

Aktivitas Analgetik dan Antiinflamasi Fraksi Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei* (Miq.) Koidz.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar Dan Keamanannya Terhadap Lambung

The Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of Fraction Ashitaba (*Angelica Keiskei* (Miq.) Koidz.) Leaves on Male White Rat Wistar Strain and Its Safety on The Gastric

Eka Ndhari Rochma*, Titik Sunarni, Gunawan Pamudji Widodo
Program Studi Pasca Sarjana Jurusan Sains Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Email: ekandhari14@gmail.com

(tanggal diterima: 02-05-2020 , tanggal disetujui: 21-05-2021)

INTISARI

Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.) adalah tanaman yang memiliki aktivitas analgetik dan antiinflamasi. Senyawa yang diyakini efektif adalah alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak dan fraksi mana yang memiliki aktivitas analgetik dan antiinflamasi, serta keamanan lambung, dan fraksi mana yang memberikan aktivitas terkuat da teraman terhadap lambung tikus.

Serbuk ashitaba diekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 70% untuk menghasilkan ekstrak etanol daun ashitaba. Ekstrak difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Metode *hot plate* dan *tail flick* untuk pengujian analgetik, metode *randall-selitto* dan pembentukan edema untuk pengujian antiinflamasi kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis untuk keamanan lambung tikus. Kelompok uji terdiri dari 6 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif Na CMC 1%, kontrol positif asam mefenamat 500mg/kg BB, ekstrak 300 mg/kg BB, fraksi n- heksan 120,7 mg/kg BB, fraksi etil asetat 20,6 mg/kg BB, fraksi air 158,65 mg/kg BB.

Hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak etanol, fraksi n- heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun ashitaba mempunyai aktivitas analgetik dan antiinflamasi. Ekstrak 300mg/kg BB dan fraksi n- heksan 120,7mg/kg BB menunjukkan aktivitas analgetik dan antiinflamasi yang setara dengan asam mefenamat dan menunjukkan keamanan pada lambung setara dengan kontrol negatif.

Kata kunci: Daun ashitaba; analgetik; antiinflamasi; makroskopis; mikroskopis

ABSTRACT

Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.) is a plant that has analgesic and anti-inflammatory activity. Compounds that are believed to be effective are alkaloids, saponins, tannins, and flavonoids. The purpose of this study was to determine which extracts and fractions had analgesic and anti-inflammatory activity, as well as gastric safety, and which fractions gave the strongest and safest activity against the stomach of rats.

Ashitaba powder was extracted using remaceration method with 70% ethanol as solvent to produce ethanol extract of ashitaba leaves. The extract was fractionated using n-hexane, ethyl acetate, and water as solvents. The hot plate and tail flick methods for analgesia testing, the randall-selitto method and edema formation for anti-inflammatory testing were then observed macroscopically and microscopically for the safety of the rat stomach. The test group consisted of 6 treatment groups, namely 1% Na CMC negative control, mefenamic acid positive control 500mg/kg BW, extract 300 mg/kg BW, n-hexane fraction 120.7 mg/kg BW, ethyl acetate fraction 20.6 mg. /kg BW, water fraction 158.65 mg/kg BW.

The results showed that the ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of ashitaba leaves had analgesic and anti-inflammatory activities. Extract 300mg/kg



BW and n-hexane fraction 120.7mg/kg BW showed analgesic and anti-inflammatory activity equivalent to mefenamic acid and showed gastric safety equivalent to negative control.

Keywords: Ashitaba leaf; analgesic; anti-inflammatory; macroscopic; microscopic

1. PENDAHULUAN

Analgesik dan antiinflamasi merupakan senyawa yang mampu menghilangkan atau menurunkan rasa sakit tanpa kehilangan kesadaran dan mengatasi peradangan. Nyeri dan inflamasi adalah gejala penyakit yang disebabkan oleh jaringan yang rusak atau perubahan metabolisme jaringan yang diikuti oleh pelepasan dan pembentukan bahan mediator, seperti prostaglandin, serotonin, histamine, dan bradykinin [1]. Obat analgetik dan antiinflamasi bekerja dengan memblokir kerja enzim siklooksigenase yang bertanggung jawab terhadap produksi protaglandin dari membran mukosa, seperti asam lambung dan pepsin[2]. Ashitaba adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat. Semua bagian tanaman ashitaba mengandung alkaloid, saponin, dan glikosida, sedangkan daunnya mengandung banyak flavonoid, triterpenoid dan tanin[3]. Menurut penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun ashitaba memiliki efek antiinflamasi dan analgesik[4]. Oleh karena itu, peneliti akan melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas analgesik dan antiinflamasi fraksi daun ashitaba pada tikus putih jantan dan mengetahui keamanannya terhadap lambung tikus.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan penelitian ini adalah bejana maserasi, kain flanel, corong, corong pisah, *rotary evaporator*, spuit injeksi, jarum sonde, *Analgesy-meter*, plestimometer, mikroskop, tabung reaksi, dan hamber untuk KLT.

Bahan yang digunakan penelitian ini adalah daun ashitaba yang berasal dari daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Timur.

2.2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman ashitaba dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.

2.3. Pengambilan tanaman

Daun ashitaba diambil dari daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Timur. Ashitaba diambil bagian daunnya yang masih segar, berwarna hijau pada daunnya, tidak busuk, dan bebas dari hama.

2.4. Pembuatan serbuk

Daun ashitaba segar yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir agar bebas dari kotoran, kemudian ditiriskan. Setelah itu, daun yang sudah dibersihkan kemudian dicacah dan dikeringkan dalam oven 50°C hingga kering. Daun yang telah kering dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan nomor 40 untuk mendapatkan derajat kehalusan yang diinginkan[5].



