

Aktivitas Antinosiseptif Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss

*Antinociceptive Activity of Dichloromethane Fraction of Kratom Leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.) by Oral Route In Male Swiss Mice*

Sri Luliana*, Robiyanto, Muhamad Rido Islamy

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak. 78124

ABSTRAK

Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) diketahui memiliki efek analgesik opioid. Senyawa yang terkandung dalam daun kratom adalah mitraginin yang memiliki afinitas kuat pada reseptor opioid. Daun kratom memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai antinosiseptif. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antinosiseptif dan persen daya antinosiseptif fraksi diklorometana pada mencit jantan Swiss. Metode uji penelitian ini menggunakan *hot plate test*. Hewan uji sebagai subjek dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal diinduksi CMC Na 0,5%, kelompok morfin dengan dosis 5,46 mg/kgBB, kelompok fraksi diklorometana daun kratom dengan dosis masing-masing 70, 140 dan 280 mg/kgBB. Pengamatan dicatat mulai dari 0, 15, 30, 45, 60, 90, 105 dan 120 menit. Respon mencit berupa melompat, menjilati dan menarik kaki ke belakang diamati sebagai parameter. Hasil uji *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test LSD* menunjukkan bahwa aktivitas antinosiseptif fraksi diklorometana dengan dosis 70 (51%), 140 (81%), dan 280 mg/kgBB (86%) berbeda signifikan dengan kelompok normal. Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi diklorometana daun kratom memiliki aktivitas antinosiseptif. Fraksi diklorometana daun kratom dosis 3 (280 mg/kgBB) memiliki persen daya lebih tinggi daripada dosis 1 (70 mg/kgBB) dan dosis 2 (140 mg/kgBB).

Kata kunci : *alkaloid; antinosiseptif; fraksi diklorometan; Mitragyna speciosa Korth*

ABSTRACT

Kratom leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.) is known to have an opioid-like analgesic effect. One of the main compound in kratom leaf is mitragynine which has strong affinity to opioid receptor. Kratom leaf has many pharmacological effects, one of them is as an antinociceptive agent. The purpose of this research was to investigate the antinociceptive effect of dichloromethane fraction from kratom leaf and determine the percentage of antinociceptive activity on male Swiss mice. The method used in this study was hot plate method. The animal subjects were divided into five groups: normal group was induced with CMC Na 0.5%, control group with morphine 5.46 mg/kgBW, and group with dichloromethane fraction of kratom leaf doses 70 (51%), 140 (81%), and 280 mg/kgBW (86%) respectively. The subject response like jump, lick or lift up the back leg was considered as latent time parameter. The latent time was recorded at 0, 15, 30, 45, 60, 90, 105 and 120 minutes with cut-off time 15 seconds. Result data were analysed using *One Way ANOVA* and *Post Hoc Test LSD*. It showed the antinociceptive effect of dichloromethane fraction at dose 70, 140 and 280 mg/kgBW were significantly difference ($p < 0.05$) with normal group. The conclusion of this study is the dichloromethane fraction of kratom leaf has antinociceptive activity. The percentage of antinociceptive from fraction group at dose 280 mg/kgBW was higher than the other two dose-groups (140 and 70 mg/kgBW).

Keywords: *alkaloids; antinoceptive; dichloromethane fraction; Mitragyna speciosa Korth*

*Corresponding author

Email : lulisri@gmail.com

PENDAHULUAN

Kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan salah satu tanaman herbal yang berasal dari Asia tenggara terutama dari Malaysia dan Thailand (Hassan *et al.*, 2013). Di Indonesia, kratom merupakan tanaman khas Kalimantan khususnya daerah Putusibau, Kalimantan Barat. Bagian tanaman ini yang banyak dimanfaatkan adalah bagian daun. Masyarakat sekitar mengenal daun kratom dengan sebutan daun purik (Ridayani, *et al.*, 2013). Umumnya kratom dikonsumsi dengan cara dikunyah, dirokok, dan diseduh seperti teh (Warner *et al.*, 2015).

