
UJI EFEK ANALGETIK ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL ALFALFA (*Medicago sativa*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

AA. Hesti Wulan S., Uning Rininingsih EM., dan Ika Puspitaningrum

STIFAR “Yayasan Pharmasi” Semarang

e-mail: ika2vita@gmail.com

ABSTRACT

Analgesic is a group of drugs to relieve pain without erasing consciousness and antipyretic is a compound that can reduce fever. This study aims to verify the effects of analgesic and antipyretic and determine the effective dose of alfalfa ethanol extract (*Medicago sativa*) as an analgesic-antipyretic. Twenty-five male Wistar rats were divided into five groups. Group I (negative control), rats were treated with CMC-Na 0.5%. Group II (positive control), rats were treated with paracetamol 50 mg/kg BW. Rats in group III, IV, and V were treated with a suspension of the alfalfa ethanol extract (50; 100 and 200) mg/kg BW. Pain stimuli conducted by dipping a rat's tail into 40 °C hot water for 10 seconds. Response time to a painful stimulus were measured before and 30 minutes after treatment. Fever in rats induced with 0.2 mL DPT vaccine intramuscularly. Rectal temperature was measured before treatment (initial temperature), 60 minutes after the vaccine, and 30 minutes after treatment. Data response time to the stimulus of pain and rectal temperature were statistically Analyzed with a one-way ANOVA and Scheffe test at 95% confidence level. The results showed that the alfalfa ethanol extract can improve the response time to pain stimulation and decrease the rectal temperature of fever-induced rats with a DPT vaccine. The effective dose of alfalfa ethanol extract as an analgesic-antipyretic is 200 mg/kg BW.

Key words: Alfalfa ethanol extract, analgesics, antipyretics

PENDAHULUAN

Nyeri dan demam banyak dialami oleh semua orang dari segala usia dan disebabkan oleh banyak hal. Nyeri menurut Merskey (1986) adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berkaitan dengan jaringan rusak atau jaringan yang cenderung rusak. Nyeri merupakan suatu perasaan subjektif pribadi dengan ambang toleransi nyeri yang berbeda-beda bagi setiap orang (Widiastuti, 2009).

Secara patofisiologis, demam adalah peningkatan *thermoregulatory set point* dari pusat hipotalamus yang diperantarai oleh *interleukin 1* (IL-1). Secara klinis, demam adalah peningkatan suhu tubuh 1 °C atau lebih besar diatas nilai rerata suhu normal. Sebagai respons terhadap perubahan *set point* ini, terjadi proses aktif untuk mencapai *set point* yang baru. Hal ini dicapai secara fisiologis dengan meminimalkan pelepasan panas dan memproduksi panas (El-Radhi dkk., 2009; Fisher dan Boyce 2005).

Senyawa yang berkhasiat sebagai analgetik-antipiretik diperlukan untuk mengatasi masalah nyeri dan demam. Analgetik adalah senyawa yang dapat mengurangi atau menghilangkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Sementara itu, antipiretik adalah senyawa yang dapat menurunkan demam (suhu tubuh tinggi) (Tjay dan Rahardja, 2008). Selain obat sintesis, bahan alam seperti obat tradisional juga dapat digunakan sebagai analgetik-antipiretik. Salah satu tanaman yang dipercaya dapat digunakan sebagai obat adalah Alfalfa (*Medicago sativa*).

Alfalfa merupakan salah satu jenis tanaman polong-polongan dengan habitat asli daerah subtropis yang dahulu sering digunakan sebagai tanaman hias dan pakan ternak. Akan tetapi, seiring dengan perkembangan zaman, pemanfaatan Alfalfa mulai diekspansi ke arah medis untuk kepentingan manusia. Daun alfalfa diyakini berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti arterosklerosis, kolesterol tinggi, sakit jantung, kanker paru-paru, kanker usus,

kanker prostat, diabetes, asam urat, reumatik, osteoporosis, gangguan pencernaan, penyakit ginjal, gangguan rambut kulit dan kuku, eksim, anemia, menstruasi tidak normal, keracunan, migrain dan lain-lain (Rahmayanti dan Sitanggang, 2006).