2.5. Pembuatan ekstrak

Ditimbang sebanyak 1000 gram serbuk daun ashitaba kemudian ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan (1:10) hingga 5 liter. Proses remaserasi dilakukan dalam keadaan tertutup dalam wadah gelap dan terlindung dari sinar matahari langsung. Maserat yang dihasilkan selanjutnya disaring, dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga dihasilkan ekstrak pekat[6].

2.6. Pembuatan fraksi

Ekstrak etanol daun ashitaba ditimbang sebanyak 10 g kemudian dipartisi menggunakan pelarut n- heksana 75 ml: air 75 ml. Fraksinasi n- heksan dikerjakan sebanyak tiga kali dengan corong pisah. Sari yang diperoleh kemudian dipekatkan untuk mendapatkan fraksi n- heksana. Lapisan sisa fraksi n- heksana ditambahkan etil asetat sebagai pelarut. Fraksinasi dengan etil asetat dikerjakan sebanyak tiga kali. Hasil yang didapat dari fraksi etil asetat dipekatkan untuk mendapatkan fraksi etil asetat. Sisa fraksinasi n- heksana dan etil asetat diuapkan diatas penangas air, hasilnya disebut fraksi air[7].

2.7. Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak dan fraksi daun ashitaba

Pengujian tabung dan KLT dilakukan untuk identifikasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak dan fraksi. Identifikasi kandungan senyawa dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi yang dihasilkan dengan mengamati munculnya noda yang direaksikan dengan reagen antara lain: alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin.

2.8. Pengujian aktivitas analgetik

Metode pengujian yang digunakan untuk aktivitas analgetik adalah metode *hot plate* dan *tail flick*.

Metode *hot plate*

Tiap kelompok diberi perlakuan yaitu kelompok Na-CMC 1%, kelompok asam mefenamat 1%, kelompok uji diberi ekstrak etanol, fraksi n- heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun Ashitaba. Sebelum perlakuan, tikus ditempatkan dalam beaker glass yang dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 55°C. Respon tikus diamati dengan mengamati waktu latensi saat tikus merespon dengan menjilat kaki belakangnya atau melompat. Hambatan nyeri dengan metode *hot plate* dinyatakan sebagai % *Maximum Possible Effect* (MPE) [8].

Metode *tail flick*

Tiap kelompok tikus diberi perlakuan yaitu kelompok Na CMC 1%, kelompok asam mefenamat 1%, kelompok uji diberi ekstrak etanol, fraksi n- heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun ashitaba. Tikus didiamkan selama 30 menit, kemudian ekor tikus disinari dengan sinar infra merah sebagai mediator nyeri. Kemudian dicatat berapa reaksi (dalam detik) yang dilakukan tikus menarik ekornya untuk setiap perlakuan dalam kelompok selama 3 jam dengan selang waktu 30 menit. Aktivitas analgetik ditunjukkan dengan persentase hambatan nyeri (PHN) [9].

2.9. Pengujian aktivitas antiinflamasi



Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan setelah uji aktivitas analgesik. Pengujian aktivitas antiinflamasi menggunakan metode *randal-selitto* dan pembentukan edema pada kaki hewan uji.

Metode *randall-selitto*

Tiap kelompok tikus diberi perlakuan yaitu kelompok Na CMC 1%, kelompok asam mefenamat 1%, kelompok uji diberi ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun ashitaba. Setelah 1 jam diberi perlakuan, tikus diberi sebanyak 0,1 ml suspensi λ -karagenan 1% secara subplantar. Tiga jam kemudian dilakukan pengukuran ambang batas nyeri dengan meletakkan kaki tikus pada penjepit. Penjepit dikencangkan secara perlahan dan segera dihentikan saat tikus menunjukkan tanda-tanda kesakitan, yaitu berupa gerakan memberontak (melepaskan diri) atau berteriak kesakitan. Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan dengan persentase peningkatan ambang nyeri[10].

Metode pembentukan edema

Tiap kelompok tikus diberi perlakuan yaitu kelompok Na CMC 1%, kelompok asam mefenamat 1%, kelompok uji diberikan ekstrak, fraksi n- heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun ashitaba. Sediaan uji diberikan secara per oral, 30 menit setelah pemberian sampel uji, tikus diberi 0,1 ml suspensi λ -karagenan 1% secara subplantar untuk menginduksi radang. Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan dengan persentase penghambatan udem[11].

2.10.Uji keamanan lambung tikus

Setiap kelompok pada uji analgesik dan antiinflaasi dilakukan pengujian keamanan lambung. Sediaan uji diberikan secara oral terus menerus sampai hari ke 5 dengan dosis 1 ml per hari. Pada hari ke 5, semua tikus dipuaskan (air saja) selama 18 jam, dan pada hari ke 6 semua tikus dikorbankan dan dibedah untuk dikeluarkan lambungnya.

Pemeriksaan lambung secara makroskopis

Lambung tikus diperiksa secara makroskopis dan histologis untuk mengetahui adanya kerusakan lambung. Kerusakan lambung diukur dan dievaluasi secara makroskopis[12]. Gambar lambung tukak dan jumlah tukak serta pengukuran diameter tukak, selanjutnya dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tingkat keparahan tukak dinyatakan dengan indeks tukak dan kemudian dianalisis secara statistik. Indeks tukak dihitung dengan:

$$\text{Indeks tukak} = A+B$$

Keterangan:

A = nilai rata- rata skor jumlah tukak

B = nilai rata- rata skor diameter tukak

Pemeriksaan lambung secara histopatologi

Pemeriksaan histologi lambung dilakukan dengan cara pembuatan preparat jaringan lambung dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin alkohol (HE). Lambung yang sudah dipotong direndam ke dalam larutan formalin, kemudian difiksasi dengan larutan bouin selama 3 jam. Setelah fiksasi, dilakukan proses dehidrasi dengan menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat: 70%, 80%, 90%,



95%, dan 100%, kemudian dilakukan penjernihan dengan xylol sebanyak 3 kali. Sampel organ diblocking dengan embedding yang dituangi parafin cair, selanjutnya didinginkan. Blok parafin yang sudah dingin dipotong tipis setebal 5µm menggunakan microtom. Proses yang terakhir adalah pewarnaan menggunakan metode Hematoxylin-Eosin. Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x[13].