Secara empiris daun kratom memiliki beberapa khasiat sebagai obat herbal, diantaranya sebagai tapal pada luka, obat demam, meringankan nyeri otot, mengurangi nafsu makan, dan mengobati diare (Jansen & Prast, 1988; Hassan *et al.*, 2013). Beberapa penelitian tentang efek farmakologi daun kratom juga telah diteliti seperti aktivitas analgesik, stimulan, antidepresan, antiinflamasi, antinosiseptif, antioksidan, dan antibakteri (Reanmongkol *et al.*, 2007; Idayu *et al.*, 2011; Mossadeq *et al.*, 2009; Parthasarathy *et al.*, 2009). Ekstrak alkaloid dari daun *Mitragyna speciosa* menunjukkan efek antidepresan dan dapat mengurangi efek ketergantungan alkohol (Cheaha *et al.*, 2015).

Pengujian aktivitas antinosiseptif daun kratom (*Mitragyna speciosa*) telah dilakukan yang mana efek yang dihasilkan tergantung dari dosis dan jenis ekstrak yang digunakan (Criddle, 2015; Sabetghadam *et al.*, 2010; Matsumoto *et al.*, 2004). Ekstrak alkaloid, metanol dan air daun kratom dengan dosis masing-masing 20, 200 dan 400 mg/kgBB secara signifikan memperpanjang waktu latensi terhadap respon nosiseptif dibandingkan dengan kelompok kontrol pada *hot plate test* dan *tail flick test* (Sabetghadam *et al.*, 2010). Pada penelitian lain menggambarkan bahwa mitraginin 10,5 mg/kg lebih poten memberikan respon efek antinosiseptif dibandingkan ekstrak alkaloid 50 mg/kg (Sabetghadam *et al.*, 2013). Mitraginin merupakan senyawa marker yang mayor dalam ekstrak daun kratom yang dapat memberikan efek antinosiseptif, tetapi secara kuantitatif kandungan mitraginin berbeda dalam tanaman yang diambil dari wilayah yang berbeda. Kandungan mitraginin dalam ekstrak daun kratom yang diambil dari berbagai wilayah di Malaysia memperlihatkan hasil yang berbeda (Parthasarathy *et al.*, 2013). Senyawa-senyawa alkaloid minor dalam daun kratom yang diperoleh dari Malaysia dan Thailand secara kuantitatif dan kualitatif juga berbeda (Takayama, 2004). Berdasarkan uraian di atas peneliti ingin mengetahui aktivitas antinosiseptif fraksi diklorometana dari ekstrak metanol daun kratom yang diperoleh dari daerah Putusibau Kalimantan Barat Indonesia dan berapa persen daya antinosiseptif dari fraksi diklorometana daun kratom. Oleh karena itu,

penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antinosiseptif fraksi diklorometana daun kratom yang diberikan secara oral pada mencit jantan Swiss.

METODE

Bahan Uji

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) yang diperoleh dari Desa Tanjung Jati, Kecamatan Putussibau Selatan, Kabupaten Kapuas Hulu, Provinsi Kalimantan Barat pada bulan Mei 2017, dan morfin tablet 30 mg (PT. Kimia Farma), diperoleh melalui jalur resmi dengan persetujuan Ketua Badan Pengelola Fakultas Farmasi Universitas Tanjungpura, serta atas persetujuan dari bagian direktur serta bagian Tata Usaha Rumah Sakit Pendidikan Universitas Tanjungpura berupa surat keterangan kepemilikan atau pembelian morfin dengan tujuan penelitian aktivitas antinosiseptif daun kratom. Bahan-bahan kimia dan plat KLT GF₂₅₄ diperoleh dari Merck.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini sudah lolos kaji etik hewan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura (*Ethical clearance* No. 7741/UN22.9/DL/2017). Mencit dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor.

Determinasi Tanaman

Tanaman kratom yang digunakan pada penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Tanjungpura.

Pembuatan Ekstrak dan Fraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Sebanyak 2,08 kg serbuk simplisia *Mitragyna speciosa* Korth. yang kering diekstraksi menggunakan pelarut metanol 96%. Penggantian pelarut setiap 1x24 jam dan dimaserasi selama 7x24 jam. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga didapat ekstrak yang kental.

Sebanyak 100 g ekstrak metanol daun kratom dilarutkan dalam 250 mL akuades. Selanjutnya dilakukan fraksinasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksan dan diklorometana. Fraksi diklorometana yang diperoleh kemudian dihilangkan pelarutnya dengan dikeringkan pada suhu ruang.

