

UJI AKTIVITAS ANALGETIKA EKSTRAK nHEKSANA DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Delile) TERHADAP MENCIT SWISS WEBSTER JANTAN

¹Cici Delisma, ² Sri Peni Fitrianiingsih, ³Suwendar

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116
email: ¹cicidelisma77@gmail.com ²spffitrianiingsih@gmail.com ³suwendarronnie@yahoo.com

ABSTRAK

Nyeri merupakan persepsi sensorik mengganggu yang dapat ditangani dengan analgetika. Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) secara tradisional digunakan untuk mengobati nyeri seperti sakit gigi. Tujuan penelitian ini untuk menentukan aktivitas analgetika ekstrak n-heksana daun afrika dengan 2 metode pengujian dan menentukan dosis efektifnya. Metode *Tail Flick Test* untuk menguji aktivitas analgetika sentral dan metode *Writhing Test* untuk menguji aktivitas analgetika perifer. Mencit dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol yang diberi CMC Na, kelompok uji yang diberi ekstrak n-heksana daun afrika dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB serta kelompok pembandingan yang diberi tramadol (metode *Tail Flick Test*) dan aspirin (metode *Writhing Test*). Analisis data dilakukan dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD pada taraf kepercayaan 95% ($p \leq 0,05$). Pada metode *Tail Flick Test* mencit diinduksi nyeri dengan panas suhu $50 \pm 2^\circ\text{C}$ dan parameter yang diamati adalah total waktu yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekor. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan dosis 400 mg/kg BB secara signifikan memperpanjang waktu mencit menjentikkan ekor dibandingkan terhadap kontrol ($p=0,006$), tetapi aktivitasnya tidak sebanding dengan tramadol dosis 6,5 mg/kg BB ($p=0,000$). Pada metode *Writhing Test* mencit diinduksi nyeri dengan asam asetat 0,6%(v/v) dan parameter yang diamati adalah total geliat mencit selama pengamatan. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB secara signifikan menurunkan total geliat mencit dibandingkan terhadap kontrol ($p=0,000$), dengan nilai persen efektivitas sebesar 32,01%, 51,60% dan 82,41% yang lebih lemah dibandingkan aspirin dosis 65 mg/kg BB dengan persen efektivitas 100%.

Kata kunci: Daun afrika, *Vernonia amygdalina* Delile, analgetika, *Tail Flick Test*, *Writhing Test*.

ABSTRACT

Pain is a disturbing sensory perception that can be treated with analgesics. Bitter leaf (*Vernonia amygdalina* Delile) has traditionally known to treat pain such as toothache. This study aims to evaluate the analgesic activity of n-hexane extract of bitter leaf with 2 testing methods and determine the effective dose. Tail Flick Test method to test central analgesic activity and Writhing Test method to test peripheral analgesic activity. The tests were done on mice were divided into 5 groups. The control group that was administered to CMC Na, the test group was administered n-hexane extract of bitter leaf dose 100, 200 and 400 mg/kg BW and the comparable group was administered tramadol (for Tail Flick Test method) and aspirin (for Writhing Test method). Data were analyzed by ANOVA test, followed by LSD test at 95% confidence level ($p \leq 0,05$). In the Tail Flick Test method, the mice were induced by pain by heat at $50 \pm 2^\circ\text{C}$ and the observed parameters were the total time required of the mice to flick the

tail. The results showed that the extract at dose 400 mg/kg BW significantly prolonged the mice's flicking time compared to the control ($p=0,006$), but the activity was not comparable with tramadol dose of 6,5 mg/kg BW ($p=0,000$). In the Writhing Test method, the mice were induced by pain by acetic acid 0,6%(v/v) and the observed parameters were the total writhing of mice. The results showed that extracts with doses of 100, 200 and 400 mg/kg BW significantly decrease the total writhing of mice compared to control ($p=0,000$), with the effectivity percentage of 32,01%, 51,60% and 82,41% which are weaker than 65 mg/kg BW dose aspirin effectivity percentage 100%.