2.11. Analisa data

Data yang dihasilkan dari uji analgetik dan antiinflamasi masing- masing metode dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat data yang diteliti berdistribusi normal dan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen, maka uji analisis varians (ANOVA) dapat dilanjutkan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka uji *Post Hoc* dilanjutkan.

Data yang dihasilkan dari pengamatan ulkus lambung diolah dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan pada semua kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman

Determinasi tanaman dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dilakukan di bagian Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi No.: 34/UN27.9.6.4/Lab/2019 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.

Hasil pengambilan dan pengeringan tanaman

Tanaman ashitaba yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh secara acak pada bulan Februari 2018 dari daerah Trawas, Mojokerto, Jawa Timur. Daun diambil dalam kondisi yang segar, permukaan daun masih hijau, tidak busuk, dan bebas dari hama. Hasil pengeringan daun ashitaba diperoleh sebanyak 950 gram dengan rendemen 20%.

Hasil pembuatan serbuk

Hasil pembuatan serbuk daun ashitaba diperoleh serbuk sebanyak 900 gram dengan rendemen 94,7%.

Hasil rendemen ekstrak etanol daun ashitaba

Hasil dari ekstraksi daun ashitaba menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 70% dihasilkan ekstrak kental sebanyak 139,1 gram dengan hasil rendemen 27,82%.

Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun ashitaba

Hasil pembuatan fraksi n- heksana, etil asetat, dan air ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen fraksi n- heksana, etil asetat, dan air daun ashitaba

Fraksinasi	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
n- heksana	10,513	26,283



Etil asetat	1,794	4,485
Air	13,818	34,545

Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak dan fraksi daun ashitaba

Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak dan fraksi daun ashitaba menggunakan uji tabung dan KLT. Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa yang mempunyai aktivitas analgesik dan antiinflamasi. Ekstrak dan fraksi daun ashitaba positif mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, dan saponin.

Hasil aktivitas analgetik

Metode *hot plate*

Pengujian aktivitas analgetik dengan metode *hot plate* yaitu dengan memberikan rangsangan panas terhadap kaki tikus sehingga tikus merespon dengan menjilati kakinya atau melompat. Hasil waktu rata - rata dan simpangan baku respon nyeri dari masing- masing kelompok perlakuan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu latensi (detik) setelah diberikan larutan uji (mean±SD)

Waktu (menit)	Na CMC	Asam mefenamat	Ekstrak	Fraksi n- heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
30'	5,76±0,92	9,26±1,26	10,22±1,42	9,87±0,52	12,13±2,95	8,01±1,63
60'	6,09±0,98	12,14±2,94	12,29±1,95	12,27±1,06	14,75±2,56	10,28±1,31
90'	5,69±1,27	11,82±3,57	10,52±1,08	11,39±2,58	10,21±3,25	11,48±3,41
120'	6,88±0,72	11,22±3,57	9,45±1,62	9,68±1,97	10,77±2,49	10,17±1,73
150'	6,00±0,51	8,27±1,35	8,73±1,25	9,40±1,48	10,02±1,15	9,71±1,75
180'	6,05±0,78	7,83±1,84	7,53±1,92	7,51±0,29	8,79±2,08	9,14±1,78

Tabel 2 menunjukkan kelompok Na CMC mempunyai rata - rata waktu latensi terendah dibanding dengan kelompok lain, dikarenakan tidak adanya aktivitas analgetik pada kelompok Na CMC. Kelompok asam mefenamat pada menit 30 mempunyai rata- rata waktu latensi yang lebih lama dibanding dengan kelompok Na CMC. Berdasarkan hasil uji statistik *Post Hoc*, dari metode *hot plate* ditemukan perbedaan yang nyata antara kelompok asam mefenamat dengan kelompok Na CMC (sig.<0,05).

Pada kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba secara statistik dengan uji *Post Hoc*, menunjukkan bahwa ashitaba memiliki waktu latensi yang tidak berbeda signifikan, artinya ekstrak dan fraksi tidak menyebabkan peningkatan waktu latensi. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, ekstrak dan fraksi daun ashitaba tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (sig.> 0,05).

Hambatan nyeri pada metode *hot plate* dinyatakan dengan % *Maximum Possible Effect* (MPE). Data waktu latensi dihitung persentase *Maximum Possible Effect* (MPE) dan hasilnya pada kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase MPE pada kelompok kontrol positif, ekstrak, dan fraksi daun ashitaba

Kelompok dosis	% <i>Maximum Possible Effect</i> (%)
----------------	--------------------------------------



Na CMC	0±0,00 ^b
Asam mefenamat	40,73±20,70 ^a
Ekstrak 300mg/kgBB	36,27±8,39 ^a
Fraksi n-heksan 120,7mg/kgBB	39,79±7,69 ^a
Fraksi etil asetat 20,06mg/kgBB	49,42±15,65 ^a
Fraksi air 158,65mg/kgBB	36,98±10,12 ^a

Keterangan : a : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan kontrol negatif, b : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan asam mfenamat

Tabel 3 menunjukkan data rata-rata persentase MPE setiap kelompok perlakuan. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki % MPE yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok asam mefenamat (sig.>0,05). Persentase MPE yang besar dipengaruhi oleh senyawa yang terlarut dalam fraksi etil asetat. Menurut uji identifikasi, kandungan senyawa di dalam ekstrak dan fraksi daun ashitaba adalah saponin, alkaloid, flavonoid dan tanin.

