

Aktivitas Antinosisseptif Fraksi Airdaun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) pada Mencit Jantan Swiss

Antinociceptive Activity of Aqueous Fraction of Kratom Leaves *Mitragyna speciosa* Korth.) on Male Swiss Albino Mice

Widia Indri Nugraha, Robiyanto¹, Sri Luliana*

Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia.

ABSTRAK

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) diketahui memiliki efek farmakologi seperti analgesik opioid (antinosisseptif). Kandungan utama daun kratom yaitu mitraginin, memiliki afinitas yang kuat pada reseptor opioid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antinosisseptif fraksi air daun kratom dan dosis efektifnya. Simplisia daun kratom diekstraksi dengan metanol 96%. Ekstrak metanol difraksinasi dengan pelarut n-heksana, diklorometan, etil asetat, dan air. Pengujian aktivitas antinosisseptif ini dilakukan dengan menggunakan metode hot plate pada mencit jantan Swiss. Mencit dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, morfin 5,46 mg/kgBB, fraksi air daun kratom dosis 140, 240 dan 560 mg/kgBB. Pengamatan dilakukan tiap 15 menit selama 2 jam dengan mencatat waktu latensi. Data waktu latensi dianalisis secara statistik menggunakan One Way ANOVA. Hasilnya menunjukkan bahwa fraksi air dosis 140, 280 dan 560 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Efek antinosisseptif meningkat dengan meningkatnya dosis yang diberikan. Ketiga kelompok dosis tersebut menunjukkan efek antinosisseptif lebih lemah dari kontrol positif (Morfin).

Kata Kunci: antinosisseptif, fraksi air, *Mitragyna speciosa*, morfin

ABSTRACT

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) has been known to have an analgesic opioid effect (antinociceptive). The major compound of kratom leaf is mitraginin, which has strong affinity on opioid receptor. The aim of this research is to prove antinociceptive effect of aqueous fraction of kratom leaf and its effective dose. The simplicia of kratom leaf was extracted with methanol 96%. Methanol extract fractioned with n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aquadest. This research used hot plate method on male Swiss Albino mice. The subject divided to 5 groups, negative control group, morphine 5,46 mg/kgBW, aqueous fraction 140, 240 and 560 mg/kgBW. Latency time was measured every 15 minutes over 2 hours period. Analytic statistical of latency time using One Way ANOVA shows that the aqueous fraction at the dose of 140, 280 and 560 mg/kgBW significantly differentiate with negative control group and positive control group. The antinociceptive effect increases with increasing doses. The three doses showed that the antinociceptive effect was no better than the positive control (Morphine)

Keyword: antinociceptive, aqueous fraction, *Mitragyna speciosa*, morphine

PENDAHULUAN

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan tanaman asli negara-negara di Asia Tenggara, terutama di Thailand, Malaysia, Indonesia dan Papua (Ahmad & Aziz, 2012). Di Indonesia sendiri, terutama di Kalimantan Barat, tanaman kratom banyak dijumpai tumbuh di Kabupaten Kapuas Hulu, dikenal dengan nama "Kratom" atau "Purik". Efek farmakologi dari daun kratom yang telah diteliti sebelumnya yaitu

analgesik (Reanmongkol *et al.*, 2007), sedatif (Yeni Ridayani, 2013), stimulan, antidepresan (Idayu, *et al.*, 2011), anti-inflamasi (Shaik Mossadeq, *et al.*, 2009), antidiare, antioksidan dan antimikroba (Parthasarathy, *et al.*, 2009). Salah satu khasiat tanaman kratom adalah sebagai antinosisseptif karena mengandung senyawa mitraginin dan 7-hidroksimitraginin yang merupakan senyawa alkaloid indol (Shamima, *et al.*, 2012). Mitraginin menunjukkan aktivitas pada reseptor μ -opioid dan δ -opioid, namun belum ada laporan mengenai reseptor spesifiknya. Sedangkan 7-hidroksimitraginin memiliki ikatan

*Corresponding author : Sri Luliana
Email : lulisri@gmail.com

yang lebih kuat pada reseptor μ -opioid dibandingkan pada reseptor opioid lainnya (Matsumoto, *et al.*, 2004). Berdasarkan ikatannya terhadap reseptor opioid, dapat dikatakan bahwa mitraginin dan 7-hidroksimitraginin memiliki aktivitas seperti analgesik opioid.