Keywords: Bitter leaf, *Vernonia amygdalina* Delile, analgesics, Tail Flick Test, Writhing Test.

1. PENDAHULUAN

Nyeri adalah merupakan mekanisme protektif tubuh, tetapi kebanyakan orang merasa terganggu, tidak nyaman dan tersiksa dengan rasa nyeri tersebut. Banyak orang yang tidak tahan dan berusaha untuk bebas dari rasa nyeri dengan menggunakan anti nyeri atau analgetika. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) merupakan obat yang paling luas penggunaannya sebagai anti nyeri. Penggunaan NSAIDs dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping pada berbagai organ tubuh seperti saluran cerna, jantung dan ginjal (Katzung, 2011).

Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Delile) merupakan sayuran yang umum digunakan masyarakat Afrika Barat sebagai bahan makanan dan obat. Tanaman ini secara tradisional digunakan untuk mengatasi sakit gigi, radang gusi, rematisme, anti malaria, anti diare, penyakit kelamin, penyakit usus dan sebagai antioksidan (Ofori et al., 2013). Berdasarkan kebiasaan masyarakat menggunakan daun afrika sebagai obat sakit gigi, maka diindikasikan daun afrika

memiliki aktivitas sebagai analgetika.

Menurut Njan dalam penelitiannya menyebutkan bahwa ekstrak air daun afrika memiliki efek sebagai analgetika dan penelitian Adedapo juga menyebutkan bahwa ekstrak aseton daun afrika memiliki efek sebagai analgetika (Njan et al., 2008; Adedapo et al., 2014). Merujuk pada penelitian yang telah dilakukan tersebut, pengujian aktivitas analgetika daun afrika yang telah ada terbatas pada senyawa polar yang diekstraksi dengan air, dan senyawa semipolar yang diekstraksi dengan aseton. Padahal Pudjiastuti dalam penelitiannya menunjukkan bahwa minyak atsiri yang merupakan senyawa nonpolar adalah komponen yang berperan dalam menghasilkan aktivitas analgetika dari 31 tanaman yang diteliti dan memiliki efek analgetika (Pudjiastuti, 1999). Selain itu menurut penelitian Grover et al, senyawa nonpolar lain seperti steroid juga memiliki aktivitas sebagai analgetika, dimana steroid terbukti memiliki efek analgetika dan antiinflamasi (Grover, et al., 2007). Berdasarkan uraian latar belakang di atas, timbul beberapa

permasalahan, yaitu apakah ekstrak n-heksana daun afrika menghasilkan efek analgetika, berapakah dosis yang efektif sebagai analgetika, apakah efek analgetika yang dihasilkan termasuk kedalam analgetika perifer atau sentral dan bagaimana potensi ekstrak n-heksana daun afrika jika dibandingkan dengan pembanding.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi ada tidaknya aktivitas analgetika dari ekstrak n-heksana daun afrika, menetapkan dosis yang paling efektif sebagai analgetika, mengetahui aktivitas analgetika perifer atau sentral yang dihasilkan, serta mengetahui potensi ekstrak n-heksana daun afrika sebagai analgetika jika dibandingkan dengan pembanding.

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi mengenai efek analgetika dari ekstrak daun afrika, memberikan data ilmiah mengenai efek analgetika ekstrak n-heksana daun afrika untuk penelitian selanjutnya, serta sebagai penelitian awal yang dapat dikembangkan untuk memperoleh obat herbal baru.

2. METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit, maserator, *rotary vacuum evaporator*, cawan penguap, gelas kimia, penangas air, termometer, sonde oral, lanset, alat suntik, alat uji *Writhing Test* (geliat) dan stopwatch. Bahan yang digunakan pada

penelitian adalah simplisia daun afrika, n-heksana, akuades, suspensi CMC Na, aspirin, tramadol dan larutan asam asetat 0,6 %. Hewan uji yang digunakan adalah mencit Swiss Webster jantan dengan berat antara 29 sampai 40 g sebanyak 25 ekor. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset dan Laboratorium Hewan Farmasi Universitas Islam Bandung.