Penelitian terakhir membuktikan bahwa fraksi etil asetat ekstrak alfalfa dapat berefek antiinflamasi. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan flavonoid, saponin dan steroid (Kusmita, dkk. 2014). Flavonoid selain berefek antiinflamasi, juga diduga dapat berefek sebagai analgetik (Hossinzadeh, dkk., 2002) dan antipiretik. Flavonoid dan alkaloid diduga dapat menghambat sintesis prostaglandin E-2 (suatu mediator demam perifer) melalui penghambatan sintesa prostaglandin, lebih tepatnya endoperoksida (Ramaswamy, dkk. 1985). Penelitian mengenai uji analgetik antipiretik Alfalfa belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian diperlukan untuk melihat ada tidaknya efek analgetik antipiretik Alfalfa beserta dosis efektifnya.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan utama adalah herba alfalfa (*Medicago sativa*) tropis yang diperoleh dari perkebunan Selopass Boyolali. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar. Bahan-bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 96%, ammonia, AlCl_3 , anisaldehyd, asam sulfat, butanol, asam asetat, kloroform, metanol, parasetamol, vaksin DPT. tikus

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, seperangkat alat gelas, waterbath, batang pengaduk, kertas saring, cawan poselin, rotary evaporator, pipa kapiler, lempeng silika Gel GF 254, chamber, papan penyemprot, lampu UV, botol semprot, timbangan hewan uji, spuit injeksi, sonde tikus dan thermometer.

Pembuatan Ekstrak Etanol Alfalfa

Sampel herba alfalfa ditimbang dan dilakukan sortasi basah. Herba alfalfa yang telah disortasi, dicuci bersih dan dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup akin hitam agar tidak terkena langsung sinar matahari. Setelah kering, simplisia disortasi kering dengan ditimbang kembali. Simplisia dibuat dalam bentuk serbuk dan diayak dengan ayakan no.30/40. Simplisia yang digunakan adalah simplisia yang lolos pada ayakan no.30 dan tidak lolos pada ayakan no.40. serbuk simplisia selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi.

Sebanyak 200 g serbuk herba alfalfa direndam dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari dan diaduk dengan bantuan shaker rotator selama dua jam, kemudian didiamkan selama 24 jam. Dilakukan penyaringan setelah diendapkan selama 24 jam sehingga terpisah antara filtrat (ekstrak etanol) dengan residu. Residu yang didapat ditambah lagi dengan 500 mL etanol 96% dan dilakukan proses yang sama selama lima hari. Semua filtrat dicampur dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Pengelompokkan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan 180 - 200 g. Sebanyak 25 ekor tikus dipuasakan selama 18 jam dengan tetap diberikan air minum. Selanjutnya tikus dibagi secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan (masing-masing lima ekor tikus). Tikus kelompok I (kontrol negatif) diberi perlakuan suspensi CMC Na 0,5% secara oral. Tikus kelompok II (kontrol positif) diberi suspensi parasetamol 50 mg/kg BB secara oral. Tikus Kelompok III, IV dan V berturut-turut diberikan perlakuan ekstrak etanol alfalfa (50, 100 dan 200) mg/kg BB.

Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Alfalfa

Sebelum perlakuan sediaan uji, ekor tiap-tiap tikus dicelupkan dalam penangas air suhu 40°C, dan selanjutnya dicatat waktu yang diperlukan tikus untuk menjentikkan ekornya keluar dari penangas air. Tiap rangkaian pengamatan dilakukan tiga kali, dalam selang waktu dua menit. Data respon waktu terhadap stimulus nyeri dari dua pengamatan terakhir dicatat dan dirata-rata sebagai respon normal tikus terhadap stimulus nyeri.

Sediaan uji diberikan pada masing-masing tikus sesuai kelompok perlakuan secara oral. Pengamatan data respon waktu terhadap rangsang nyeri dilakukan kembali pada menit ke-10 setelah pemberian sediaan uji. Jika tikus tidak menjentikan ekornya keluar air panas (suhu 40 °C) dalam waktu 10 detik, maka dapat dianggap bahwa tikus tidak menyadari stimulus nyeri tersebut. Respon waktu terhadap stimulus nyeri dilakukan kembali pada menit ke-20, 30, 60 dan 90 setelah pemberian sediaan uji.