Standarisasi Ekstrak dan Fraksi

Standarisasi ekstrak dan fraksi dilakukan dengan pengamatan parameter spesifik meliputi skrining fitokimia dan pola kromatografi lapis tipis.

a. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, fenol, tanin, dan saponin (Hanani, 2015).

b. Pola Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak kental dilarutkan dalam metanol secukupnya. Selanjutnya larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen toluen : etil asetat (5 : 5). Fraksi diklorometana dilarutkan dalam diklorometana secukupnya. Larutan fraksi ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan eluen etil asetat : heksan (7 : 3). Kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Plat KLT selanjutnya disemprot pereaksi Dragendorff untuk melihat bercak pada plat KLT (Singh *et al.*, 2016).

Persiapan Hewan Uji

Sebelum dilakukan pengujian, mencit diadaptasikan (diaklimatisasi) selama dua minggu dalam kandang Laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Tanjungpura. Sebelum perlakuan, hewan uji ditimbang berat badannya dan diberi penandaan. Hewan uji yang digunakan adalah yang sesuai dengan kriteria penggunaan hewan uji dan telah lulus kaji etik.

Pengujian Aktivitas Antinosiseptif

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antinosiseptif adalah metode *hot plate*. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok normal (CMC Na 0,5%), kelompok kontrol positif (morfin 5,46 mg/kgBB mencit) serta kelompok dosis I, II dan III (fraksi diklorometana daun kratom 70, 140 dan 280 mg/kgBB mencit). Mencit diletakkan di atas *hot plate* pada suhu $55^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ setelah 30 menit pemberian sediaan uji secara oral pada masing-masing kelompok. Hewan uji diletakkan tidak lebih dari 15 detik (*cut off time*) untuk menghindari terjadinya kerusakan jaringan pada kaki mencit (Jayanthi & Jyoti., 2012). Respon mencit berupa melompat, menjilati, dan menarik kaki ke belakang dicatat sebagai data pengamatan (Sabetghadam *et al.*, 2010). Waktu ketika mencit diletakkan di atas *hot plate* hingga menunjukkan respon disebut sebagai waktu latensi dan dicatat menggunakan *stopwatch*. Pengamatan waktu latensi dilakukan selama 2 jam pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 90, 105 dan 120. Selanjutnya dihitung persen daya antinosiseptif berdasarkan data rata-rata waktu latensi dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Daya Antinosiseptif} = 1 - \frac{\text{AUC Kelompok Kontrol Normal}}{\text{AUC kelompok Uji}} \times 100 \%$$

Keterangan :

AUC = Luas area kurva waktu perlakuan vs Nilai rata-rata waktu latensi

Analisis Data

Analisa data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji *Saphiro -Wilk* untuk melihat normalitas data dan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Data yang terdistribusi normal dan homogen diuji menggunakan analisis *varians* (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* LSD untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna waktu latensi antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi, Ekstraksi dan Fraksinasi

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman kratom dengan nama spesies *Mitragyna speciose* Korth. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 373,81 gram dengan rendemen 17,97%. Selanjutnya hasil fraksinasi dari 100 gram ekstrak diperoleh fraksi diklorometana sebanyak 9,26 gram dengan rendemen 9,26%.

Standarisasi Ekstrak

Pengamatan parameter spesifik terdiri dari dua yaitu pemeriksaan organoleptik dan kadar sari larut air. Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan panca indera dan bertujuan untuk pengenalan awal ekstrak secara sederhana dan objektif. Pemeriksaan organoleptik meliputi pengamatan bentuk, warna, bau, dan rasa. Hasil pemeriksaan organoleptik pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia menyatakan bahwa ekstrak metanol daun kratom mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, fenol, dan saponin. Hasil skrining fraksi diklorometana daun kratom mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, steroid/terpenoid dan saponin. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak metanol daun kratom mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid dengan konsentrasi tinggi, sedangkan tanin dan steroid terdeteksi dengan konsentrasi rendah (Mossadeq *et al.*, 2009). Hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil pola kromatografi menggunakan penampak bercak Dragendorff menghasilkan warna jingga kecoklatan yang menandakan adanya senyawa alkaloid. Daun kratom dilaporkan mengandung 25 jenis senyawa alkaloid. Alkaloid mitraginin dan 7-hidroksimitraginin dipercaya merupakan senyawa aktif dalam tanaman ini. Kandungan total alkaloid dalam daun kratom sekitar 0,5-1,5% (Warner *et al.*, 2015). Hasil uji KLT dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Standarisasi Ekstrak dan Fraksi

