

**UJI EFEK ANALGETIK EKSTRAK DAUN SIRIH  
HUTAN ( *Piper aduncum L.* ) PADA MENCIT PUTIH  
JANTAN ( *Mus musculus* )**

**DRAFT PROPOSAL**



Oleh :

**ANGGARA PUTRA**  
**NIM : 2020112012**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2023**

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Prevalensi nyeri di Indonesia menunjukkan angka yang sangat tinggi mencapai 50 % pada orang dewasa, dilaporkan rata-rata umur yang menderita nyeri yaitu umur 18 - 25 tahun, tingginya prevalensi nyeri menunjukkan bahwa nyeri masih diabaikan (Khairunisa, 2017).

Nyeri merupakan suatu gejala yang ditimbulkan oleh tubuh sebagai pertanda adanya gangguan atau kerusakan yang terjadi pada jaringan di dalam tubuh. Rasa nyeri timbul sebagai rasa yang tidak nyaman, sehingga banyak orang berusaha untuk membebaskan tubuhnya dari rasa nyeri tersebut sehingga digunakanlah obat analgetik sebagai obat anti nyeri (Tjay dan Rahardja, 2007).

Analgesik merupakan suatu obat yang digunakan sebagai obat anti nyeri tanpa harus menghilangkan kesadaran, beberapa obat yang dapat digunakan sebagai obat analgetik seperti aspirin, ibuprofen, dan asam mafenamat. Obat analgetik yang biasa digunakan memiliki efek samping berupa gangguan pada sistem gastrointestinal (Tjay dan Rahardja, 2015).

Oleh karena itu, perlu dicari alternatif untuk mengurangi rasa nyeri dengan memanfaatkan tumbuhan herbal disekitar kita. Masyarakat Indonesia sangat dikenal dengan kebudayaan, kearifan lokal, serta memiliki gaya hidup yang suka memanfaatkan tumbuhan (Ulfah dan M.A'tourrohman, 2020). Sampai saat ini banyak orang yang mempelajari dan mengkaji secara ilmiah tentang obat-obat tradisional. Hasil yang didapatkan bahwa tumbuhan obat memang memiliki kandungan zat-zat atau senyawa secara klinis yang terbukti bermanfaat bagi

kesehatan (Syafitri, 2014). Secara umum obat tradisional lebih aman dan memiliki efek samping yang lebih relatif rendah (Susianto Pangestu *et al*, 2016).

Salah satu tumbuhan tersebut yaitu tumbuhan sirih hutan yang banyak dijumpai di hutan, di ladang, maupun di pekarangan (Anonimus, 2017). Daun sirih hutan mengandung senyawa-senyawa seperti heksana, sianida, saponin, tanin, flavonoid, steroid, alkaloid, dan minyak atsiri (Hidayat dkk, 2021). Flavonoid berperan sebagai penghambat enzim siklooksigenase I dalam biosintesa prostaglandin yang akan terjadi penghambatan rasa nyeri (Meustika dkk, 2014). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Parise-Pilho *et al*, 2011 ) menunjukkan bahwa dillapiole dan dihydrodillapiole sirih hutan memiliki sifat anti radang dan digunakan sebagai prototipe untuk senyawa antiinflamasi yang lebih baru.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian tentang penggunaan daun sirih hutan sebagai obat nyeri sampai saat ini belum ada dilakukan. Maka, perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut tentang penggunaan daun sirih hutan sebagai obat analgetik. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian tentang uji analgetik ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap mencit putih jantan yang diamati dengan metode hot plate, metode jentik ekor dan metode uji geliat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki efek analgetik pada mencit putih jantan yang diamati dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor ?
2. Apakah ada pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor ?

3. Apakah ada pengaruh variasi waktu pengamatan ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.
3. Untuk mengetahui pengaruh variasi waktu pengamatan ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi tentang kandungan daun sirih hutan yang bermanfaat untuk berbagai macam penyakit.
2. Memberi informasi kepada masyarakat luas tentang efek farmakologis penggunaan ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*).
3. Dapat menjadi dasar pengembangan lebih lanjut tentang ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) sebagai obat tradisional.
4. Menambah wawasan yang luas bagi peneliti tentang penggunaan tumbuhan sebagai obat.

## 1.5 Hipotesis

1. H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki efek analgetik pada mencit putih jantan yang diamati dengan metode hot plate, metode uji geliat, dan metode jentik ekor.

