Sediaan aspirin untuk satu kelompok perlakuan:

$= 4 \times 0,4 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$

C. Perhitungan CMC 0,5%

Cmc 0,5% = 0,5 g CMC dalam 100 ml

= 0,5 g dalam 100 ml

= 500 mg dalam 100 ml

= 5 mg dalam 1 ml

D. Perhitungan CMC Na (sebagai pelarut aspirin)

CMC Na 0,5% berarti dalam 1 ml larutan terdapat 5 mg CMC Na. Volume larutan yang dibutuhkan untuk kelompok adalah 2 ml maka diperlukan 10 mg CMC Na.

E. Perhitungan sediaan formalin

Formalin 20 μ l berarti 0,02 ml formalin. Diinjeksikan secara subcutan ke hewan coba sesuai dengan berat badan hewan coba.

Lampiran 6 : Preparasi Hewan Coba

Pemberian Peroral

Pemberian Subcutan



Reaksi Menjilat

Lampiran 7 : Hasil *Licking Time***Data *Licking Time* Fase I dan Fase II**

Perlakuan	Sampel	<i>Licking Time</i>	
		Fase I	Fase II
K+	1	7	10
	2	4	10
	3	8	15
	4	8	10
K-	1	8	25
	2	14	38
	3	16	44
	4	10	30
P1	1	3	24
	2	9	29
	3	2	8
	4	3	18
P2	1	5	0
	2	11	0
	3	8	11
	4	8	26
P3	1	7	7
	2	3	16
	3	8	0
	4	9	9

Lampiran 8 : Hasil Analisis Data**Hasil Uji Anava Faktorial****Descriptive Statistics**

Dependent Variable: Hasil licking time

Fase	kelompok perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
Fase I	K+	6.75	1.893	4
	K-	12.00	3.651	4
	P1	4.25	3.202	4
	P2	8.00	2.449	4
	p3	6.75	2.630	4
	Total	7.55	3.620	20
Fase II	K+	11.25	2.500	4
	K-	34.25	8.421	4
	P1	19.75	9.032	4
	P2	9.25	12.312	4
	p3	8.00	6.583	4
	Total	16.50	12.509	20
Total	K+	9.00	3.162	8
	K-	23.13	13.325	8
	P1	12.00	10.392	8
	P2	8.63	8.245	8
	p3	7.38	4.689	8
	Total	12.03	10.156	40

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hasil licking time

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2841.725 ^a	9	315.747	8.019	.000
Intercept	5784.025	1	5784.025	146.896	.000
Fase	801.025	1	801.025	20.343	.000
kelompok	1324.350	4	331.088	8.409	.000
Fase * kelompok	716.350	4	179.088	4.548	.005
Error	1181.250	30	39.375		
Total	9807.000	40			
Corrected Total	4022.975	39			

a. R Squared = .706 (Adjusted R Squared = .618)

1. Fase

Dependent Variable: Hasil licking time

Fase	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Fase I	7.550	1.403	4.684	10.416
Fase II	16.500	1.403	13.634	19.366

2. kelompok perlakuan

Dependent Variable: Hasil licking time

kelompok perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
K+	9.000	2.219	4.469	13.531
K-	23.125	2.219	18.594	27.656
P1	12.000	2.219	7.469	16.531
P2	8.625	2.219	4.094	13.156
p3	7.375	2.219	2.844	11.906

3. Fase * kelompok perlakuan

Dependent Variable: Hasil licking time

Fase	kelompok perlakuan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Fase I	K+	6.750	3.137	.342	13.158
	K-	12.000	3.137	5.592	18.408
	P1	4.250	3.137	-2.158	10.658
	P2	8.000	3.137	1.592	14.408
	p3	6.750	3.137	.342	13.158
Fase II	K+	11.250	3.137	4.842	17.658
	K-	34.250	3.137	27.842	40.658
	P1	19.750	3.137	13.342	26.158
	P2	9.250	3.137	2.842	15.658
	p3	8.000	3.137	1.592	14.408

Post Hoc Test

Kelompok perlakuan

Homogeneous subsets

Hasil licking time

Duncan

kelompok perlakuan	N	Subset	
		1	2
p3	8	7.38	
P2	8	8.63	
K+	8	9.00	
P1	8	12.00	
K-	8		23.13
Sig.		.268	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 55.812.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.