Uji Efek Antipiretik Ekstrak Etanol Alfalfa

Suhu rektal normal dari masing-masing tikus dicatat sebelum pemberian sediaan uji. Masing-masing tikus pada tiap kelompok perlakuan diinjeksi dengan 0,2 mL vaksin DPT secara intramuskular. Suhu rektal tiap tikus dicatat kembali tiap selang setengah jam. Sediaan uji diberikan pada masing-masing tikus pada saat tercapai puncak demam (empat jam setelah pemberian vaksin DPT). Suhu rektal tikus dicatat kembali pada menit ke-20,40, 60, 90, 120,150, dan 180 setelah pemberian sediaan uji.

Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa respon waktu terhadap stimulus nyeri dan suhu rektal. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji Shefee pada taraf kepercayaan 95%. Data dianalisis dengan menggunakan *Software SPSS release 16*.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Efek Analgetik Ekstrak Etanol Alfalfa

Metode uji analgetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode jentik ekor. Induksi untuk menimbulkan rasa nyeri yaitu rangsangan fisis berupa panas yang berasal dari air dalam penangas air yang sudah diatur suhunya, yaitu sebesar 40 °C. Langkah awal dilakukan orientasi terlebih dahulu untuk melihat respon hewan uji terhadap rangsangan nyeri, yaitu dengan cara mencelupkan ekor hewan uji ke dalam penangas air, dan dicatat waktu yang diperlukan tikus untuk menjentikkan ekornya keluar dari penangas air yang selanjutnya disebut sebagai data respon waktu terhadap stimulus nyeri. Hasil rata-rata orientasi data respon waktu terhadap stimulus nyeri sebagai respon normal tikus terhadap stimulus nyeri sebesar 2-4 detik. Data respon waktu terhadap stimulus nyeri setelah perlakuan sediaan uji hasil uji efek analgetik dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Data Respon Waktu terhadap Stimulus Nyeri Sebelum dan Setelah Perlakuan CMC-Na 0,5%, Parasetamol dan Ekstrak Etanol Alfalfa

Kelompok	Respon Waktu terhadap Stimulus Nyeri (detik)								
	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan (Menit ke-)						
	Jentik Normal \pm SD	10	20	30	60	90	120	150	Rata-rata \pm SD
CMC-Na 0,5%	2,45 \pm 0,42	2,80	2,94	2,63	3,29	3,49	3,10	2,61	2,98 \pm 0,08 ^b
Parasetamol 50 mg/KgBB	3,82 \pm 0,28	4,13	4,70	5,49	9,60	7,09	6,76	6,51	6,32 \pm 0,17 ^a
Ekstrak etanol 50 mg/kgBB	3,38 \pm 0,28	3,49	4,53	4,17	5,42	4,95	3,64	3,42	4,23 \pm 0,10 ^{ab}
Ekstrak etanol 100 mg/KgBB	3,67 \pm 0,25	3,68	3,76	4,01	8,35	6,51	4,62	3,83	4,96 \pm 0,15 ^{ab}
Ekstrak etanol 200 mg/KgBB	2,94 \pm 0,42	4,51	4,70	4,70	9,23	7,01	4,05	3,96	5,45 \pm 0,13 ^{ab}

Keterangan:

a: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok negatif dengan uji Mann-Whitney

b: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok positif dengan uji Mann-Whitney