H<sub>1</sub> : Adanya pengaruh ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki efek analgetik pada mencit putih jantan yang diamati dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

2. H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

H<sub>1</sub> : Adanya pengaruh variasi dosis ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

3. H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh variasi waktu pengamatan ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

H<sub>1</sub> : Adanya pengaruh variasi waktu pengamatan ekstrak etanol daun sirih hutan terhadap efek analgetik pada mencit putih jantan dengan metode hot plate, metode uji geliat dan metode jentik ekor.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tanaman sirih hutan adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Superdivisio : Spermatophyta

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper aduncum* L. (Agusta, 2010)



**Gambar 1. Tanaman Sirih Hutan (Fatmawati, 2019)**

### **2.1.2 Penyebaran Tumbuhan**

Sirih hutan (*Piper aduncum L.*) termasuk tumbuhan endemik pulau Papua yang belum banyak digunakan oleh masyarakat. Selain dari itu penelitian tentang sirih hutan juga belum banyak dilaporkan. Beberapa penelitian yang telah mengarah pada pemanfaatan tanaman sirih hutan yakni tentang pemanfaatan buah sirih untuk dijadikan gula (Sasabone. A, *et al*, 2016).

Lebih lanjut Sutarno (2014) mengatakan bahwa Indonesia merupakan satu dari delapan pusat keanekaragaman genetik (Brazil, Indonesia, Kolombia, Australia, Meksiko, Madagaskar, Peru dan Cina), sehingga dapat dipastikan bahwa Indonesia sebagai salah satu asal tumbuhan sirih-sirihan ini.

### **2.1.3 Morfologi Tumbuhan**

Tumbuhan sirih hutan berupa semak, berakar tunggang dan berwarna putih kecoklatan, batang berkayu, batang utama dengan cabang sulit dibedakan. Daun berbentuk oval, runcing-runcing, pangkal membulat, tepi daun rata setiap buku, permukaan dan tangkai daun berbulu halus, silinder 5 - 10 mm, panjang daun 20 - 14cm, lebar 5 - 6 cm, pertulangan menyirip dan warna daun hijau muda, bunga majemuk, bentuk bulir, berkelamin satu atau dua, memiliki daun pelindung yang bertangkai 0,5 - 1,25 mm dan melengkung (Amalia, 2014).

### **2.1.4 Manfaat Tumbuhan**

Daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) telah dikenal oleh masyarakat mempunyai khasiat sebagai pengobatan luka bakar, bisul, batuk, sariawan, dan gangguan saluran pencernaan (Noventi, 2016).

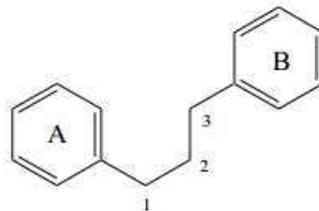
Tumbuhan sirih hutan bermanfaat sebagai obat sakit mata merah. Cara meramunya adalah dengan cara memotong batang tumbuhan sirih hutan tersebut

sampai keluar airnya kemudian diteteskan pada mata yang sakit, 3 tetes setiap pagi dan sore hari (Kinho, 2011).

### 2.1.5 Tinjauan Kimia Tumbuhan

Ekstrak daun sirih hutan mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid (Safriana, 2019). Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman sangat rendah, sekitar 0,25%. Komponen tersebut pada umumnya terdapat dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Winarsi, 2007). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Pada tumbuhan flavonoid ini berfungsi sebagai pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, antimikroba dan antivirus.

1. Flavonoid
  - a. Monografi



**Gambar 2. Struktur Umum Flavanoid (Harborne, 1987)**

Flavonoid merupakan suatu senyawa polar dengan adanya beberapa gugus hidroksil bebas, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti methanol, etanol, butanol dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, sedangkan aglikon yang kurang polar seperti flavonoid yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (Arifin dkk, 2018).

b. Identifikasi

Dapat diidentifikasi dengan besi (III) Klorida yang menunjukkan adanya gugus fenolik pada flavonoid. Pereaksi asam klorida pekat dan logam magnesium menunjukkan adanya gugus ion. Pereaksi alumunium klorida bereaksi dengan basa (Natrium Hidroksida, Ammonia) yang akan membentuk garam (Harborne, 1987).