Pengujian aktivitas analgetika dilakukan dengan metode *Tail Flick Test* (jentik ekor) untuk menguji aktivitas analgetika sentral dan metode *Writhing Test* (geliat) dilakukan untuk menguji aktivitas analgetika perifer.

Hewan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol yang diberi suspensi CMC Na, kelompok 2, 3 dan 4 sebagai kelompok uji I, II dan III yang diberi ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB serta kelompok 5 sebagai kelompok pembanding yang diberi tramadol (metode *Tail Flick Test*) dan aspirin (metode *Writhing Test*).

Metode *Tail Flick Test* menggunakan panas sebagai penginduksi nyeri. Rasa nyeri diperlihatkan dalam bentuk respon gerakan menjentikkan ekor oleh mencit tersebut ketika ekor diinduksi panas dengan air pada penangas suhu $50 \pm 2^\circ\text{C}$. Waktu yang dibutuhkan oleh mencit untuk menjentikkan ekornya kemudian diukur (Goyal et al., 2013).

Metode *Writhing Test* dilakukan dengan metode Koster et al (1959) dimana induksi nyeri menggunakan larutan asam asetat 0,6 % (10 ml/Kg BB) yang diberikan secara intraperitoneal (Adedapo, 2014). Rasa nyeri pada mencit diperlihatkan dalam bentuk respon gerakan menggeliat yaitu kedua pasang kaki ke depan dan ke belakang serta perut yang menekan lantai (Tasleem et al., 2014).

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dan analisis LSD. Analisis ANOVA dinyatakan dalam rata-rata \pm SD, dimana hasil pengujian signifikan jika $p \leq 0,05$. Analisis lanjutan LSD dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%. (Marlyne, 2012; Adedavo et al., 2014; Adiukwu et al., 2011).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas analgetika dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode *Tail Flick Test* (jentik ekor) dan metode *Writhing Test* (geliat). Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Bandung dengan nomor surat 811/UN.6.C.10/PN/2017.

Hewan yang digunakan sebagai objek penelitian diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, dengan tujuan untuk memberikan waktu kepada hewan beradaptasi dengan lingkungan baru dan untuk mengurangi stres.

3.1 Metode *Tail Flick Test* (Jentik Ekor)

Pada pengujian dengan metode jentik ekor, hewan diberi induksi nyeri berupa panas pada suhu $50 \pm 2^\circ\text{C}$. Suhu diatas 48°C dapat menyebabkan peransangan kuat pada reseptor nyeri sehingga menghasilkan sensasi nyeri yang hebat (Nair dan Peate, 2015). Induksi diberikan sama pada setiap hewan yaitu dengan mencelupkan 3 cm ekor hewan kedalam air panas. Selanjutnya dihitung waktu yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekornya pada waktu ke 30, 60, 90 dan 120 menit. Total waktu yang dibutuhkan hewan untuk menjentikkan ekornya pada rentang waktu ke 30, 60, 90 dan 120 menjadi parameter yang dianalisis. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD.

Analisis ANOVA dilakukan untuk menentukan ada tidaknya perbedaan antar kelompok, dimana analisis menunjukkan hasil signifikan dengan $P = 0,000$, yang berarti bahwa terdapat perbedaan total waktu rata-rata yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekornya antar kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, dilakukan uji analisis lanjutan dengan *Post Hoc* yaitu LSD. Hasil analisis dengan LSD pada setiap kelompok terhadap kontrol dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perbandingan Total Waktu Menjentikkan Ekor Setiap Kelompok Terhadap Kontrol

Kelompok	Rata – rata waktu ± SD (detik)	p (Sig)
Kontrol	12.22 ± 2.15	-
Uji I (100 mg/kgBB)	12.91 ± 2.07	0.756
Uji II (200 mg/kgBB)	14.08 ± 2.67	0.402
Uji III (400 mg/kgBB)	19.86 ± 2.51	0.006
Tramadol (6.5 mg/kgBB)	50.51 ± 6.02	0.000

Dari hasil analisis LSD tersebut terlihat bahwa total waktu rata-rata mencit menjentikkan ekornya pada kelompok kontrol dan kelompok pembanding berbeda bermakna karena nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa total waktu rata-rata mencit menjentikkan ekornya pada kelompok pembanding lebih panjang dari kelompok kontrol yang berarti metode uji valid dan prosedur pengujian yang dilakukan sudah benar.