Pengujian aktivitas antinosiseptif pada tikus telah dilakukan sebelumnya terhadap ekstrak metanol (50, 100, 200 mg/kg), ekstrak air (100, 200, 400 mg/kg), dan ekstrak alkaloid (5, 10, 20 mg/kg) daun kratom asal Malaysia. Hasilnya menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak pada dosis tertinggi secara signifikan memperpanjang waktu latensi terhadap respon nosiseptif dibandingkan dengan kelompok kontrol pada *hot plate test* dan *tail flick test*. Efek antinosiseptif yang dihasilkan ekstrak metanol daun kratom (200 mg/kg) lebih besar dibandingkan dengan efek antinosiseptif yang dihasilkan oleh ekstrak air (400 mg/kg) dan ekstrak alkaloidnya (20 mg/kg) (Sabetghadam, *et al.*, 2010). Penelitian lain yang serupa dilakukan pada mencit terhadap ekstrak metanol (50, 100, 200 mg/kg) dan ekstrak alkaloid (5,10,20 mg/kg) daun kratom asal Thailand. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol (200 mg/kg) daun kratom menghasilkan efek antinosiseptif yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak alkaloidnya (20 mg/kg) (Reanmongkol, *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui adanya komponen senyawa lain yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antinosiseptif pada fraksi air daun kratomserta mengetahui dosis efektifnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan ini adalah corong pisah (*Pyrex Iwaki*®), *hot plate* (*Schott Instrument*®), *rotary evaporator* (*Heldolph*®), *waterbath* (*Memmert WNB 14*®), oven (*Memmert*®), *magnetic stirrer* (*Schott Instrument*®), neraca analitik (*Ohaus*®), desikator, lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ (*Merck*®), blender simplisia (*IlnQiFZ-10*®), *stopwatch*, termometer (*Corona*®), *chamber* (*Camag*®), alat-alat gelas (*Pyrex Iwaki*®), mortir dan stamper, sonde oral, dan timbangan mencit (*CAMRY*®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.), tablet morfin (generik) dari Rumah Sakit Pendidikan UNTAN, metanol 96% (teknis), n-heksana (teknis), diklorometan (teknis), etil asetat (teknis), *aquadest*, CMC Na, plat KLT *silica gel 60 F₂₅₄* (M®), ammonia (*Emsure*®), CH₃COOH (*Merck*®), HCl

(*Emsure*®), H₂SO₄ (*Merck*®), FeCl₃ (*Merck*®), gelatin, kloroform (*Emsure*®), NaCl (*Merck*®), pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Meyer*, pereaksi *Wagner*, dan pita magnesium (Mg).

Pengumpulan Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman kratom jenis *red vein* yang diperoleh di Desa Tanjung Jati, Kecamatan Putussibau Selatan, Kabupaten Kapuas Hulu, Provinsi Kalimantan Barat.

Ekstraksi Sampel

Simplisia daun kratom sebanyak 2,08 kg direndam dengan pelarut metanol 96%. Penggantian pelarut dilakukan setiap 1x24 jam dan dilakukan pengadukan. Maserasi dilakukan sampai warna pelarut berubah warna menjadi agak bening. Maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan proses penguapan pelarut di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 100 gram ekstrak metanol daun kratom dalam 250 ml *aquadest*. Selanjutnya dilakukan fraksinasi secara bertingkat dengan pelarut n-heksan, diklorometan, dan etil asetat. Fraksi air yang diperoleh dihilangkan pelarutnya dengan cara pemanasan oven pada suhu 40°C dan disimpan dalam desikator vakum.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss dewasa berumur dua bulan dengan bobot 25-35 gram tanpa cacat fisik dan sehat.

