



Perbandingan Aktivitas Analgesik Infusa Kelopak Bunga Rosella Varietas Merah dan Ungu Pada Tikus Putih

Julianri Sari Lebang^{a*}, Jainer Pasca Siampa^a, Olvie Syenni Datu^a

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi, Indonesia

KATA KUNCI

Analgesik
 Infusa
 Rosella merah dan
 ungu

ABSTRAK

Data dunia menunjukkan 20% dari populasi dunia menderita nyeri kronis. Penggunaan antinyeri dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan efek samping pada saluran pencernaan dan ginjal. Kelopak bunga rosella diketahui memiliki banyak manfaat dalam pengobatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas analgesik dari infusa kelopak bunga rosella merah dan ungu. Pengujian aktivitas dilakukan dengan metode geliat menggunakan 6 kelompok hewan yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan yang diberi infusa rosella merah 25% dan 50%(P1 dan P2), infusa rosella ungu 25% dan 50% (P3 dan P4), kontrol negatif, dan kontrol positif diberikan asam mefenamat. Asam asetat 2% (i.p) digunakan sebagai penginduksi nyeri. Hasil penelitian menunjukkan nilai rata-rata geliat yang paling rendah dan persen proteksi analgesik (PPA) yang paling tinggi ditunjukkan oleh kelompok P2. Uji statistic menggunakan ANOVA one way dan uji lanjut LSD menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan nilai (PPA) antara kelompok P1, P3 dan P4, sedangkan kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Dapat disimpulkan bahwa aktivitas analgesik infusa rosella merah 50% lebih baik dibandingkan infusa rosella merah 25%, rosella ungu 25 dan 50%.

KEYWORDS

Analgesic
 Infusion
 Red and violet
 rosella

ABSTRACT

World data shows that 20% of the world's population suffers from chronic pain. Long term consumption of analgesic can cause adverse effects on the digestive tract and kidneys. Rosella calyx known has many benefit for health. The aimed of this study was to compare the analgesic activity of infusion of red and purple rosella calyx. Activity testing was carried out using writhing test method using 6 groups of animals consisting of 4 treatment groups given red rosella calyx infusion 25% and 50% (P1 and P2), violet rosella calyx infusion 25% and 50% (P3 and P4), negative control and positive control given mefenamic acid. Acetic acid 2% (i.p) was used as a pain inducer. The results showed that group P2 has the highest protection analgetic persentation (PAP). Statistical tests using one way ANOVA and LSD tests showed no significant differences in scores (PAP) between groups P1, P3 and P4, while the P2 group has no significantly differences with the positive control group. It can be concluded that the analgesic activity of 50% red rosella infusion is better than 25% red rosella infusion, 25 and 50% purple rosella infusion

TERSEDIA ONLINE

01 Februari 2024

Pendahuluan

Nyeri merupakan pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan akibat adanya kerusakan jaringan. Nyeri menjadi salah satu penyebab pasien berkonsultasi ke tenaga medis. Data prevalensi nyeri di dunia menunjukkan 20% dari

populasi dunia mengalami nyeri kronis. Penelitian yang dilakukan oleh Amalia., dkk (2014) di RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou Manado menunjukkan jumlah kasus nyeri selama 12 bulan sebanyak 1052 orang pasien, 51,3% nyeri neuropatik dan 41,9% merupakan nyeri nociceptik. Insiden nyeri terjadi pada rentang usia 55-64 tahun, dengan persentase

*Corresponding author:

Email address: julianrilebang@unsrat.ac.id

Published by FMIPA UNSRAT (2023)

terbanyak berjenis kelamin perempuan (Amalia, 2016).

Pengobatan nyeri dapat dilakukan dengan pemberian obat analgesik. Obat-obat analgesik memiliki kemampuan menghambat impuls nyeri agar tidak mencapai otak atau yang dikenal dengan istilah antinociceptive. Penggunaan obat-obat analgesik dan antiinflamasi nonsteroid (NSAIDs) dapat menyebabkan beberapa efek samping misalnya gangguan pada saluran cerna, pembekuan darah dan gangguan fungsi ginjal. Beberapa tanaman ternyata telah diteliti dan terbukti memiliki aktivitas analgesik. Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terutama bagian kelopak bunga (*calyx*), telah diketahui memiliki manfaat untuk pengobatan beberapa penyakit. Al-Snafi (2018) pada reviewnya menyatakan bahwa, kelopak bunga Rosella memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antioksidan, menurunkan lemak darah, antiabetes, antiinflamasi, analgetic, antipiretik dan beberapa gangguan kardiovaskular (Al-Snafi, 2018).