Selanjutnya dari hasil analisis LSD sediaan uji terhadap kontrol dapat terlihat bahwa sediaan uji I (Dosis 100 mg/kg BB) dan II (Dosis 200 mg/kg BB) menunjukkan hasil tidak berbeda bermakna terhadap kontrol sebab nilai $p > 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa total waktu rata-rata mencit menjentikkan ekornya pada kelompok uji I dan uji II tidak berbeda dengan kelompok kontrol yang berarti bahwa sediaan uji ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB tidak memiliki aktivitas

analgetika ketika diuji dengan metode jentik ekor. Sedangkan sediaan uji III (Dosis 400 mg/kg BB) menunjukkan hasil berbeda bermakna terhadap kontrol karena nilai $p < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa total waktu rata-rata mencit menjentikkan ekornya pada kelompok uji III lebih panjang dari kelompok kontrol yang berarti bahwa sediaan uji ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki aktivitas sebagai analgetika.

Kemudian untuk membandingkan aktivitas analgetika dari sediaan uji III terhadap pembanding tramadol, dilihat dari hasil analisis LSD kelompok uji III terhadap kelompok pembanding. Analisis menunjukkan hasil signifikan dengan $p = 0,000$, hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan total waktu rata-rata yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekornya antara kelompok uji III dengan kelompok pembanding, yang berarti bahwa sediaan uji III dengan dosis 400 mg/kg

BB tidak setara dengan pembanding tramadol dosis 6,5 mg/kg BB.

Berdasarkan analisis tersebut terlihat bahwa ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki aktivitas sebagai analgetika sentral, tetapi aktivitasnya tidak sebanding dengan tramadol 6,5 mg/Kg BB.

3.2 Metode *Writhing Test* (Geliat)

Pada pengujian dengan metode geliat, mencit yang digunakan merupakan hasil *wash out* selama 14 hari setelah selesai diuji dengan metode pertama. *Wash out* dilakukan untuk menghindari efek yang mungkin ditimbulkan dari pengujian sebelumnya, memberikan waktu kepada tubuh mencit untuk memperbaiki diri jika ada kerusakan akibat pengujian metode sebelumnya dan memberikan waktu agar metabolisme tubuh mencit berjalan normal kembali seperti sebelum pengujian.

Mencit yang telah selesai *wash out* dibagi kembali menjadi 5 kelompok, kemudian diberi induksi nyeri berupa induksi kimia dengan asam asetat 0,6% yang diberikan secara intraperitoneal (i.p). Asam asetat merupakan zat nyeri yang potensinya kecil karena mengandung ion hidrogen. Adanya ion

hidrogen dapat menurunkan nilai pH dibawah 6, sehingga menyebabkan rasa nyeri yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ion hidrogen (Mutschler, 1991). Asam asetat ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan atau gangguan metabolisme jaringan jika disuntikkan dibawah kulit, dimana adanya jaringan yang rusak menyebabkan sel-sel membebaskan mediator nyeri yang dapat merangsang reseptor nyeri (Guyton, 2007). Nyeri yang dirasakan oleh hewan uji dengan induksi asam asetat diinterpretasikan dalam bentuk geliat. Respon geliat yang ditunjukkan mencit setelah diberi induksi nyeri dihitung setiap rentang waktu 5 menit selama 30 menit pengujian. Total geliat yang ditunjukkan oleh mencit selama 30 menit pengamatan menjadi parameter yang dianalisis. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD.

Analisis dengan ANOVA menunjukkan hasil signifikan dengan $P = 0,000$, hasil tersebut dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan total geliat rata-rata antar kelompok karena nilai $p < 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan LSD. Hasil LSD tercantum dalam **Tabel 2**.