Mekanisme flavonoid sebagai analgesik adalah dengan menghambat aktivitas enzim COX yang menurunkan produksi prostaglandin untuk meredakan nyeri[14]. Peran alkaloid sebagai analgesik dengan bekerja pada reseptor opioid SSP, sehingga mengurangi persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri[15]. Saponin dan tanin juga menghambat enzim COX2, yang selanjutnya dapat menghambat biosintesis mediator analgesik prostaglandin[16].

Metode tail flick

Pengujian aktivitas analgetik dengan metode *tail flick* ialah dengan memasukkan tikus ke dalam alat *analgesy-meter* sebagai mediator nyeri maka tikus akan memberikan respon berupa menarik ekornya. Hasil waktu rata-rata dan simpangan baku respon nyeri dari masing- masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Waktu reaksi (detik) setelah diberikan larutan uji (mean±SD)

Waktu (menit)	Na CMC	Asam Mefenamat	Ekstrak	Fraksi n- heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
30'	5,14±1,06	7,69±1,29	8,88±3,07	9,22±2,34	10,02±4,04	6,71±1,37
60'	6,60±0,65	9,66±2,14	8,59±2,45	10,91±3,77	13,26±4,50	9,39±2,77
90'	6,97±2,06	10,72±3,65	9,87±2,78	12,06±1,93	10,91±2,48	8,63±1,68
120'	6,56±1,82	11,85±2,75	10,56±1,32	11,64±3,69	8,37±3,09	9,03±1,89
150'	5,92±1,61	8,75±0,75	9,63±1,66	9,52±1,89	8,93±2,98	10,37±2,44
180'	5,97±1,19	7,05±2,61	9,20±1,20	9,15±1,18	8,02±0,30	8,84±2,00

Tabel 4 menunjukkan hasil rata- rata waktu reaksi secara keseluruhan pada setiap kelompok. Kelompok Na CMC memiliki rata-rata waktu reaksi terendah dengan kelompok lain, dikarenakan Na CMC tidak mengandung bahan aktif yang mampu menghambat rasa nyeri. Efek analgetik yang diberi asam mefenamat mencapai puncaknya pada menit 120. Kelompok ekstrak daun ashitaba menunjukkan efek analgetik pada menit 30 dan mencapai puncak pada menit 120. Kelompok fraksi n- heksana menunjukkan efek analgetik dan mencapai puncaknya

pada menit 90. Efek analgetik kelompok fraksi etil asetat mencapai puncak pada menit 60. Kelompok fraksi air pada menit 30 menunjukkan efek analgetik yang lebih rendah dibanding dengan kelompok uji lain. Rata - rata waktu reaksi fraksi air meningkat pada menit 60. Secara statistik dengan uji *Post Hoc* menyatakan bahwa Na CMC berbeda nyata dengan kelompok asam mefenamat, kelompok ekstrak, dan kelompok fraksi daun ashitaba.

Hambatan nyeri pada metode *tail flick* ditunjukkan dengan persentase hambatan nyeri (PHN). Data waktu reaksi dihitung persentase hambatan nyeri (PHN) dengan hasil pada kelompok perlakuan dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Persentase hambatan nyeri (PHN) pada kelompok asam mefenamat, ekstrak, dan fraksi daun ashitaba

Kelompok dosis	Persentase Hambatan Nyeri (PHN) (%)
Na CMC	0±0,00 ^b
Asam mefenamat	47,27±17,10 ^a
Ekstrak 300mg/kgBB	54,48±29,01 ^a
Fraksi n- heksan 120,7mg/kgBB	67,56±34,92 ^a
Fraksi etil asetat 20,06mg/kgBB	58,87±34,15 ^a
Fraksi air 158,65mg/kgBB	45,00±40,25 ^a

Keterangan : a : Berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif, b : Berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan asam mfenamat

Tabel 5 menunjukkan rata-rata persentase hambatan nyeri pada setiap kelompok perlakuan. Persentase hambatan nyeri kelompok ekstrak, fraksi n- heksana, dan fraksi etil asetat daun ashitaba mempunyai aktivitas hambatan nyeri yang lebih besar dibandingkan asam mefenamat. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki persentase hambatan nyeri yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok asam mefenamat ($\text{sig.} > 0,05$).

Ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki aktivitas analgetik karena mengandung senyawa yang dapat beraktivitas analgetik. Senyawa yang diduga memiliki sifat sebagai analgetik yaitu golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Senyawa flavonoid menghambat kerja enzim COX dengan mengurangi produksi prostaglandin oleh asam arakidonat, sehingga mengurangi rasa nyeri [17]. Alkaloid sebagai analgetik bekerja pada reseptor opioid SSP, sehingga mengubah persepsi nyeri dan respon emosional terhadap nyeri [18]. Tanin menghambat enzim COX dari prostaglandin sehingga dapat memberikan efek analgetik dan anti-inflamasi [19]. Saponin juga memiliki efek analgetik dengan menghambat sintesis PGE2 [20].

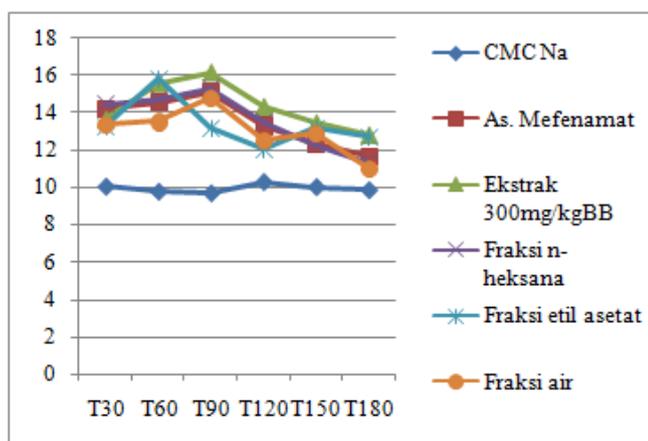
Hasil uji aktivitas antiinflamasi

Metode *randall-selitto*

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode *randall-selitto* yaitu dengan pengukuran ambang batas nyeri yang dilakukan dengan cara meletakkan kaki tikus pada penjepit, maka tikus akan memberikan respon berupa gerakan memberontak