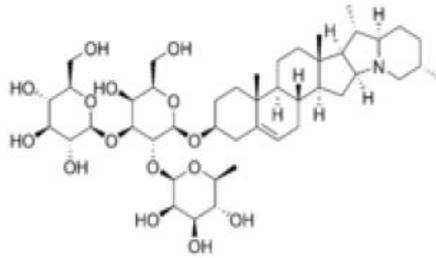
c. Isolasi

Isolasi dapat dilakukan dengan cara menimbang, mencuci, dan mengeringkan terlebih dahulu, kemudian diekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, dan sokletasi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran flavonoid, kemudian pelarut dipekatkan sampai volume yang dibutuhkan dan dibebaskan dari senyawa senyawa non polar menggunakan N-Heksan atau kloroform, lalu difraksinasi dengan pelarut yang cocok dan selanjutnya dilakukan tahap kromatografi (Harborne, 1987).

d. Penetapan Kadar

Ambil ekstrak sebanyak 0,5 mL tambahkan 1,5 mL methanol, tambahkan 0,1 mL alumunium klorid 10%, tambah 0,1 mL potassium asetat 1M dan tambahkan air suling 2,8 mL, biarkan 10 menit dan ukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Visible (Pourmorad *et al.*, 2006).

2. Saponin
  - a. Monografi



**Gambar 3. Struktur Utama Saponin (Harborne, 1987)**

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Robinson, 1995).

- b. Identifikasi

Pada uji Saponin positif bila ditambahkan dengan aquadest panas akan terbentuk busa / buih selama 15 menit. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marlina *et al*, 2005).

- c. Isolasi

Isolasi dapat dilakukan dengan cara menimbang, mencuci, dan mengeringkan terlebih dahulu, kemudian diekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi, perlokasi, dan sokletasi menggunakan pelarut dipekatkan sampai volume yang dibutuhkan dan dibebaskan dari senyawa-senyawa non polar menggunakan N-Heksan atau Kloroform, lalu difraksinasi dengan pelarut yang cocok dan selanjutnya dilakukan tahap kromatografi (Harborne, 1987).

d. Penetapan Kadar

Buat standar saponin 100 ppm dan menotolkan sebanyak 5 $\mu$ L, mengemulsi campuran tersebut dengan eluen CHCl<sub>3</sub>, etanol, etil asetat selama 45 menit, ukur dengan scanner TLC pada panjang gelombang 301 nm. (Shafa Noer, *et al.* )

### 2.1.6 Tinjauan Farmakologi

Efek farmakologi sirih hutan antara lain untuk mengeluarkan angin (karminatif), pengencer dahak (ekspektoran), anti inflamatori, imunomodulatori, antiulcer, hepatoprotektif, neuroprotektif, gastroprotektif, antioksidan, antidiabetes, antifertilitas, dan aprodisiak (Pradhan *et al.*, 2013). Golongan obat analgesik dibagi menjadi dua yaitu analgesik narkotik dan analgesik non-narkotik. Obat analgesik narkotik digunakan untuk meredakan rasa nyeri pada fraktur dan kanker, contoh obatnya, metadon, fentanil, kodein. Sedangkan analgesik non-narkotik cenderung meredakan atau menghilangkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran, contoh obatnya, paracetamol, salisilat, penghambat prostaglandin (NSAID) ibuprofen, benzidamin (Mita, S.R., Husni, 2017).

### 2.1.7 Tinjauan Farmasetik

Nusa Tenggara Timur (NTT) yang memiliki banyak tanaman bahan alam hayati mempunyai potensi yang sangat penting dalam kaitan pembuatan *lotion* anti nyamuk, salah satu contoh bahan alam hayati yaitu daun sirih dan buah sirih. Masyarakat mengenal manfaat dari daun sirih sebagai pengobatan tradisional dan juga dapat digunakan untuk menghilangkan bau badan. Hal ini menunjukkan potensi bahan aktif daun sirih dapat digunakan sebagai *lotion* anti nyamuk, namun kendalanya pada proses pembuatan yang rumit dan belum diketahui oleh kalangan masyarakat (lelang mas simeon, 2021).