Parameter	Ekstrak Metanol	Fraksi Diklorometana
Organoleptis		
• Bentuk	Kental	Kristal
• Warna	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman
• Bau	Khas	Khas
Kadar Sari Larut Air	1,33%	-
Susust Pengeringan	18,48%	-
Kadar Abu	1,66%	-

Tabel 2. Hasil Skrining Ekstrak dan Fraksi

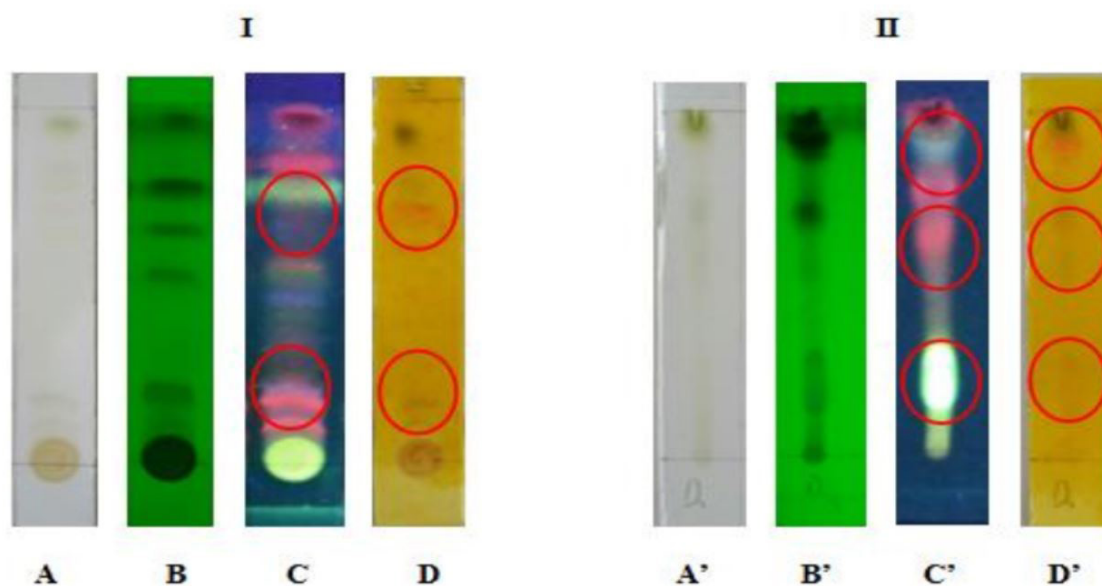
Golongan Senyawa	Hasil	
	Ekstrak Metanol	Fraksi Diklorometana
Alkanoid	+	+
Flavonoid	+	-
Saponin	+	+
Tanin	-	-
Fenol	+	-
Terpenoid/Steroid	+	+

Uji Antinosiseptif

Hasil penelitian menunjukkan semua kelompok uji mengalami peningkatan waktu latensi dari menit ke-0 sampai menit ke-30, kecuali pada kelompok normal yang tidak mengalami peningkatan waktu latensi. Waktu latensi kelompok dosis bervariasi, semakin tinggi dosis semakin lama waktu latensi. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (morfin), kelompok dosis 3 memiliki waktu latensi yang sebanding, tetapi waktu latensi paling lama pada kelompok dosis 3 terjadi pada menit ke-15 sedangkan pada kelompok kontrol positif terjadi pada menit ke-30. Pada akhir pengamatan di menit ke-120 kelompok dosis 3 memiliki waktu latensi lebih lama dibandingkan kelompok kontrol positif. (Tabel 3). Selanjutnya nilai rata-rata waktu latensi setiap kelompok dianalisis secara statistik menggunakan *One Way ANOVA* untuk membandingkan semua kelompok. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($P > 0,05$) yang berarti bahwa data mempunyai sebaran data yang normal dan hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data adalah identik ($P > 0,05$). Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna nilai rata-rata antar kelompok uji dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa semua kelompok dosis menunjukkan efek antinosiseptif. Selanjutnya data dianalisis dengan *Post Hoc Test LSD* untuk melihat signifikansi waktu latensi masing-masing kelompok. Hasil analisis *Post Hoc Test LSD* menunjukkan bahwa pada menit ke-0 sampai menit ke-120, kelompok kontrol positif memiliki perbedaan

bermakna dengan kelompok dosis 1, 2 dan 3. (Tabel 3). Luas *Area Under Curve* (AUC) tiap kelompok perlakuan dari hasil nilai rata-rata waktu latensi dihitung untuk mengetahui persen daya antinosiseptif. Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai persen daya antinosiseptif terbesar dimiliki oleh kelompok morfin sebesar 88%, diikuti kelompok dosis 3, 2, dan 1 masing-masing sebesar 86, 81, dan 51%. Nilai persen daya antinosiseptif kelompok normal sebesar 0%. Hal ini menunjukkan kelompok morfin memiliki efek antinosiseptif tertinggi diikuti oleh kelompok dosis 3, 2, dan 1.