Persiapan Pengujian Aktivitas Antinosiseptif Persiapan Kontrol Positif

Penggunaan morfin sebagai kontrol positif dalam penelitian ini sebelumnya telah disetujui oleh Ketua Badan Pengelola Fakultas Farmasi Universitas Tanjungpura Pontianak dengan memberikan surat rekomendasi kepada pihak selanjutnya yang mengeluarkan morfin. Morfin diperoleh dari Rumah Sakit Pendidikan Universitas Tanjungpura Pontianak sesuai dengan prosedur yang ditentukan oleh pihak Rumah Sakit.

Pembuatan Suspensi CMC Na 0,5%

CMC Na ditimbang sebanyak 0,5 gram dan diletakkan ke dalam lumpang berisi *aquadest* hangat (air korpus) sebanyak sepuluh kalinya.

Biarkan hingga mengembang dan didapat massa yang transparan. Kemudian digerus hingga terbentuk gel. Diencerkan dengan *aquadest* hingga 100 ml, diaduk homogen.

Pembuatan Suspensi Morfin

Morfin ditimbang sebanyak 5,46 gram dan digerus dengan suspensi CMC Na 0,5% hingga homogen. Penambahan suspensi CMC Na 0,5% ditambahkan hingga volume 10 ml.

Pembuatan Larutan Fraksi Air

Fraksi air daun kratom ditimbang masing-masing 140, 280, dan 560 mg, kemudian digerus dengan suspensi CMC Na 0,5% hingga homogen dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Masing-masing larutan suspensi fraksi air daun kratom tersebut diberikan peroral sebanyak 0,2 ml.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum perlakuan dengan diberikan pakan dan air secukupnya (Shaik Mossadeq, *et al.*, 2009). Sebelum perlakuan hewan uji ditimbang berat badannya dan diberi penandaan. Hewan uji yang digunakan adalah yang sesuai dengan kriteria penggunaan hewan uji.

Pembagian Kelompok Hewan Uji

Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah enam ekor, yaitu kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%), kontrol positif (morfin 5,46 mg/kgBB), dosis I, II dan III (fraksi air daun kratom dosis 140, 280, dan 560 mg/kgBB).

Uji Aktivitas Antinosiseptif

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antinosiseptif adalah metode *hot plate*. Metode ini menggunakan panas sebagai sumber nyeri. Mencit diletakkan di atas *hot plate* pada suhu $55^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 30 menit setelah pemberian sediaan uji pada masing-masing kelompok (kecuali morfin 15 menit setelah pemberian). Mencit diletakkan tidak lebih dari 15 detik (*cut off time*) (Jayanthi, MK & Jyoti MB 2012; Muhammad 2014). Respon mencit berupa menarik kaki belakang dan melompat dicatat sebagai parameter pengamatan (Suresha, *et al.*, 2014). Waktu latensi dicatat menggunakan *stopwatch*. Pengamatan dilakukan selama 2 jam pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 dan 120 (Jayanthi MK & Jyoti MB 2012).

Analisis Data

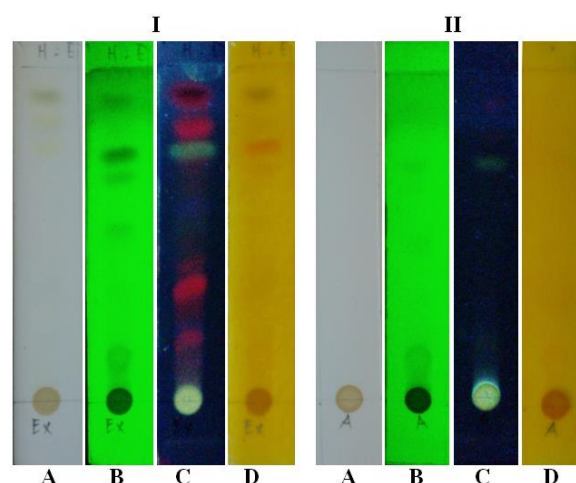
Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan *software* SPSS

(*Statistical Product and Service Solution*) 21.0 for Window menggunakan *One Way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen dan Standarisasi Ekstrak

Ekstrak yang diperoleh sebanyak 373,81 g (17,97%) dan fraksi air yang diperoleh sebanyak 26,67 g (26,67%). Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun kratom menunjukkan bahwa senyawa yang terdeteksi yaitu golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol dan terpenoid/steroid. Hasil skrining fitokimia fraksi air daun kratom menunjukkan bahwa senyawa yang terdeteksi yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol. Profil kromatografi lapis tipis ekstrak metanol dan fraksi air daun kratom (Gambar 1).