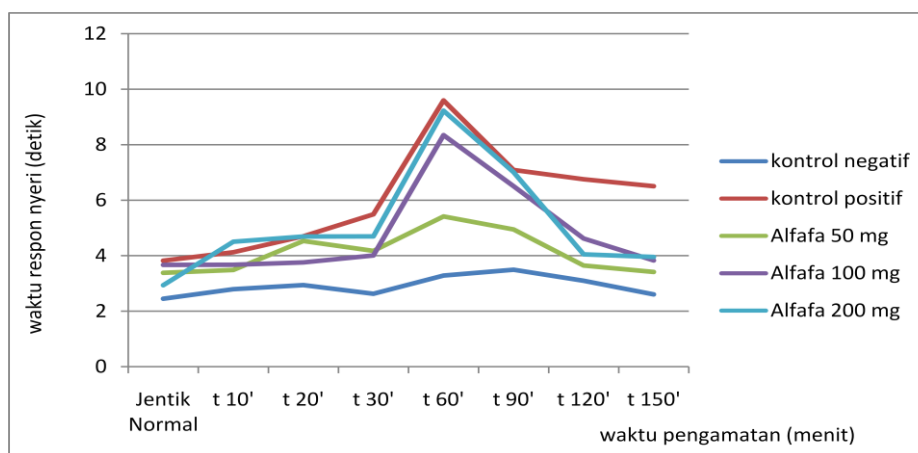
Hasil penelitian menunjukkan bahwa data respon waktu normal tikus terhadap stimulus nyeri adalah berkisar antara 2,45-3,82 detik. Perlakuan CMC-Na 0,5% pada tikus tidak mampu meningkatkan respon waktu terhadap stimulus nyeri yang signifikan ($p > 0,05$). Pada menit ke-60 dan 90, tikus kelompok kontrol negatif sedikit mengalami peningkatan respon waktu rangsangan

stimulus nyeri. Hal ini bukan berarti CMC-Na 0,5 % dapat meningkatkan ambang nyeri, namun mungkin disebabkan adanya respon alami tubuh saat mengalami nyeri. Tubuh lama kelamaan akan beradaptasi dengan adanya stimulus nyeri, karena sesungguhnya tubuh mempunyai analgetik alami yaitu senyawa endorfin. Hal ini yang menyebabkan tubuh akan meningkatkan kekuatannya dalam menahan rasa nyeri (Goodman dan Gilman, 2006).

Perlakuan parasetamol 50 mg/Kg BB dan ekstrak etanol alfalfa (50, 100 dan 200) mg/Kg BB mampu meningkatkan secara signifikan respon waktu terhadap stimulus nyeri ($p < 0,05$). Hal ini sudah mulai terlihat pada menit ke-10 setelah perlakuan sediaan uji. Puncak meningkatnya nilai ambang terhadap nyeri pada tikus yang mendapatkan perlakuan parasetamol 50 mg/KgBB terlihat pada menit ke-60 setelah perlakuan, dengan rata-rata respon waktu terhadap stimulus nyeri paling lama, yaitu sebesar 9,60 detik (gambar 1).

Parasetamol telah terbukti mempunyai kerja analgetik dan antipiretik, tetapi tidak mempunyai aktivitas anti-inflamasi. Parasetamol atau asetaminofen menghambat sintesis prostaglandin secara lemah dan tidak mempunyai efek pada agregasi platelet (Stringer, 2009). Parasetamol merupakan salah satu contoh analgetik perifer yang bekerja dengan cara menghambat penerusan mediator nyeri berikatan dengan reseptor yang ada di ujung-ujung syaraf perifer (nociceptor) (Tjay dan Rahardja, 2008).

Selanjutnya, kelompok perlakuan yang memberikan waktu rangsangan stimulus nyeri terlama adalah pemberian ekstrak Alfalfa mulai dosis 200 mg/kg BB, 100 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB. Berdasarkan hal ini, ekstrak etanol alfalfa terbukti mempunyai efek analgetik, dengan dosis efektif sebesar 200 mg/kgBB. Berdasarkan metode yang digunakan dalam penelitian ini, ekstrak etanol alfalfa 200 mg/kgBB memiliki efek analgetik yang hampir sama dengan parasetamol 50 mg/Kg BB. Diagram perubahan respon waktu terhadap stimulus nyeri sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat pada gambar 2.