Studi yang dilakukan oleh Reanmongkol, *et.al.* (2007) menunjukkan ekstrak etanol rosella menunjukkan aktivitas analgesik pada mencit pada dosis 800 mg/kg BB. Selain itu, studi tersebut juga menunjukkan ekstrak rosella juga menunjukkan aktivitas antipiretik pada rentang dosis 200-800 mg/kgBB (Reanmongkol & Itharat, 2007). Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella menunjukkan aktivitas penghambatan geliat mencit yang merupakan indikator rasa nyeri pada dosis 500 mg/kgBB dan aktivitas antiinflamasi pada dosis 250 mg/kg BB dan 500 mg/kgBB dibandingkan dengan Natrium diklofenak (Ali *et al.*, 2011). Aktivitas analgesik seduhan kelopak bunga Rosella telah diujikan pada manusia dalam penelitian (Ramli, dkk., 2017). Responden yang diberikan seduhan bunga rosella sebanyak 4 kuntum/200 ml air menunjukkan penurunan sensasi nyeri haid (*dismenorrhoe*) (Ramli & Santy, 2017). Penelitian-penelitian yang diuraikan di atas menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella dapat menjadi kandidat antinociceptive, antiinflamasi dan antipiretik, di mana ketiga gangguan tersebut disebabkan oleh mediator yang terbentuk dari aktivitas enzim siklooksigenase.

Material dan Metode

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, alat pemanas, panci infus termodifikasi, sonde lambung, stopwatch, timbangan analitik, timbangan hewan, termometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kelopak bunga rosella varietas merah dan ungu, aquadest, asam asetat 2%, NaCl 0,9% steril, hewan tikus, kertas saring, asam asetat 2%, disposable syringe 3cc dan 1cc (OneMed®), needle 26G, Na-CMC, tablet asam mefenamat.

Pembuatan Infus Kelopak Rosella

Simplisia kelopak bunga rosella akan dibuat dengan 2 konsentrasi berbeda yaitu 25% dan 50%. Infusa konsentrasi 25% dibuat dengan menimbang simplisia sebanyak 25 gram kemudian dimasukkan ke dalam panci infusa yang telah berisi 100 ml air. Campuran dipanaskan selama 15 menit dihitung mulai dari saat suhu campuran mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Cairan hasil pemanasan disaring, kemudian air panas ditambahkan melewati ampas hingga volumenya mencapai 100 ml (Badan POM RI, 2012). Infus konsentrasi 50% dibuat dengan cara yang sama, tetapi dengan jumlah simplisia 50 gram.

Skrining Kandungan Senyawa Fitokimia

Pengujian skrining kandungan fitokimia sampel infusa kelopak rosella merah dan ungu dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan triterpenoid pada kedua sampel.

Pembuatan Bahan Penginduksi Nyeri

Bahan penginduksi nyeri berupa asam asetat 2% dibuat dengan cara mengencerkan asam asetat glasial menggunakan pelarut larutan NaCl 0,9% steril.

Aklimatisasi dan Pengelompokan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih berjenis kelamin betina dengan umur 2-3 bulan dan memiliki berat badan 150-210 gram. Hewan diadaptasikan dengan kondisi laboratorium pengujian selama 14 hari. Selama proses aklimatisasi, hewan diberi makan dan minum standar secada *ad libitum*. Hewan uji selanjutnya diberi tanda penomoran dan dibagi ke dalam 6 kelompok secara acak, tiap kelompok terdiri dari 4 hewan.

Kelompok 1 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi NaCMC 0,5% (Kontrol negatif)

Kelompok 2 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi infusa kelopak rosella merah konsentrasi 25% (P1).

Kelompok 3 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi infusa kelopak rosella merah konsentrasi 50% (P2).