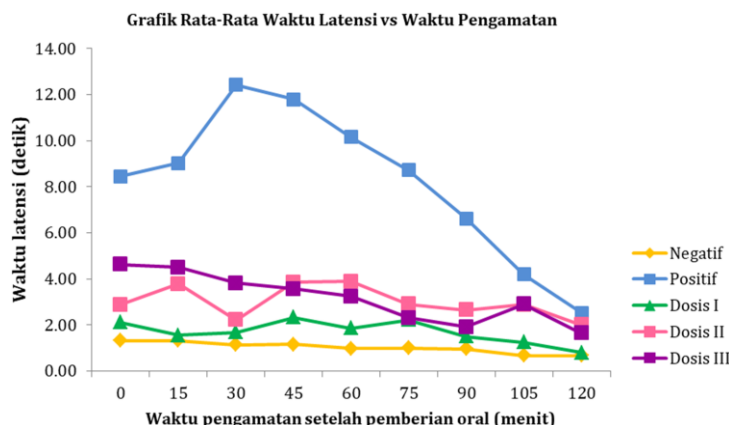


Gambar 8. Penampakan Pola Kromatogram Ekstrak Metanol dan Fraksi Air Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.)

Keterangan : I = Hasil uji KLT ekstrak metanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (3:7); II= Hasil uji KLT fraksi air daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (3:7); A= Setelah dielusi; B = Pengamatan di bawah sinar UV₂₅₄; C = Pengamatan di bawah sinar UV₃₆₆; D=Setelah disemprot dengan pereaksi *Dragendorff*

Pengujian Aktivitas Antinosiseptif

Nilai rata-rata waktu latensi dari masing-masing kelompok perlakuan (Tabel I dan Gambar 2). Waktu latensi menunjukkan daya antinosiseptif atau seberapa lama mencit mampu menahan rasa nyeri yang disebabkan oleh rangsang panas yang diberikan. Pemberian fraksi air daun kratom dosis 140, 280 dan 560 mg/kgBB secara oral memperpanjang waktu latensi terhadap respon antinosiseptif pada mencit. Pada menit ke-0 atau 30 menit setelah pemberian,



Gambar 2. Grafik Rata-Rata Waktu Latensi (Daya Antinosiseptif) Masing-masing Kelompok Perlakuan

Tabel I. Hasil Analisis menggunakan *One Way ANOVA*

| Sediaan Uji | Dosis (mg/kg) | Waktu Latensi (detik) | | | | | | | | | |
|------------------------|---------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | |
| CMC Na 0,5% | - | 1.32* | 1.32* | 1.14* | 1.16* | 0.98* | 1.00* | 0.96* | 0.68* | 0.68* | |
| Morfin | 5,46 | 8.46 | 9.02 | 12.43 | 11.80 | 10.16 | 8.72 | 6.62 | 4.20 | 2.52 | |
| Fraksi Air Daun Kratom | | | | | | | | | | | |
| Dosis I | 140 | 2.12* | 1.56* | 1.68* | 2.33* | 1.86* | 2.22* | 1.50* | 1.26* | 0.80* | |
| Dosis II | 280 | 2.88* | 3.78* | 2.22* | 3.86* | 3.90* | 2.90* | 2.66* | 2.88* | 2.00 | |
| Dosis III | 560 | 4.62* | 4.50* | 3.82* | 3.58* | 3.24* | 2.32* | 1.92* | 2.90* | 1.64* | |

Dimulai setelah 30 menit pemberian sediaan uji secara oral pada masing-masing kelompok (kecuali morfin 15 menit sebelum perlakuan), respon nosiseptif dicatat setiap 15 menit selama 2 jam. Keterangan: *berbeda signifikan ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif.