### **2.1.8 Ekstraksi**

Metode ekstraksi daun tumbuhan *P. Aduncum L.* menggunakan metode maserasi mengacu dari cara kerja Maija (2015), sebab struktur sampel daun yang cukup lunak. Dibersihkan daun terlebih dahulu (sortasi basah), kemudian mencucinya dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya merajang daun tersebut sampai berukuran kecil dan kemudian menimbanginya sehingga diperoleh berat basah yang diperlukan. Dikeringkan hasil rajangan daun dengan menggunakan oven pada suhu 40° C selama  $\pm$  8 jam. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kandungan air dan simplisia, sehingga mencegah tumbuhnya jamur. Setelah proses pengeringan, daun kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering yang diperlukan.

## **2.2 Nyeri**

### **2.2.1 Pengertian Nyeri**

Nyeri adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan dan yang berkaitan dengan (ancaman) kerusakan jaringan. Rasa nyeri dalam kebanyakan hal yang merupakan suatu gejala, yang berfungsi melindungi tubuh. Nyeri disebabkan oleh rangsangan mekanis, kimiawi atau fisis (kalor, listrik), dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan (Tjay dan Rahardja, 2002).

### **2.2.2 Jenis Nyeri**

Menurut (DiPiro *et al.*, 2008) penggolongan nyeri menjadi 2 bagian, yaitu :

#### **1. Nyeri akut**

Nyeri akut dapat terjadi proses peringatan fisiologis individu dari adanya penyakit dan kondisi berbahaya. Secara umum nyeri akut terjadi akibat pembedahan, penyakit akut, trauma, aktivitas dan prosedur medis.

## 2. Nyeri kronik

Pada kondisi normal, nyeri akut dapat menghilang dengan cepat karena adanya proses penyembuhan dengan mengurangi produksi rangsangan nyeri. Namun dalam beberapa kasus, nyeri tetap terjadi selama berbulan-bulan sampai bertahun-tahun, yang mengarah ke perasaan nyeri kronis dengan karakteristik berbeda dengan nyeri akut.

### **2.2.3 Patofisiologi Nyeri**

Nyeri adalah gejala penyakit atau kerusakan yang sering terjadi. Fungsinya untuk melindungi dan memberikan tanda bahaya tentang adanya gangguan-gangguan di tubuh seperti peradangan, infeksi, termal, kimia, atau listrik melampaui suatu nilai ambang tertentu (nilai ambang nyeri) dan karena itu menyebabkan kerusakan jaringan, membebaskan mediator nyeri yang dapat merangsang reseptor nyeri. Reseptor-reseptor nyeri terletak pada ujung-ujung saraf bebas kulit, selaput lendir dan jaringan internal tertentu seperti peritoneum, dinding arteri dan permukaan sendi. Dari tempat ini rangsangan dialirkan melalui saraf-saraf sensorik ke sistem saraf pusat melalui sumsum tulang belakang ke talamus dan kemudian ke pusat nyeri di dalam otak besar, dimana rangsangan dirasakan sebagai nyeri (Tjay dan Rahardja, 2002).

### **2.2.4 Penggolongan Obat Analgetik**

Menurut (Tjay dan Rahardja, 2002), analgetik berdasarkan efek farmakologi dibagi menjadi 2 yaitu:

#### 1. Analgetik narkotik

Zat ini mempunyai daya penghilang nyeri yang kuat sekali dengan titik kerja yang terletak di sistem saraf sentral, analgetik ini umumnya menurunkan kesadaran

dan menimbulkan rasa nyaman, serta mengakibatkan ketergantungan fisik dan psikis bila pengobatan dihentikan.

## 2. Analgetik non-narkotik

Analgetik non-narkotik bersifat tidak adiktif dan kurang kuat dibandingkan dengan analgetik perifer, tidak menurunkan kesadaran dan tidak mengakibatkan ketergantungan secara kimiawi.

Menurut (Wells, BG.dkk, 2017) tingkatan nyeri ada 3 jenis yaitu nyeri ringan, nyeri sedang, dan nyeri kuat. Nyeri ringan dapat ditangani dengan golongan obat analgetik non-narkotik seperti asetosal, asam mafenamat, natrium salisilat, ibuprofen, dan ketoprofen.

### **2.2.5 Asetosal**

Asetosal menghambat secara non selektif enzim siklooksigenase-1 (COX-1), yang berhubungan dengan saluran cerna, ginjal dan menghambat agregasi platelet. Asetosal juga menghambat enzim siklooksigenase-2 (COX-2) yang berhubungan dengan respon inflamasi (Anderson *et al.*, 2001).