(melepaskan diri) atau berteriak kesakitan. Hasil rata-rata bobot tekanan diplotkan dalam bentuk grafik selengkapnya disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata bobot tekanan (gram) setelah pemberian sediaan uji

Gambar 1 menunjukkan bahwa kelompok Na CMC pada menit 30 sudah menunjukkan rata - rata bobot tekanan yang lebih kecil dibanding dengan kelompok lainnya. Hal ini dapat dinyatakan bahwa kelompok Na CMC tidak memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Secara statistik dengan uji *Post Hoc* diketahui bahwa terdapat perbedaan nyata antara kelompok asam mefenamat dengan kelompok Na CMC (sig.<0,05). Kelompok ekstrak, fraksi n- heksan dan fraksi air daun ashitaba pada menit 30 memiliki rata - rata bobot tekanan yang lebih besar dibanding dengan kelompok Na CMC dan memuncak pada menit 90. Pada fraksi etil asetat daun ashitaba rata- rata bobot tekanan meningkat dari menit 30 dan mencapai puncak pada menit 60. Ini disebabkan karena adanya respon alami tubuh saat mengalami nyeri, sehingga tidak semua pemberian ekstrak maupun fraksi menghasilkan rata-rata puncak bobot tekanan yang sama [21]. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, dihasilkan bahwa ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki bobot tekanan yang tidak berbeda signifikan. Jika dibandingkan dengan kelompok asam mefenamat, ekstrak dan fraksi daun ashitaba tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (sig. > 0,05). Data persentase peningkatan ambang nyeri dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Persentase peningkatan ambang nyeri

Kelompok dosis	Persentase peningkatan ambang nyeri (%)
Na CMC	0±0,00 ^b
Asam mefenamat	32,41±27,40 ^a
Ekstrak 300mg/kgBB	39,21±13,82 ^a
Fraksi n-heksan 120,7mg/kgBB	32,91±17,61 ^a
Fraksi etil asetat 20,06mg/kgBB	30,29±6,57 ^a
Fraksi air 158,65mg/kgBB	27,18±11,48 ^a

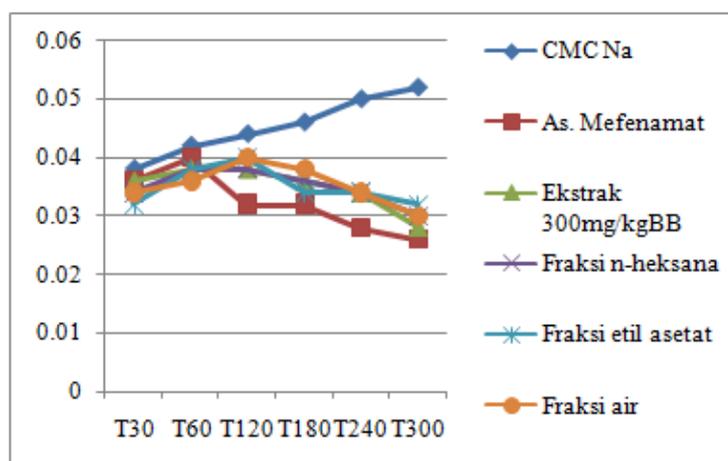
Keterangan : a : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan kontrol negatif, b : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan asam mfenamat

Tabel 6 menunjukkan rata-rata persentase peningkatan ambang nyeri setiap kelompok. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki persentase peningkatan ambang nyeri yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok asam mefenamat ($\text{sig.} > 0,05$). Rata-rata persentase peningkatan ambang nyeri yang besar dipengaruhi oleh kandungan senyawa di dalam ekstrak maupun fraksi. Senyawa yang terkandung di dalam ekstrak maupun fraksi daun ashitaba yang diduga sebagai antiinflamasi adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

Mekanisme antiinflamasi flavonoid dengan cara penghambatan langsung aktivitas enzim COX dan lipooksigenase, yang mengakibatkan penghambatan biosintesis prostaglandin dan leukotrien sebagai produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase [22]. Saponin sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat pembentukan eksudat dan meningkatkan permeabilitas vaskular pembuluh darah [23]. Tanin memiliki aktivitas antioksidan yang bertindak sebagai antiinflamasi dalam beberapa cara, termasuk menghambat produksi oksidan (O_2) oleh neutrofil, monosit dan makrofag. Kedua, dengan menghambat secara langsung oksidan reaktif seperti radikal hidroksi (OH) dan asam hipoklorit [24].

Metode pembentukan edema

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode pembentukan edema yaitu dengan menginjeksikan λ -karagenan pada telapak kaki tikus, kemudian volume edema diukur menggunakan alat plestimometer. Hasil rata-rata bobot tekanan diplotkan dalam bentuk grafik selengkapnya disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata volume edema setelah pemberian sediaan uji

Gambar 2 menunjukkan rata-rata volume udem kaki tikus pada keseluruhan kelompok. Kelompok Na CMC memiliki rata-rata volume udem tertinggi dibanding dengan kelompok lainnya. Kelompok asam mefenamat mempunyai rata-rata volume udem yang lebih rendah dibanding dengan kelompok lain. Hal ini memperlihatkan bahwa asam mefenamat dapat memberikan efek terapi yang baik dengan mekanisme kerja menghambat sintesis prostaglandin pada tubuh dengan

cara menghambat enzim COX 1 dan 2 [25]. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, bahwa kelompok Na CMC dan kelompok asam mefenamat berbeda bermakna (sig. > 0,05). Pada kelompok ekstrak dan fraksi n- heksan daun ashitaba rata- rata volume udem meningkat pada menit 60. Pada kelompok fraksi etil asetat dan fraksi air daun ashitaba rata- rata volume udem meningkat dan mencapai puncak pada menit 120. Secara statistik uji *Post hoc*, dihasilkan bahwa ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki volume edema yang tidak berbeda nyata. Jika dibandingkan dengan kelompok asam mefenamat, ekstrak dan fraksi daun ashitaba tidak menunjukkan perbedaan nyata (sig. > 0,05). Data persentase penghambatan edema dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Persentase penghambatan edema