fraksi air daun kratom dosis 140, 280 dan 560 mg/kgBB telah memberikan efek antinosiseptif. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan respon mencit pada kelompok perlakuan dosis I, II dan III jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hingga menit ke-120 pengamatan atau 150 menit setelah pemberian, fraksi air daun kratom dosis I, II dan III masih memberikan efek antinosiseptif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, walaupun efek yang dihasilkan telah berkurang. Efek antinosiseptif yang dihasilkan fraksi air daun kratom lebih lemah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ($P < 0,05$) pada waktu latensi antar kelompok. Pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, dan 105, kelompok kontrol positif memiliki perbedaan bermakna dengan empat kelompok lainnya, yaitu kelompok kontrol negatif, dosis I, dosis II dan dosis III. Hasil analisis pada menit ke-120 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif tidak memiliki perbedaan bermakna ($P > 0,05$) dengan kelompok dosis II, tetapi memiliki perbedaan bermakna

($P < 0,05$) dengan kelompok dosis III. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan efek morfin pada menit ke-120 tidak berbeda dengan penurunan efek pada fraksi air daun kratom dosis 280 mg/kgBB, tetapi memiliki perbedaan terhadap penurunan efek pada fraksi air dosis 560 mg/kgBB.

Aktivitas antinosiseptif fraksi air daun kratom diduga karena adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan saponin. Senyawa utama dalam tanaman kratom yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi tanaman kratom yaitu mitraginin yang merupakan alkaloid golongan indol. Mitraginin belum ditemukan dalam tanaman lain selain kratom (Lesiak, *et al.*, 2014). Hanya spesies *Mitragyna speciosa* yang mengandung senyawa mitraginindi antara tanaman dengan genus *Mitragyna* lainnya (Sanagi, *et al.*, 2013). Senyawa alkaloid yang berperan dalam memberikan efek antinosiseptif dalam daun kratom yaitu mitraginin dan 7-hidroksimitraginin. Mitraginin menunjukkan aktivitas pada reseptor opioid supraspinal μ dan δ , sedangkan 7-hidroksimitraginin berikatan dengan ketiga reseptor opioid (μ , δ dan κ), tetapi

afinitasnya lebih besar pada reseptor μ yaitu 89,9%. Afinitas 7-hidroksimitraginin masing-masing pada reseptor δ dan κ yaitu 5,6% dan 4,6% (Matsumoto, *et al.*, 2004). Reseptor μ bertanggung jawab terhadap efek analgesik, euforia, dan depresi pernafasan (Gunawan dkk., 2012). Aktivitas mitraginindan 7-hidroksimitraginin pada reseptor ini yang menghasilkan efek analgesik/antinosisseptif dari daun kratom, sebagaimana efektifitas daun kratom ketika digunakan untuk terapi gejala kecanduan opioid (Daniels, 2015). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antinosisseptif dengan menghambat prostaglandin yang terlibat dalam persepsi nyeri melalui mekanisme opioid (Gulnur Toker, *et al.*, 2004). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa senyawa saponin secara signifikan dapat memperpanjang waktu latensi pada metode *hot plate* (Pal, *et al.*, 2009; Khan, *et al.*, 2010). Aktivitas analgesik yang dihasilkan oleh saponin kemungkinan dikarenakan menipisnya endogen melalui penghambatan dopamin- β -hidroksilase atau adanya penghambatan pada reseptor yang disebabkan penghambatan mekanisme spesifik post-sinaptik (Mazumder, *et al.*, 1998). Kandungan alkaloid, flavonoid dan saponin dalam fraksi air daun kratom diduga bekerja secara sinergis dalam memberikan efek antinosisseptif. Fraksi air daun kratom dosis 140, 280 dan 560 mg/kgBB memberikan efek antinosisseptif pada mencit namun lebih lemah dibandingkan morfin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa fraksi air daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dosis 140, 280 dan 560 mg/kgBB memberikan efek antinosisseptif pada mencit jantan Swiss. Efek antinosisseptif meningkat dengan meningkatnya dosis yang diberikan. Ketiga kelompok dosis tersebut menunjukkan efek antinosisseptif lebih lemah daripada kontrol positif (Morfin).