Tabel 2. Total Geliat Mencit Setiap Kelompok Terhadap Kontrol

Kelompok	Rata – rata geliat ± SD (detik)	p (Sig)
Kontrol	84.40 ± 2.88	-
Uji I (100 mg/kgBB)	68.40 ± 3.78	0.000
Uji II (200 mg/kgBB)	58.60 ± 2.61	0.000
Uji III (400 mg/kgBB)	43.20 ± 1.92	0.000
Aspirin (65 mg/kgBB)	34.40 ± 3.58	0.000

Dari hasil analisis LSD tersebut terlihat bahwa total geliat rata-rata antara kelompok kontrol dan kelompok pembanding berbeda bermakna karena nilai $p < 0,05$. Hal ini tersebut menunjukkan bahwa total geliat rata-rata pada kelompok pembanding lebih sedikit dari kelompok kontrol yang berarti metode uji valid dan prosedur pengujian yang dilakukan sudah benar.

Untuk membandingkan aktivitas analgetika dari sediaan uji terhadap pembanding aspirin, dilihat dari hasil analisis LSD kelompok uji terhadap kelompok pembanding. Analisis menunjukkan hasil signifikan dengan $p = 0,000$ yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara total geliat rata-rata kelompok uji I, II dan III dengan kelompok pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan uji I, II dan III yang mengandung ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg

BB tidak setara dengan pembanding aspirin dosis 65 mg/kg BB.

Sedangkan untuk membandingkan efektivitas analgetika dari sediaan uji terhadap pembanding aspirin dilakukan dengan membandingkan persen proteksi kelompok uji terhadap persen proteksi kelompok pembanding. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa persen efektivitas sediaan uji I, II dan III adalah 32,01 %, 51,60 % dan 82,41 %. Persen efektivitas tersebut masih lebih lemah dibandingkan aspirin dosis 65 mg/kg BB dengan persen efektivitas 100%.

Berdasarkan hasil analisis terlihat bahwa ekstrak n-heksana daun afrika dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB memiliki aktivitas sebagai analgetika perifer tetapi aktivitasnya sebagai analgetika tidak sebanding dengan aspirin 65 mg/Kg BB.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun afrika memiliki aktivitas analgetika ketika diuji dengan metode

Tail Flick Test (jentik ekor) dan metode *Writhing Test* (geliat). Senyawa yang diduga memiliki aktivitas sebagai analgetika adalah minyak atsiri (Monoterpen dan Sesquiterpen) serta steroid.

Minyak atsiri dapat menghambat aktivitas enzim siklooksigenase sehingga sintesis prostaglandin sebagai salah satu mediator nyeri juga terhambat (Puspitasari, *et al.*, 2003). Hal tersebut didukung oleh penelitian Sousa *et al* (2008) yang menunjukkan bahwa minyak atsiri dalam daun *candeia* (*Eremanthus erythropappus*) dari suku asteraceae memiliki aktivitas analgetika (Sousa *et al.*, 2008). Ekstrak n-heksana daun afrika juga mengandung minyak atsiri dan daun afrika merupakan tanaman dari suku yang sama dengan *candeia*, sehingga diduga minyak atsiri tersebut yang berperan dalam menghasilkan aktivitas analgetika. Selain minyak atsiri, senyawa lain yang diduga memiliki aktivitas analgetika adalah steroid. Steroid memberikan efek analgetika walaupun mekanisme kerjanya tidak jelas. Hal tersebut mungkin berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi yaitu dengan menghambat produksi berbagai faktor peradangan. Adanya aktivitas antiinflamasi mengakibatkan penurunan produksi berbagai mediator inflamasi serta dapat memperkuat dan mempertahankan persepsi nyeri (Grover, *et al.*, 2007).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksana daun afrika memiliki aktivitas sebagai analgetika sentral ketika diuji dengan metode *Tail Flick Test* dan analgetika perifer ketika diuji dengan metode *Writhing Test*. Pada metode *Tail Flick Test*, ekstrak dosis 400 mg/kg BB secara signifikan memperpanjang waktu mencit menjentikkan ekor dibandingkan terhadap kontrol, tetapi aktivitasnya tidak sebanding dengan tramadol dosis 6,5 mg/kg BB. Pada metode *Writhing Test*, ekstrak dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB secara signifikan menurunkan total geliat mencit dibandingkan terhadap kontrol, dengan nilai persen efektivitas sebesar 32,01%, 51,60% dan 82,41% yang lebih lemah dibandingkan aspirin dosis 65 mg/kg BB dengan persen efektivitas 100%.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada semua pihak yang telah terlibat langsung maupun tidak langsung dalam penelitian, terutama kepada pihak yang membantu dalam membiayai penelitian ini yaitu Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Islam Bandung (Unisba).