Fraksi diklorometana daun kratom dengan dosis 70 mg/kgBB memiliki aktivitas antinosiseptif, namun efeknya tidak lebih kuat dari kontrol positif (morfin 5,46 mg/kgBB). Sedangkan fraksi diklorometana dengan dosis 140 mg/kgBB dan 280 mg/kgBB memiliki efek yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok morfin. Hal ini mendukung hasil penelitian yang menyatakan bahwa morfin 5 mg/kgBB dan ekstrak metanol 200 mg/kgBB signifikan meningkatkan respon waktu latensi dengan stimulasi suhu. Efek tersebut dimulai setelah 30 menit percobaan dengan durasi selama 240 menit (Mossadeq *et al.*, 2009). Penelitian tentang aktivitas antinosiseptif menyatakan ekstrak metanol daun kratom dengan dosis 200 mg/kgBB memberikan aktivitas antinosiseptif (Hassan *et al.*, 2013). Penelitian lain dengan menggunakan ekstrak alkaloid pada dosis 20 mg/kgBB yang diambil dari fraksi kloroform menyatakan efek yang lebih potensial dibandingkan dengan



I. Fase gerak : toluen : etil asetat (5:5) untuk senyawa alkaloid pada ekstrak metanol daun kratom
 II. Fase gerak : etil asetat : heksan (7:3) untuk senyawa alkaloid pada fraksi diklorometana daun kratom

Keterangan :

A dan A': Sebelum disemprot pereaksi

B dan B': Setelah disinari dengan sinar UV 254 nm

C dan C': Setelah disinari dengan sinar UV 366 nm

D dan D': Setelah disemprot dengan pereaksi Dragendroff

Gambar 1. Hasil Pola Kromatografi Lapis Tipis

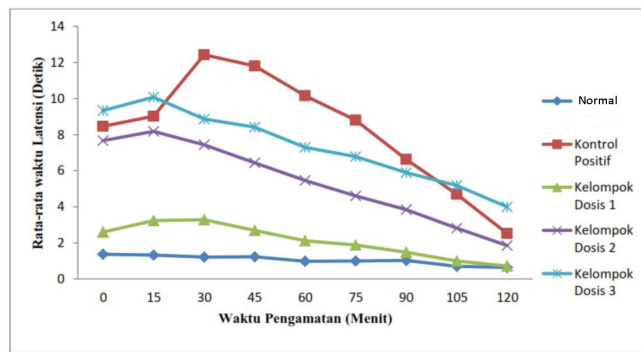
Tabel 3. Rata-rata Waktu Latensi Antinosiseptif

Sediaan Uji	Dosis (mg/kg)	Waktu Latensi (detik)								
		0	15	30	45	60	75	90	105	120
CMC Na 0,5%	-	1,38±0,27*	1,32±0,56*	1,22±0,19*	1,24±0,43*	0,98±0,26*	1±0,15*	1,03±0,25*	0,7± 0,15*	0,65±0,12*
Morfin	5,46	8,46±0,95	9,02±0,81	12,43±0,71	11,8±0,88	10,16±0,58	8,8±0,84	6,62±0,94	4,7±0,45	2,52±0,71
Fraksi Dikloro- metana Daun Kraton	70	2,6±0,39*	3,24±0,32*	3,28±0,50*	2,7±0,46*	2,12±0,31*	1,88±0,37*	1,48±0,44*	1±0,31*	0,73±0,21
	140	7,67±0,59 [≠]	8,18 ±0,46*	7,44±0,48*	6,44±0,43*	5,46±0,21*	4,6±0,50*	3,84±0,51*	2,82±0,30*	1,85±0,28
	280	9,32±0,42*	10,1±0,33*	8,86±0,52*	8,42±0,43*	7,3±0,44*	6,78±0,58*	5,9±0,36 [≠]	5,18±0,31*	4±0,38