Kelompok 4 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi infusa kelopak rosella ungu konsentrasi 25% (P3).

Kelompok 5 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi infusa kelopak rosella ungu konsentrasi 50% (P4).

Kelompok 6 : Tikus diinduksi nyeri dengan asam asetat 2% (i.p) dan diberi asam mefenamat dosis 50 mg/kg BB (Kontrol positif).

Pengujian Aktivitas Analgesik

Pengujian aktivitas analgesik dilakukan dengan metode geliat (*Writhing test*) menggunakan penginduksi asam asetat dan parameter pengamatan yaitu jumlah geliat hewan coba (Chang et al., 2012). Seluruh prosedur pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan uji tikus telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Manado dengan nomor dokumen KEPK.01/08/126/2023.

Tikus diberikan sediaan uji secara peroral dengan jumlah volume pemberian adalah 2 ml/200 g berat badan (BB). Hewan yang telah diberi sediaan uji selanjutnya dimasukkan kembali ke kandang dan dibiarkan selama 30 menit. Bahan penginduksi berupa asam asetat 2% selanjutnya diberikan secara intraperitoneal dengan volume pemberian 1 ml/200 g BB hewan. Jumlah geliat hewan diamati dalam rentang waktu 5,10,15,20,25 dan 30 menit. Gerakan geliat ditandai dengan kontraksi abdominal hewan disertai gerakan melengkungkan punggung dan ekstensi kaki belakang.

Nilai persen proteksi analgesik (PPA) selanjutnya dihitung dengan rumus (Bajuber et al., 2020):

$$PPA = 100 - \left(\frac{P}{K} \times 100 \right) \%$$

P : jumlah geliat kumulatif kelompok perlakuan

K : Jumlah geliat kumulatif kelompok kontrol negatif

Analisa Data

Hasil data yang diperoleh berupa jumlah geliat persatuan waktu disajikan dalam bentuk kurva, sedangkan data nilai persen proteksi analgetik (PPA) dianalisa statistik menggunakan uji ANOVA one way dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil/*Least Significant Difference* (LSD).

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi simplisia menggunakan metode infus merupakan salah satu cara ekstraksi simplisia yang paling sederhana dan sesuai untuk bahan yang bertekstur lunak seperti daun dan kelopak bunga (Badan POM RI, 2012). Metode ini juga menggunakan air sebagai penyari sehingga meminimalkan efek dari residu pelarut organik jika dibandingkan dengan metode ekstraksi lain yang menggunakan pelarut organik sebagai penyari.

Skrining Kandungan Senyawa Fitokimia

Hasil skrining fitokimia menunjukkan infusa dari kedua varietas kelopak rosella, merah dan ungu, memiliki kandungan fitokimia yang hampir sama. Senyawa steroid tidak ditemukan pada infusa rosella ungu. Hasil uji skrining fitokimia disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia infusa kelopak bunga rosella varietas merah dan ungu

| Golongan senyawa | Hasil | |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------|
| | Infusa Rosella Merah | Infusa Rosella Ungu |
| Alkaloid (Dragendorff, wagner, meyer) | +++ | +++ |
| Flavonoid | + | + |
| Tanin | + | + |

| | | |
|--------------|---|---|
| Saponin | + | + |
| Steroid | + | - |
| Triterpenoid | + | + |

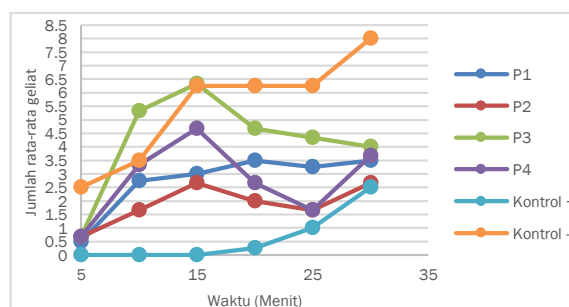
Ket : +++ : pengujian positif pada 3 reagen (Dragendorff, Wagner dan Meyer)