DAFTAR PUSTAKA

Adedavo, A.A., Aremu O.J. and Ademola A.O., 2014. Anti-Oxidant, Anti-Inflammatory and Antinociceptive

- Properties of the Acetone Leaf Extract of *Vernonia Amygdalina* in Some Laboratory Animals. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **4**(2), 591-598.
- Adikuwu, P.C., Amon and Nambatya. (2011). Pharmacognostic, antiplasmodial and antipyretic evaluation of the aqueous extract of *Vernonia amygdalina* leaf, *International Journal. Biol. Chem. Sci*, **5**(2), 709-716.
- Goyal, M., M.Ghosh B.P.N. and Sasmal D., 2013. Analgesic and anti-inflammatory studies of cyclopeptide alkaloid fraction of leaves of *Zizyphus nummularia*, *Saudi Journal of Biological Sciences*, **20**(1), 365-371.
- Grover, V.K., Babu, Ramesh, and Bedi, S.P.S., 2007. Steroid Therapy - Current Indications in Practice. *Indian Journal of Anaesthesia*, **51**(5), 389.
- Guyton, A.C dan John E.Hall., 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran; alih bahasa, Irawati, dkk; editor edisi bahasa Indonesia, Luqman Yanuar Rachman, dkk Edisi 11*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 625-630.
- Katzung, B.G., 2011. *Farmakologi Dasar & Klinik, Edisi 10, Diterjemahkan oleh Aryandhito Widhi N, Leo Rendy, Linda Dwijayanthi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 638.
- Marlyne, Riza., 2012. *Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Bunga Mawar (Rosa chinensis Jacq.) Pada Mencit Yang Diinduksi Asam Asetat* [Skripsi], Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, 22.
- Nair, Muralithran dan Peate Ian., 2015. *Dasar-Dasar Patofisiologi Terapan, Edisi Kedua*. Bumi Medika, Jakarta, 469-480.
- Njan, anoka., Buluz Adzu, Amon G, Agaba D.B., Silvia Díaz-Llera and David R.B., 2008. The Analgesic and Antiplasmodial Activities and Toxicology of *Vernonia amygdalina*. *Journal Med Food*, **11**(3), 574-581.
- Ofori, P., Anjarwalla R., Jamnadass P.C., Stevenson and Smith, P., 2013. *Pesticidal Plant Leaflet Vernonia amygdalina Del. World agroforestry center*. The University of Greenwich, ISBN 978-92-9059-348-5, 1.
- Pudjiastuti, N.H., 1999. Artikel : Penelusuran Beberapa Tanaman Obat Berkhasiat Sebagai Analgetik. *Media Litbang Kesehatan*, **10**(3), 23.
- Puspitasari, Hesti., Listyawati, Shanti dan Widiyani, Tetri., 2003. Aktivitas Analgetik Ekstrak Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan. *Biofarmasi*, ISSN: 1693-2242, **1**(2), 56.
- Sousa, Orlando V., Silvério, Marcelo S., Glauciemar, Del-Vechio-Vieira, Matheus, Filipe C., Yamamoto, Célia H., and Alves, Maria S., 2008. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves. *Journal of Pharmacy and Phamacology*, **60**(1), 771-777.
- Tasleem, F., Azhar, I., Nawazish, A., S. Perveen and Z. Alam Mahmood., 2014. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L, *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, **7**(1), S461-S468.