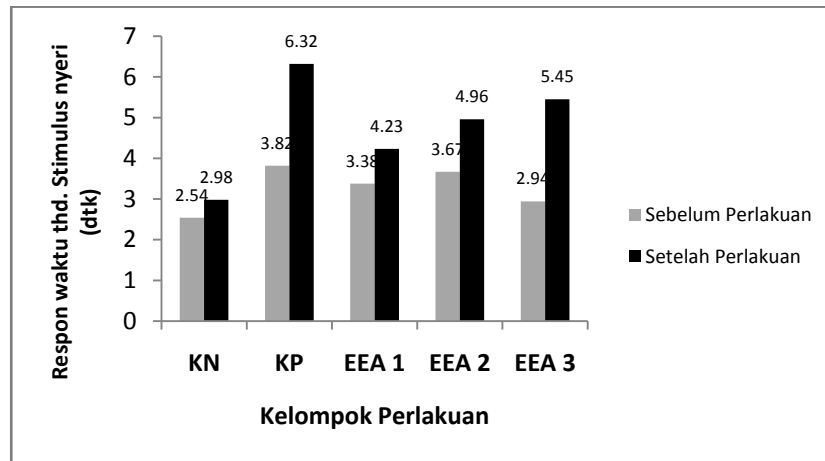
Gambar 1. Grafik rata-rata respon waktu terhadap stimulus nyeri tikus yang mendapat perlakuan CMC-Na, parasetamol dan ekstrak etanol alfalfa

Efek Antipiretik Ekstrak Etanol Alfalfa

Efek antipiretik ekstrak etanol alfalfa diuji pada tikus demam yang diinduksi secara kimia dengan 0,2 mL vaksin Difteri Pertusis Tetanus (DPT) secara intramuskular. Data penelitian berupa suhu rektal normal sebelum perlakuan sediaan uji, suhu rektal 60 menit setelah pemberian vaksin DPT dan 30 menit setelah pemberian sediaan uji. Suhu rektal diukur dengan cara memasukkan thermometer digital ke dalam rektal. Hasil penelitian (tabel II) menunjukkan bahwa suhu rektal awal tikus rata-rata berkisar antara 36,04-36,56 °C. Waktu puncak terjadinya demam yang disebabkan oleh vaksin DPT yang dihasilkan adalah 60 menit pemberian vaksin DPT. Suhu rektal tikus setelah pemberian vaksin DPT dengan rata-rata suhu berkisar antara (37,54-38,04) °C. Kenaikan suhu rektal sebesar 1°C sudah menunjukkan adanya demam pada tikus.

Seluruh hewan uji pada masing-masing kelompok perlakuan yang telah mengalami demam, diberi perlakuan CMC-Na 0,5% (kontrol negatif), parasetamol 50 mg/Kg BB (kontrol positif), dan

ekstrak etanol alfalfa (50, 100 dan 200) mg/kg BB tikus secara oral. Hasil uji antipiretik semua kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel II .



Keterangan:

KN : CMC-Na 0,5 %
 KP : Parasetamol 50 mg/Kg BB
 EEA 1 : Ekstrak etanol alfalfa 50 mg/Kg BB
 EEA 2 : Ekstrak etanol alfalfa 100 mg/Kg BB
 EEA 3 : Ekstrak etanol alfalfa 200 mg/Kg BB

Gambar 2. Diagram Perubahan Respon Waktu terhadap Stimulus Nyeri Sebelum dan Sesudah Perlakuan CMC-Na 0,5%, parasetamol dan ekstrak etanol alfalfa

Tabel II. Rata-rata Suhu Rektal (°C) Tikus Sebelum Perlakuan, Saat Demam dan Setelah Perlakuan CMC-Na0,5%, Parasetamol dan Ekstrak Etanol Alfalfa

Kelompok	Suhu Rektal (°C)								Rata-rata setelah perlakuan ±SD
	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan						
	Suhu awal ±SD	Suhu demam (60' setelah DPT) ±SD	T30	T60	T90	T120	T150	T180	
CMC-Na 0,5%	36,22±0,30	37,78±0,24	37,88	37,96	38,08	38,24	38,32	38,32	38,13 ± 0,15 ^b
Parasetamol 50 mg/Kg BB	36,26±0,39	38,04±0,40	37,88	37,78	37,42	37,08	36,82	36,64	37,27 ± 0,21 ^a
Ekstrak etanol alfalfa 50 mg/Kg BB	36,04±0,19	37,54±0,28	37,4	37,2	36,78	36,56	36,38	36,28	36,77 ± 0,16 ^{ab}
Ekstrak etanol alfalfa 100mg/Kg BB	36,56±0,24	37,9±0,16	37,66	37,38	36,8	36,48	36,2	35,92	36,74 ± 0,15 ^{ab}
Ekstrak etanol alfalfa 200mg/Kg BB	36,2±0,21	37,84±0,10	37,6	37,28	36,66	36,22	35,88	35,66	36,55 ± 0,10 ^{ab}