Kelompok dosis	Persentase penghambatan edema (%)
Na CMC	0±0,00 ^b
Asam mefenamat	28,25±9,38 ^a
Ekstrak 300mg/kgBB	22,05±14,79 ^a
Fraksi n-heksan 120,7mg/kgBB	25,79±15,48 ^a
Fraksi etil asetat 20,06mg/kgBB	20,53±12,58 ^a
Fraksi air 158,65mg/kgBB	19,79±11,37 ^a

Keterangan : a : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan kontrol negatif, b : Berbeda bermakna (p<0,05) dengan asam mefenamat

Tabel 7 menunjukkan rata - rata persentase penghambatan edema pada masing - masing kelompok. Secara statistik dengan uji *Post hoc*, kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki persentase hambatan edema yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok asam mefenamat (sig.>0,05). Aktivitas antiinflamasi ekstrak dan fraksi daun ashitaba diyakini karena adanya senyawa saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Mekanisme flavonoid dalam antiinflamasi dengan menghambat permeabilitas kapiler, menghambat metabolisme asam arakidonat serta sekresi enzim lisosom oleh sel neutrofil dan sel endotel[26]. Penghambatan pelepasan histamin oleh sel mast, penurunan sekresi IL-1 oleh monosit dan PAF pada trombosit adalah cara kerja alkaloid sebagai antiinflamasi[27]. Senyawa saponin bekerja dengan cara menghambat pembentukan eksudat dan menghambat peningkatan permeabilitas vaskular [28]. Tanin juga memiliki aktivitas antiinflamasi, tetapi mekanisme kerjanya belum dijelaskan secara pasti [29].

Uji keamanan lambung tikus Pemeriksaan makroskopis lambung

Pemeriksaan makroskopis lambung dilakukan dengan cara mengambil bagian lambung tikus, selanjutnya dipotong secara membujur. Hasil rata - rata total skor ulkus pada masing -masing kelompok perlakuan ditunjukkan pada Tabel 8.

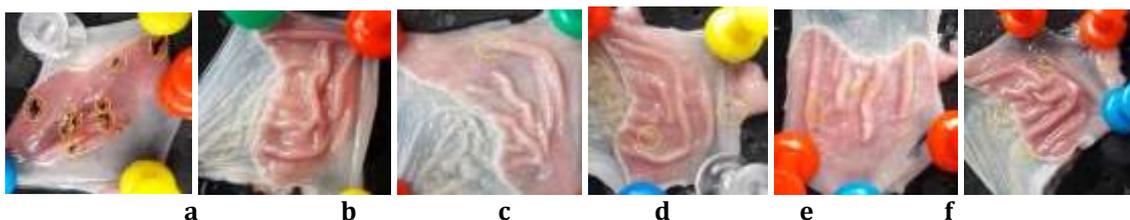
Tabel 8. Indeks ulkus

Perlakuan	Rataan jumlah tukak	Rataan diameter ulkus	Indeks ulkus
Na CMC	1,33± 0,58 ^b	1,33± 0,58 ^b	2,67± 1,15 ^b



Asam mefenamat	4,33 ± 0,58 ^a	3,33 ± 0,58 ^a	7,67 ± 1,15 ^a
Ekstrak	2 ± 0 ^b	2 ± 0 ^b	4 ± 0 ^b
Fraksi n-heksan	2,33 ± 0,58 ^b	2,33 ± 0,58 ^b	4,67 ± 1,15 ^b
Fraksi etil asetat	2,67 ± 0,58 ^b	2,67 ± 0,58 ^b	5,33 ± 1,15 ^b
Fraksi air	2,67 ± 0,58 ^b	2,67 ± 0,58 ^b	5,33 ± 1,15 ^b

Keterangan : a : Berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif, b : Berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan asam mfenamat



Gambar 3. Uji makroskopik kontrol positif dan kontrol negatif

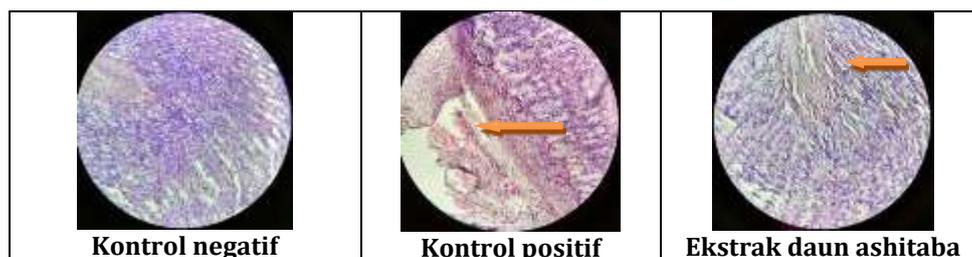
Keterangan: kontrol positif (a), kontrol negatif (b), ekstrak (c), fraksi n-heksan (d), fraksi etil asetat (e), fraksi air (f)