Keterangan :

* : (p<0,05) berbeda signifikan terhadap kontrol positif (morfin)

≠ : (p>0,05) tidak berbeda signifikan terhadap kontrol positif (morfin)



Keterangan:

Normal : CMC NA 0,5%

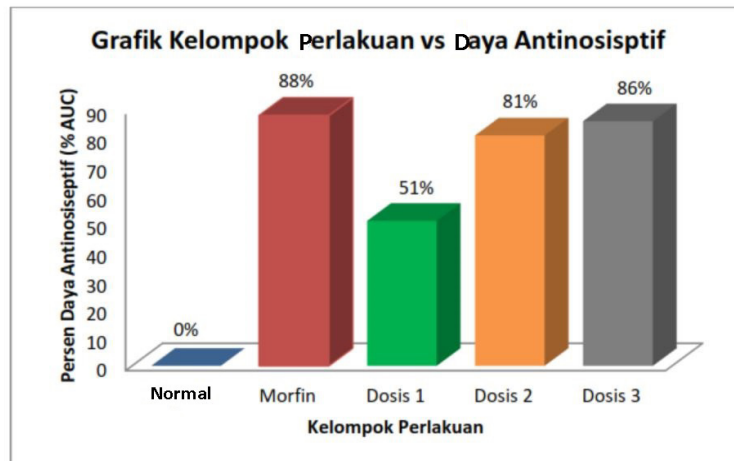
Kontrol Positif : Morfin 5,46 mg/kgBB

Dosis 1 : Dosis 70 mg/kgBB Fraksi Diklorometana Daun Kratom

Dosis 2 : Dosis 140 mg/kgBB Fraksi Diklorometana Daun Kratom

Dosis 3 : Dosis 280 mg/kgBB Fraksi Diklorometana Daun Kratom

Gambar 2. Diagram AUC Berdasarkan Nilai Rata-rata Waktu Latensi Antinosiseptif



Gambar 3. Persentase Daya Antinosiseptif

morfin (Ramanathan *et al.*, 2015). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi diklorometana daun kratom memiliki dosis efektif lebih kecil dari ekstrak metanol namun lebih besar dari ekstrak alkaloid yaitu sebesar 140 mg/kgBB dengan menggunakan metode yang sama. Aktivitas antinosiseptif fraksi diklorometana diduga karena adanya senyawa golongan alkaloid. Senyawa alkaloid yang terdapat pada daun kratom yang berperan aktif dalam aktivitas antinosiseptif yaitu senyawa mitraginin dan 7-hidroksimitraginin. Mitraginin dikatakan memiliki efek seperti opioid 13 kali lebih paten daripada morfin. Sedang untuk efek stimulan SSP dan depresan 7-hidroksi mitraginin 4 kali lebih paten dari mitraginin (Warner *et al.*, 2015). Senyawa mitraginin juga telah dilaporkan dapat berikatan dengan reseptor μ opioid dan reseptor δ opioid. Sedangkan senyawa 7-hidroksimitraginin memiliki efek yang lebih potensial, karena bersifat lipofilik yang tinggi sehingga mudah berpenetrasi terhadap sirkulasi sistemik (Ramanathan *et al.*, 2015).

Semakin bertambahnya dosis fraksi diklorometana daun kratom akan menyebabkan peningkatan persen daya antinosiseptif atau aktivitas antinosiseptif semakin besar. Fraksi diklorometana daun kratom memiliki aktivitas antinosiseptif. Fraksi diklorometana daun kratom dosis 3 (280 mg/kgBB) memiliki persen daya antinoseiseptif sebesar 86%, diikuti oleh dosis 2 (140 mg/kgBB) dan dosis 1 (70 mg/kgBB) masing-masing sebesar 81% dan 51%.

KESIMPULAN

Fraksi diklorometana daun kratom memiliki aktivitas antinosiseptif. Fraksi diklorometana daun kratom dosis 3 (280 mg/kgBB) memiliki persen daya antinosiseptif sebesar 86%, diikuti oleh dosis 2 (140 mg/kgBB) dan dosis 1 (70 mg/kgBB) masing-masing sebesar 81% dan 51%.