Keterangan:

a: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif dengan uji Scheffee
 b: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif dengan uji Scheffee

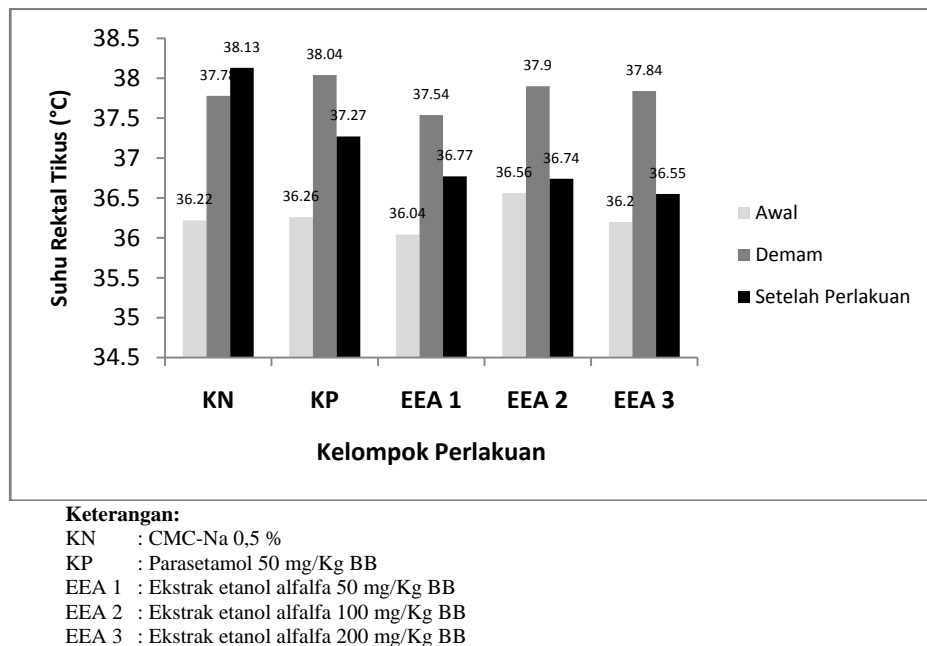
Vaksin DPT mengandung bakteri *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diptheriae* dan *Bordetella pertusis* yang telah diinaktifkan sehingga mekanisme kerjanya merangsang tubuh membentuk antibody terhadap penyakit dipteri, tetanus dan pertusis. Menurut Tjay dan Rahardja (2002), perlakuan 0,5 mL DPT pada tikus dan marmot dapat meningkatkan suhu tubuh sampai $\pm 38^{\circ}\text{C}$ setelah tiga jam penyuntikan. Pada penelitian ini, suhu setelah penyuntikan vaksin DPT tidak sampai mencapai 38°C . Hal ini mungkin disebabkan karena dosis yang digunakan hanya 0,2 mL. Namun hewan uji dalam penelitian ini sudah dapat dikatakan demam, karena menurut pendapat John *et al* dalam Sulasmirah (2012) mengatakan bahwa suhu normal tubuh tikus yaitu $37,4^{\circ}\text{C}$.

Berdasarkan tabel II, tikus pada kelompok kontrol negatif terlihat terus mengalami peningkatan suhu rektal seiring dengan berjalannya waktu pengamatan. Hal ini menunjukkan

bahwa hewan uji yang diberi CMC-Na 0,5% tetap dalam keadaan demam. CMC-Na bukan merupakan obat antipiretik, namun berguna sebagai *suspending agent* yaitu suatu zat yang dapat mendispersikan ekstrak etanol alfalfa dalam air karena ekstrak etanol alfalfa tidak larut dalam air.