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, K. & Aziz, Z., 2012. *Mitragyna speciosa* use in the northern states of Malaysia: A cross-sectional study. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), pp.446–450.

Gulnur Toker, Esra Kupeli, Merve Memisoglu, E.Y., 2004. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *Journal of Ethnopharmacology*, 95, pp.393–397.

Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. *Farmakologi dan terapi. Edisi V.* Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2012.

Jace A. Daniels, 2015. *MITRAGYNA SPECIOSA: AN ANALYTICAL STUDY.* [Thesis]. The University of Alabama at Birmingham.

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), pp.1–6.

Khan, H., Muhammad Saeed, Anwal-Ul-Hassan Gilani, M.A.K. & Ahsana Dar, I.K., 2010. The antinociceptive activity of *Polygonatum verticillatum* rhizomes in pain models. *Journal of Ethnopharmacology*, 127, pp.521–527.

Lesiak AD, Cody RB, Dane AJ, Musah R., 2014. Rapid detection by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) of psychoactive plant drugs of abuse: The case of *Mitragyna speciosa* aka “Kratom.” *Forensic Science International*, 242, pp.210–218.

Matsumoto, K., Syunji Horie, Hayato Ishikawab, H.T., Norio Aimi, Dhavadee Ponglux, Kazuo W., 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, pp.2143–2155.

Mazumder, U.K., Gupta, M. & Rath, N., 1998. CNS Activities of *Cassia fistula* in Mice. *Phytotherapy Research*, 12(April), pp.520–522.

Muhammad, N., 2014. In-Vivo Models for Management of Pain. *Pharmacology & Pharmacy*, 5, pp.92–96.

N.F Idayu, M. Taufik Hidayat, M.A.M.Moklas, F.Sharida, A.R.Nurul Raudzah, A.R.Shamma, and Evhy.A., 2011. Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from *Mitragyna speciosa* Korth in mice model of depression. *Phytomedicine*, 18, pp.402–407.

Pal, D., Sannigrahi, S. & Mazumder, U.K., 2009. Analgesic and anticonvulsant effects of saponin isolated from the leaves of *Clerodendrum infortunatum* Linn. in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47, pp.743–747.

Parthasarathy, S., Juzaili Bin Azizi, Surash Ramanathan, S.I. & Sreenivasan Sasidharan, M.I.M.S. and S.M.M., 2009. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous,

- Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. *Molecules*, 14, pp.3964–3974.
- R. N. Suresha, S. et al., 2014. Evaluation of analgesic activity of perindopril in albino mice. *Journal Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 5(3), pp.129–134.
- Reanmongkol, W., Keawpradub, N. and Sawangjaroen, K., 2007. Effects of the extracts from *Mitragyna speciosa* Korth . leaves on analgesic and behavioral activities in experimental animals. *Journal Science Technology*, 29, pp.39–48.
- Sabetghadam, A., Ramanathan, S. and Mansor, S.M., 2010. The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid , methanolic , and aqueous extracts of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth leaves in rats. *Pharmacognosy Research*, 2(3), pp.181–185.
- Sanagi M, Fauze MM, Norashidah O, Wan Aini Wan Ibrahim and Iqbal Hussaina, 2013. Determination of mitragynine for the identification of mitragyna species in Kedah (Malaysia) by gas chromatography-mass spectrometry. *Der Pharma Chemica*, 5(5), pp.131–138.
- Shamima, A.R., Fakurazi, S. and Hidayat, M.T., 2012. Antinociceptive Action of Isolated Mitragynine from *Mitragyna Speciosa* through Activation of Opioid Receptor System. *International Journal of Molecular Sciences*, 251, pp.11427–11442.
- W.M. Shaik Mossadeq, M.R. Sulaiman, T.A. Tengku Mohamad, H.S. Chiong, Z.A. Zakaria, M.L. Jabit, M.T.H. Baharuldin, D.A.I., 2009. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of *Mitragyna speciosa* Korth. *Medical Principles and Practice*, 18, pp.378–384.
- Yeni Ridayani, 2013. uji efek sedatif fraksi etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) pada mencit Jantan Galur BALB/c. *IPI jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan UNTAN*, 3, pp.1–9.