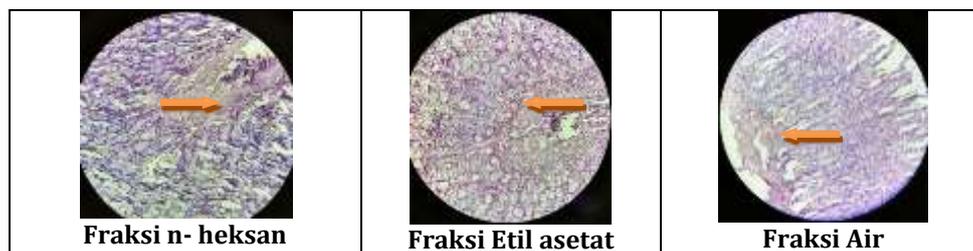
Nilai indeks ulkus kelompok kontrol positif yang diberi asam mefenamat mempunyai nilai indeks ulkus tertinggi dibanding dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan asam mefenamat dapat mengiritasi mukosa lambung. Mekanisme iritasi lambung oleh NSAID bersifat sistemik dan lokal. Iritasi lokal menimbulkan difusi kembali asam lambung ke mukosa sehingga menyebabkan kerusakan jaringan. Iritasi sistemik melalui penghambatan biosintesis PGE2 dan PGE1 dapat mengakibatkan perdarahan lambung[30]. Hasil pemeriksaan makroskopis pada kelompok Na CMC memperlihatkan tidak ada kerusakan atau iritasi pada mukosa lambung tikus. Hal ini dikarenakan tidak ada induksi atau zat berbahaya secara eksogen (alkohol dan obat-obatan) dan endogen (pepsin, garam empedu, dan asam klorida)[31].

Hasil pemeriksaan makroskopis kelompok ekstrak dan fraksi daun ashitaba menunjukkan adanya bercak darah atau iritasi pada lambung, namun setelah diuji dengan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* ekstrak daun ashitaba dan kelompok fraksi memiliki nilai indeks ulkus yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok Na CMC ($p > 0,05$).

Pemeriksaan lambung secara mikroskopis

Uji mikroskopis dilakukan setelah tikus diamati secara makroskopik pada hari pembedahan. Hasil pengamatan secara mikroskopis pada setiap kelompok perlakuan dengan perbesaran 40x adalah sebagai berikut:





Gambar 4. Hasil uji mikroskopik pada setiap kelompok perlakuan

Keterangan : adanya perdarahan ()

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis pada kelompok asam mefenamat memperlihatkan adanya kerusakan lambung. Asam mefenamat dapat mengakibatkan hilangnya sel-sel epitel pada permukaan lambung dan mengurangi sekresi lendir, yang membentuk penghalang pelindung terhadap asam. Kerusakan mukosa disebabkan oleh efek lokal asam mefenamat (NSAID)[32]. Pada kelompok Na CMC memperlihatkan tidak adanya kerusakan lambung, karena Na CMC sebagai kontrol normal tidak mendapatkan faktor defensif dan agresif di lambung, sehingga kondisi fisik lambung tidak rusak (lambung normal)[33]. Hasil pemeriksaan mikroskopis ekstrak dan fraksi daun ashitaba menunjukkan adanya perdarahan pada mukosa lambung yang disebabkan karena adanya efek samping ekstrak dan fraksi daun ashitaba. Secara statistik dengan uji *Mann-Whitney* pada pemeriksaan makroskopis, ekstrak dan fraksi daun ashitaba tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan kelompok Na CMC ($p < 0,05$).

Mekanisme flavonoid sebagai gastroprotektif seperti antihistamin untuk mengurangi produksi histamin, dimana banyak prostaglandin yang terbentuk sebagai faktor pertahanan mukosa lambung [34]. Tanin bekerja sebagai anti tukak dengan menurunkan sekresi asam lambung. Tanin mempengaruhi integritas dari membran mukosa dan membentuk lapisan film pelindung untuk mencegah menyerapnya zat beracun[35]. Mekanisme alkaloid sebagai gastroprotektif dengan mempercepat penyembuhan luka dan peningkatan produksi mukus lambung setelah cedera dengan agen penginduksi[36]. Mekanisme kerja saponin sebagai gastroprotektif adalah dengan mengaktifkan faktor protektif dari membran mukosa [37].

Berdasarkan keseluruhan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa ekstrak 300mg/kgBB dan fraksi n-heksan 120,7mg/kgBB menunjukkan aktivitas analgetik dan antiinflamasi yang setara dengan asam mefenamat dan menunjukkan keamanan pada lambung setara dengan kontrol negatif.

4. KESIMPULAN

Ekstrak dan fraksi daun ashitaba memiliki aktivitas analgetik dengan metode *hot plate* dan *tail flick*, memiliki aktivitas antiinflamasi dengan metode *randall-selitto* dan pembentukan udem. Hasil uji makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun ashitaba aman digunakan terhadap lambung tikus. Fraksi n-heksan dari ekstrak daun ashitaba menunjukkan aktivitas analgetik dan antiinflamasi paling kuat dan aman terhadap lambung tikus.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Inayati A. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle, Linn*) secara in vivo. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah.
- [2]. Setyari W, Sudjarwo SA. 2008. Potensi analgesik dan antiinflamasi dari ekstrak tapak liman (*Elephantopus scaber*). *J. Penelit. Med. Eksakta* 7 (1): 16-22.
- [3]. Rahmatika A. 2017. Formulasi dan uji aktivitas antioksidan sediaan krim ekstrak etanol 70% daun ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz) dengan setil alkohol sebagai *stiffening agent* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- [4]. Burhanudin NW. 2016. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan *tail flick analgesy-meter* [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- [5]. Prasetyo, Inoriyah E. 2013. Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Siplisia). Cetakan ke-1. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- [6]. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1 Suplemen 3. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [7]. Akhsanita M. 2012. Uji sitotoksik ekstrak, fraksi, dan sub-fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn. f.) dengan metoda *Brine shrimp lethality bioassay* [Skripsi]. Padang: Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
- [8]. Widiandani T, Siswandono, Hardjono S, Istifada, Zahra R. 2013. Uji aktivitas analgesik senyawa baru turunan parasetamol pada mencit (*Mus musculus*) dengan metode *hot plate*. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* 2(2): 1-4.
- [9]. Budiati T, Suzana, Surdijati S. 2010. Sintesis, uji aktivitas analgesik dan anti-inflamasi senyawa benzoiltiourea tersubstitusi. *Majalah Farmasi Indonesia* 2(1): 68-76.
- [10]. Ching FP *et al.* 2009. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory compounds from *Stereospermum kunthianum* (Bignoniaceae). *International Journal of PharmTech Research* 4(1) : 1065-1068.
- [11]. Rinayanti A, Dewanti E, Adelina M. 2014. Uji efek antiinflamasi fraksi air daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfl.)Boerl.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.). *Pharm Sci Ress* 1(2): hlm 78-85.
- [12]. Putra CR. 2017. Uji anti-tukak lambung ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) pada tikus wistar yang terinduksi asetosal. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.
- [13]. Zahro F. 2016. Pengaruh sari buah pepino (*Solanum muricatum* Aiton) terhadap penyembuhan ulser dan gambaran histopatologi lambung mencit *Swiss-webster* serta pemanfaatannya sebagai *leaflet*. [Skripsi]. Jember: Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.
- [14]. Gunawan D, Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam: Farmakognosi jilid ke-1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9&106.