Kelompok kontrol positif menunjukkan adanya penurunan suhu rektal setelah mengalami demam. Hal ini menunjukkan bahwa parasetamol 50 mg/Kg BB memang telah terbukti secara klinis sebagai antipiretik. Parasetamol telah terbukti mempunyai kerja analgetik dan antipiretik, tetapi tidak mempunyai aktivitas anti-inflamasi. Parasetamol atau asetaminofen menghambat sintesis prostaglandin secara lemah dan tidak mempunyai efek pada agregasi platelet (Stringer, 2009). Parasetamol merupakan salah satu contoh analgetik perifer yang bekerja dengan cara menghambat penerusan mediator nyeri berikatan dengan reseptor yang ada di ujung-ujung syaraf perifer (nociceptor) (Tjay dan Rahardja, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan suhu rektal tikus yang mendapatkan perlakuan ekstrak etanol alfalfa (50, 100 dan 200) mg/Kg BB lebih rendah dari pada tikus kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol alfalfa terbukti memiliki efek antipiretik. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol alfalfa 50 mg/Kg BB sudah efektif menurunkan suhu rektal tikus demam yang diinduksi vaksin DPT. Diagram perubahan suhu rektal awal, demam dan sesudah perlakuan sediaan uji dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Diagram perubahan suhu rektal tikus awal (sebelum perlakuan), demam dan sesudah perlakuan CMC-Na 0,5%, parasetamol dan ekstrak etanol alfalfa

KESIMPULAN

Ekstrak etanol Alfalfa (*Medicago sativa*) dapat berefek analgetik dan antipiretik pada tikus putih jantan galur Wistar. Dosis efektif ekstrak etanol alfalfa (*Medicago sativa*) sebagai analgetik-antipiretik sebesar 50 mg/kg BB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan pada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana bantuan penelitian melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

- El-Radhi A.S., Carroll J., Klein N. and Abbas A., 2009, Fever, dalam El-Radhi S.A., Carroll J. and Klein N. (Eds.), *Clinical Manual of Fever in Children*, Edisi ke-9, 1-24, Springer-Verlag, Berlin
- Fisher R.G. and Boyce T.G., 2005, Fever and Shock Syndrome, dalam Fisher R.G. and Boyce T.G. (Eds.), *Moffet's Pediatric Infectious Diseases: a Problem-Oriented Approach*. Edisi ke-4, 318-373, Lippincott William & Wilkins, New York
- Goodman and Gilman, 2006, *The Pharmacologic Basis of Therapeutics*, 11th Ed., McGraw-Hill Companies. Inc, New York
- Hossinzadeh H., Ramezani M., Fedishei M. and Mahmoudi M., 2002, Antinociceptive, Anti-Inflammatory and Acute Toxicity Effects of *Zhumeria majdae* Extracts In Mice and Rats, *Phytomedicine*, **2002**(9), 135
- Kusmita L., Puspitaningrum I. dan Setyani W., 2014, Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Alfalfa (*Medicago sativa*) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Karagenin, **Proseding**, Seminar Nasional “Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal sebagai Agen Kemopreventif pada Terapi Kanker”, Universitas Wahid Hasyim, Semarang
- Merskey H., 1986, *Classification of Chronic Pain Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms*, Second Edition, IASP Press, Seattle
- Rahmayanti dan Sitanggang, 2006, *Taklukkan Penyakit dengan Klorofil Alfalfa*, PT.Agromedium Pustaka, Jakarta
- Ramaswamy S., Pillai N.P., Gopalkrishnan V., Parmar N.S. and Ghosh M.N., 1985, Analgesic Effect of O-(α -hydroxyethyl) Rutoside in Mice, *Indian J. Exp. Biol.*, **1985**(23), 219
- Stringer J.L., 2009, *Konsep Dasar Farmakologi*, EGC, Jakarta
- Sulasmirah, 2012, Uji Efek Antipiretik Ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr.) pada Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Jantan, *Skripsi*, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Bengkulu.
- Tjay T.H. dan Rahardja K., 2008, *Obat-Obat Penting*, Edisi V, PT Elex Media Komputindo, Jakarta
- Widiastuti, M. 2009. *Farmakologi Keperawatan*. Jakarta : LIPI