DAFTAR ACUAN

- Cheaha D, Keawpradub N, Sawangjaroen K, Phukpattaranont P, & Kumarnsit E. (2015). Effects of an alkaloid-rich extract from *Mitragyna speciosa* leaves and fluoxetine on sleep profiles, EEG spectral frequency and ethanol withdrawal symptoms in rats. *Phytomedicine*, 22(11), 1000–1008.
- Criddle CA. (2015). *A Comparison Of Mitragyna speciosa and Mitragynine Against Opioids on Thermal Nociception in Rats*. University of Mississippi.
- Hanani E. (2015). *Analisis Fitokimia*. EGC : Jakarta.
- Hassan Z, Muzaimi M, Navaratnam V, Yusoff NHM, Suhaimi FW, Vadivelu R, et al. (2013). Neuroscience and Biobehavioral Reviews From Kratom to mitragynine and its derivatives : Physiological and behavioural effects related to use , abuse, and addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(2), 138–151.
- Idayu NF, Hidayat MT, Moklas MA, Sharida F, Raudzah AR, Shamima AR, & Apriyani E. (2011). Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from *Mitragyna speciosa* Korth in mice model of depression. *Phytomedicine*, 18, 402–407.
- Jansen K L, & Colin J Prast. (1988). Ethnopharmacology Alkaloids Of Kratom and The *Mitragyna* Alkaloids. *Journal of Ethnopharmacology*, 23, 115–119.
- Jayanthi MK, & Jyoti MB. (2012). Experimental animal studies on analgesic and anti-nociceptive activity of *Allium sativum* (Garlic) powder. *The Indian Journal of Research and Reports in Medical Sciences*, 2(1), 1–6.
- Matsumoto K, Horie S, Ishikawa H, Takayama H, Aimi N, Ponglux D, & Watanabe K. (2004). Antinociceptive effect of 7-hydroxymitragynine in mice : Discovery of an orally active opioid analgesic from the Thai medicinal herb *Mitragyna speciosa*. *Life Sciences*, 74, 2143–2155.
- Mossadeq WMS, Sulaiman MR, Mohamad TAT, Chiong HS, Zakaria ZA, Jabit ML, Baharuldin MTH, & Israf DA. (2009). Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of *Mitragyna speciosa* Korth. *Medical Principles and Practice*, 18, 378–384.
- Parthasarathy S, Azizi J Bin, Ramanathan S, Ismail S, Sasidharan S, Said MIM, & Mansor SM. (2009). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae family) leaves. *Molecules*, 14, 3964–3974.
- Parthasarathy S, Ramanathan S, & Murugaiyah V. (2013). A simple HPLC – DAD method for the detection and quantification of psychotropic mitragynine in *Mitragyna speciosa* (ketum) and its products for the application in forensic investigation. *Forensic Science International*, 226(1-3), 183–187.
- Ramanathan S, Parthasarathy S, Murugaiyah V, Magosso E, Tan SC, & Mansor SM. (2015). Understanding the Physicochemical Properties of Mitragynine, a Principal Alkaloid of *Mitragyna speciosa*, for Preclinical Evaluation. *Molecules*, 20, 4915–4927.
- Reanmongkol W, Keawpradub N, & Sawangjaroen K. (2007). Effects of the extracts from *Mitragyna speciosa* Korth . leaves on analgesic and behavioral activities in experimental animals. *Journal Science Technology*, 29, 39–48.
- Ridayani Y, Andrie M, & Wijianto B. (2013). Uji efek sedatif fraksi etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) pada mencit Jantan Galur BALB/c. *IPI Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3, 1–9.
- Sabetghadam A, Navaratnam V, & Mansor SM. (2013). Dose-response relationship, acute toxicity, and therapeutic index between the alkaloid extract of *Mitragyna speciosa* and its main active compound mitragynine in mice. *Drug Development Research*, 30(October 2012), 23–30.
- Sabetghadam A, Ramanathan S, & Mansor SM. (2010). The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid, methanolic, and aqueous extracts of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth leaves in rats. *Pharmacognosy Research*, 2(3), 181–185.
- Singh D, Narayanan S, & Vicknasingam B. (2016). Traditional and non-traditional uses of Mitragynine (Kratom): A survey of the literature. *Brain Research Bulletin*, 126, 41–46.
- Takayama H. (2004). Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceous plant, *Mitragyna speciosa*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 52(8), 916–928.
- Warner ML, Kaufman NC, & Grundmann O. (2015). Review: The pharmacology and toxicology of kratom : from traditional herb to drug of abuse. *International Journal of Legal Medicine*, 130(1), 127–138.