Aktivitas Analgesik

Pengujian aktivitas analgesik dengan metode geliat (*writhing test*) merupakan salah satu metode pengujian analgesik untuk menguji aktivitas analgesik perifer, misalnya untuk obat-obat golongan NSAID. Pada metode ini, asam asetat yang digunakan merupakan bahan yang bersifat iritatif. Pemberian asam asetat 2% secara intraperitoneal pada hewan tikus atau mencit, akan menyebabkan inflamasi ringan pada area pemberian. Hal ini akan menyebabkan pelepasan mediator nyeri dan inflamasi yang terbentuk dari jalur enzim siklooksigenase dan lipoksigenase. Mediator yang paling berperan dalam timbulnya sensasi nyeri adalah prostaglandin-E dan prostasiklin (PGI₂) (Rashid et al., 2017). Hasil pengujian aktivitas analgesik dengan parameter geliat hewan disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata geliat tikus setelah pemberian perlakuan dan penginduksi nyeri asam asetat 2%

| Kelompok perlakuan | Jumlah geliat pada menit ke- | | | | | |
|--------------------|------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| | 0-5 | 6-10 | 11-15 | 16-20 | 21-25 | 26-30 |
| Kontrol negatif | 2,5 | 3,5 | 6,25 | 6,25 | 6,25 | 8 |
| Perlakuan 1 | 0,50 | 2,75 | 3,00 | 3,50 | 3,25 | 3,50 |
| Perlakuan 2 | 0,67 | 1,67 | 2,67 | 2,00 | 1,67 | 2,67 |
| Perlakuan 3 | 0,67 | 5,33 | 6,33 | 4,67 | 4,33 | 4,00 |
| Perlakuan 4 | 0,67 | 3,33 | 4,67 | 2,67 | 1,67 | 3,67 |
| Kontrol positif | 0 | 0 | 0 | 0,25 | 1 | 2,5 |



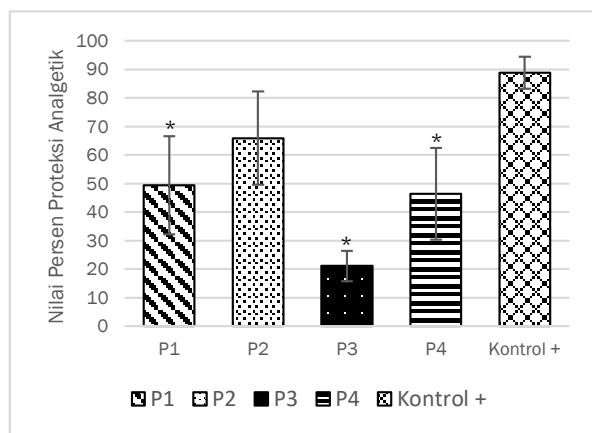
Gambar 1. Rata-rata geliat tikus setelah pemberian perlakuan

Gerakan menggeliat pada hewan rodent dapat dijadikan sebagai parameter perilaku yang mewakili rasa nyeri yang dialami hewan. Gerakan geliat pada hewan rodent diawali dengan kontraksi otot bagian abdominal, punggung hewan melengkung dan perpanjangan kaki belakang hewan (Bajuber et al., 2020). Makin banyak jumlah gerakan geliat pada hewan makin rendah kemampuan bahan uji dalam menghambat rasa nyeri. Data pada tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah geliat hewan menunjukkan peningkatan mulai dari menit ke-6. Kelompok perlakuan 3 yang diberikan infus rosella ungu konsentrasi 25% menunjukkan jumlah geliat

yang lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan lain pada rentang waktu yang sama.

Nilai jumlah geliat hewan selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai Persen Proteksi Analgetik (PPA). Nilai PPA merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan suatu bahan uji untuk menghambat nyeri pada hewan coba. Makin besar nilai proteksi analgetik makin besar aktivitas analgetik suatu bahan uji. Hal ini berbanding terbalik dengan jumlah geliat hewan. Makin besar jumlah geliat hewan maka nilai persen proteksi analgetik akan semakin rendah. Tabel 3. Rata-rata nilai persen proteksi analgesik

| Kelompok perlakuan | Nilai PPA±Std |
|--------------------|---------------|
| Perlakuan 1 | 49,35 ±17,21 |
| Perlakuan 2 | 65,91 ±16,36 |
| Perlakuan 3 | 21,11 ±5,25 |
| Perlakuan 4 | 46,44 ±16,05 |
| Kontrol positif | 88,87 ±5,56 |



Gambar 2. Nilai persentasi proteksi analgetik.