- [15]. Safitri. 2013. Uji efek analgesik infusa daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) terhadap mencit jantan galur swiss yang diinduksi dengan asam asetat [Naskah Publikasi]. Universitas Tanjungpura: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- [16]. Sentat T, Soemarie YB, Hakim LN. 2018. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle) pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan dengan metode induksi nyeri cara kimia. *Al Ulum Sains dan Teknologi* 4(1): 28-33.
- [17]. Sasongko H *et al.* 2016. Aktivitas analgesik ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) secara *in vivo*. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 01: hlm 83-89.
- [18]. Puspitaningrum I, Kusmita L. 2018. Efek analgetik tepung umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hall. F.) pada mencit jantan. *Media Farmasi Indonesia* 9(2): hlm 723-731.
- [19]. Hasan MM *et al.* 2014 analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Mallotus repandus* (Willd.) Muell.Arg. *BioMed Research International* hlm 1-7.
- [20]. Keswara YD, Handayani SR. 2019. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun inggu (*Ruta angustifolia* [L]Pers) pada tikus putih jantan. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research* 1(2): hlm 57-69.
- [21]. Sukini. 2018. Uji aktivitas ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan metode *tail flick*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- [22]. Pramitaningastuti AS, Anggraeny EN. 2017. Uji efektivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*. L) terhadap edema kaki tikus putih jantan galur wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 13(1): 8-14.
- [23]. Safrina N, Susanti R, Sari R. 2018. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol rimpang jeringau merah (*Acorus Sp.*) terhadap radang kaki tikus jantan galur wistar yang diinduksi karagenan. *CDK-265* 45(6):409-413.
- [24]. Sukmawati, Yuliet, Hardani R. 2015. Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun pisang ambon (*Musa paradisiacal* L.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi karagenan. *GALENKA Journal of Pharmacy* 1(2):126-132.
- [25]. Khaerati K, Rivani, Ihwan. 2017. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol uwi banggai ungu (*Dioscorea alata* L.) terhadap tikus putih galur wistar yang diinduksi putih telur. *Jurnal Farmasi Indonesia* 9(1): 40-46.
- [26]. Novadyanti. 2015. Uji aktivitas antiinflamasi dan anyipiretik ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa* Hassl) pada tikus putih jantan galur wistar. [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- [27]. Luliana S, Susanti R, Agustina E. 2017. Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak air herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur wistar yang diinduksi karagenan. *Traditional Medicine Journal* 22(3): hlm 199-205.



- [28]. Audina M, Yuliet, Khaerati K. 2018. Efektifitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sumambu (*Hyptis capitata* Jacq.) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi dengan karagenan. *Biocelebes* 12(2) : hlm 17-23.
- [29]. Fitriyani A, Winarti L, Muslichah S, Nuri. 2011. Uji antiinflamasi ekstrak metanol daun sirih (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus putih. *Majalah bat Tradisional* 16(1): hlm 34-42.
- [30]. Shafira AN, Kairupan CF, Durry MF. 2016. Gambaran histopatologik lambung tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi asam mefenamat dan diberi susu kental manis. *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 4(2):1-8.
- [31]. Septiana L. 2018. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) dan keamanan terhadap tukak lambung. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- [32]. Sakura YW, Jayawardhita AAG, Kardena IM, Sudimartini LM. 2017. Perbandingan gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi amoxicillin dikombinasikan dengan asam mefenamat dan deksametason. *Indonesia Medicus Veterinus* 6(3): 246-253.
- [33]. Susilawati NM, Yuliet, Khaerati K. 2016. Aktivitas gastroprotektif ekstrak etanol daun gedi hijau (*abelmoschus manihot* (L.) terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi dengan aspirin. *Online Journal of Natural Science* 5(3): 296-306.
- [34]. Biswani NKAT. 2017. Uji aktivitas anti-tukak lambung ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera* Linn.) pada lambung tikus wistar yang terinduksi asetosal. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- [35]. Islamiah MR, Sukohar A. 2017. Efektivitas kandungan zat aktif daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dalam melindungi mukosa lambung terhadap ketidakseimbangan faktor agresif dan faktor defensif lambung. *Majority* 7(1): 41-48.
- [36]. Saptarini NM, Suryasaputra D, Saepulhak AM. 2011. Analisis rasio proteksi antiulser sari buah pepino (*Solanum muricatum* Aiton) menggunakan mencit sebagai model hewan coba. *Majalah Obat Tradisional* 16(2): 75-80.
- [37]. Rahmaniyah NS. 2015. Uji efek penyembuhan ulkus dari perasan daging buah mangga podang urang (*Mangifera indica* L.) pada lambung tikus yang diinduksi aspirin. *Jurnal Wiyata* 2(2): 181-187.