*)menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol positif pada nilai $p < 0,01$.

Data pada tabel 2 menunjukkan, kelompok hewan yang diberikan infusa kelopak rosella merah konsentrasi 50% (P2) menunjukkan nilai persen proteksi analgetik yang paling tinggi. Hasil uji statistik menunjukkan nilai PPA kelompok perlakuan P1, P3 dan P4 menunjukkan perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol positif yang diberi asam mefenamat 50mg/kg BB ($p < 0,01$), sedangkan kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif.

Beberapa penelitian telah membuktikan adanya aktivitas analgesik dari rosella merah. Ekstrak air dari rosella merah pada dosis 200 dan 400 mg/kg BB tikus menunjukkan aktivitas analgetik yang diuji dengan metode plat panas (Patil et al., 2016). Penelitian Baihaqi, dkk. Juga menunjukkan adanya aktivitas analgetik dari ekstrak etanol kelopak rosella dosis 200, 400 dan 800 mg/kg BB (Baihaqi et al., 2017). Ekstrak etanol 95% dengan dosis 250 dan 500 mg/kg BB juga menunjukkan aktivitas analgetik pada hewan coba mencit yang diuji dengan metode geliat (Ali et al., 2011).

Aktivitas farmakologi dari suatu ekstrak dari bahan alam dipengaruhi oleh kandungan fitokimianya. Data pada tabel 1 menunjukkan infusa

rosella merah dan ungu mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, triterpene. Sedangkan senyawa steroid hanya terkandung pada infusa rosella merah. Penelitian Fitrotunnisa, et.al., menunjukkan ekstrak etil asetat, etanol dan n-heksan dari kelopak rosella merah mengandung senyawa glikosida, alkaloid, steroid, triterpenoid, tannin dan flavonoid (Fitrotunnisa et al., 2019). Ketiga pelarut ini masing-masing mewakili pelarut polar, semipolar, dan nonpolar. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fitokimia rosella merah yang terekstraksi dengan pelarut dengan kepolaran berbeda, mengandung senyawa fitokimia yang sama. Purba, dkk., juga menemukan bahwa kandungan fitokimia infusa rosella merah mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin (Purba et al., 2020).

Penelitian lain menunjukkan bahwa simplisia kering rosella merah dan ungu memiliki kandungan antosianin yang merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid. Kandungan antosianin dari simplisia kering rosella ungu lebih tinggi dibandingkan pada rosella merah (Mardiah et al., 2015). Awad, et.al., dalam penelitiannya menyebutkan bahwa aktivitas analgetik dan antiinflamasi dari rosella disebabkan oleh senyawa flavonoid, steroid dan fenolik (Awad et al., 2014). Musa, et.al., juga menyatakan bahwa aktivitas analgetik dari ekstrak etanol daun rosella disebabkan oleh kandungan polifenol berupa flavonoid dan tannin (Abdulmalik et al., 2011). Selain kandungan flavonoid, aktivitas analgesic dari ekstrak air rosella merah juga disebabkan oleh kandungan asam organik pada ekstrak berupa asam askorbat dan asam sitrat.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aktivitas analgesik infusa rosella merah konsentrasi 50% lebih baik dibandingkan infusa rosella merah konsentrasi 25%, infusa rosella ungu 25% dan 50%.

Daftar Pustaka

- Abdulmalik, I. A., Sule, M. I., Musa, A. M., Yaro, A. H., Abdullahi, M. I., Abdulkadir, M. F., & Yusuf, H. (2011). Evaluation Of Analgesic And Anti-Inflammatory Effects Of Ethanol Extract Of Ficus Iteophylla Leaves In Rodents. *Afr Journal Tradit Complement Altern Med.*, **8(4)**, 462–466.
- Al-Snafi, A. E. (2018). Pharmacological and therapeutic importance of hibiscus sabdariffa-A review. *International Journal of Pharmaceutical Research*, **10(3)**, 451–475. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2018.10.03.001>
- Ali, M. K., Ashraf, A., Biswas, N. N., Karmakar, U. K., & Afroz, S. (2011). Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiarrheal activities of ethanolic calyx extract of Hibiscus sabdariffa Linn. (Malvaceae) in mice. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, **9(6)**, 626–631. <https://doi.org/10.3736/jcim20110608>

- Amalia, A. F. (2016). Profil nyeri di poliklinik saraf RSUP Prof . Dr . R . D . Kandou Manado. *Jurnal E-Clinic*, **4(2)**.
- Awad, S., Ali, E., Mohamed, A. H., & Elazhari, G. E. (2014). Fatty acid composition , anti-inflammatory and analgesic activities of Hibiscus sabdariffa Linn . seeds Keywords: *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, **1(2)**, 50–57.
<https://doi.org/10.5455/javar.2014.a13>
- Badan POM RI. (2012). Acuan Sediaan Herbal Vol.7 Edisi I. *Acuan Sediaan Herbal Vol.7 Edisi I*, 7, 1–94.
- Baihaqi, R., Hamidy, M. Y., & Bebasari, E. (2017). Efek Analgetik Ekstrak Etanol Kelopak Rosella (Hibiscus sabdariffa L) Pada Mencit Jantan (Mus musculus). *Jurnal Ilmu Kedokteran*, **8(2)**, 64.
<https://doi.org/10.26891/jik.v8i2.2014.64-69>
- Bajuber, Q., Indiasuti, D. N., & Kusuma, E. (2020). Efek Analgesik Ekstrak Etanol Zingiber cassumunar Roxb . pada Mencit dengan Metode Writhing Test. *Jurnal Medik Veteriner*, **3(1)**, 45–50.
<https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.45-50>
- Chang, C., Chang, W., Liao, J., Chiu, Y., Hsieh, M., Peng, W., & Lin, Y. (2012). Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Methanol Extract of Cissus repens in Mice. *Evidence-ABased Complementary and Alternative Medicine*, *2012*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2012/135379>
- Fitrotunnisa, Q., Arsianti, A., Tejaputri, N. A., & Qorina, F. (2019). Antioxidative activity and phytochemistry profile of hibiscus sabdariffa herb extracts. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, **11(Special Issue 6)**, 29–32.
<https://doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s6.33532>
- Mardiah, Zakaria, F. R., Pragdimurti, E., & Damanik, R. (2015). Perubahan Kandungan Kimia Sari Rosela Merah Dan Ungu (Hibiscus Sabdariffa L.) Hasil Pengeringan Menggunakancabinet Dryer Dan Fluidized Bed Dryer. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, **25(1)**, 1–7.
- Patil, S. B., Rambhimaiah, S., & Patil, P. (2016). IJBCP International Journal of Basic & Clinical Pharmacology Research Article Evaluation of analgesic activity of aqueous extract of leaves of hibiscus sabdariffa in albino rats. *International Journal of Basic and Clinical Pharmacology*, **5(3)**, 910–913.
- Purba, H., Simanjuntak, H. A., & Situmorang, R. (2020). Phytochemical screening of bunga rosella (Hibiscus sabdariffa L) and antimicrobial activity test. *Jurnal Pendidikan Kimia*, **12(2)**, 70–78.
<https://doi.org/10.24114/jpkim.v12i2.19398>
- Ramli, N., & Santy, P. (2017). Efektifitas Pemberian Ramuan Jahe (Zingibers officinale) dan Teh Rosella (Hibiscus sabdariffa) terhadap Perubahan Intensitas Nyeri Haid. *AcTion: Aceh Nutrition Journal*, **2(1)**, 61.
<https://doi.org/10.30867/action.v2i1.38>
- Rashid, M. M., Islam, A., Amran, M. S., & Hossain, M. A. (2017). Evaluation of Analgesic Activity by Acetic Acid Induced Writhing Method of Crude Extracts of Acacia nilotica. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, **6(4)**, 126–138.
<https://doi.org/10.21276/sajp>
- Reanmongkol, W., & Itharat, A. (2007). Antipyretic activity of the extracts of Hibiscus sabdariffa calyces L. in experimental animals. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **29(SUPPL. 1)**, 29–38