Salah satu obat yang dapat digunakan untuk meredakan atau menghilangkan rasa nyeri adalah aspirin. Dimana aspirin bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin. Prostaglandin dapat menyebabkan sensitisasi reseptor nyeri terhadap rangsangan (stimulus) mekanik dan kimiawi. Efek analgesik obat mirip aspirin hanya efektif untuk nyeri dengan intensitas rendah sampai sedang. Efek analgesiknya jauh lebih lemah dari efek analgesik opioid (kelompok obat yang memiliki sifat seperti opium atau morfin). Tetapi berbeda dengan opioid, obat mirip aspirin tidak menimbulkan ketagihan dan tidak menimbulkan efek samping sentral yang merugikan (Winarti, 2011).

Pada anak-anak, asetosal dilaporkan dapat menyebabkan *Reye's syndrome* (suatu gangguan serius pada sistem hepatik dan susunan syaraf pusat), karena itu sebaiknya tidak digunakan pada anak-anak di bawah 12 tahun. Selain itu, asetosal juga dapat memicu kekambuhan asma. Sebanyak 20% pasien asma memiliki sensitivitas / alergi terhadap aspirin. Sebaiknya juga tidak digunakan pada pasien dengan riwayat alergi (rinitis, urtikaria, asma, anafilaksis dan lain-lain). Asetosal sebaiknya tidak digunakan pada wanita hamil karena dapat memperpanjang waktu kelahiran dan meningkatkan resiko pendarahan pasca kelahiran (*post-partum*) (Ikawati, 2012).

#### **2.2.6 Uji Analgetik**

Metode-metode pengujian analgetik dilakukan dengan menilai kemampuan zat uji untuk menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi pada hewan percobaan, yang meliputi induksi secara mekanik, termik, elektrik dan secara kimia. Metode pengujian dengan induksi nyeri secara mekanik atau termik lebih sesuai untuk mengevaluasi obat-obat analgetik kuat. Pada umumnya daya kerja analgetik dinilai pada hewan dengan mengukur besarnya peningkatan stimulus nyeri yang harus diberikan sampai ada respon nyeri atau jangka waktu ketahanan hewan terhadap stimulus nyeri atau juga peranan frekuensi respon nyeri (Tusthi, 2011).

##### **1. Stimulasi kimia**

Stimulasi kimia biasanya disebut juga metode induksi cara kimia atau metode Siegmund. Obat uji dalam metode tersebut dinilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri setelah diinduksi secara kimia dengan pemberian zat yang dapat digunakan sebagai perangsang nyeri seperti : larutan 0,02% fenilquinon dalam etanol 96%, asam asetat, kalsium klorida 1,8%, klorobutanol, 5-

hidroksitripton, magnesium sulfat 2%. Pemberian zat tersebut dilakukan secara intraperitoneal pada hewan uji mencit. Rasa nyeri pada mencit diperlihatkan dalam bentuk respon geliat. Frekuensi gerakan ini dalam waktu tertentu menyatakan derajat nyeri yang dirasakannya (Tuhu, 2007).

## 2. Stimulasi panas

Hewan percobaan ditempatkan di atas plat panas dan suhu tetap sebagai stimulus nyeri akan memberikan respon dalam bentuk mengangkat atau menjilat telapak kaki depan atau meloncat. Selang waktu antara pemberian stimulasi nyeri dan terjadinya respon, yang disebut dengan waktu reaksi dapat diperpanjang dengan pemberian obat-obat analgetik. Perpanjangan waktu reaksi ini selanjutnya dijadikan sebagai ukuran dalam mengevaluasi aktivitas analgetik. Metode pengujian nyeri ini lebih sesuai untuk mengevaluasi obat analgetik kuat. Cara ini untuk obat golongan analgetik narkotik (Tuhu, 2007).

## 3. Stimulasi mekanik

Stimulasi mekanik merupakan stimulasi tertua yang digunakan untuk eksperimen pada hewan. Ekor hewan uji diletakkan pada tempat tertentu kemudian diberi tekanan tertentu. Rangsang nyeri didasarkan pada gerakan meronta dan suara hewan uji setelah diberi obat dengan sebelum diberi obat. Cara ini cocok untuk obat golongan analgetik non-narkotik (Tuhu, 2007).

#### 4. Stimulasi listrik

Metode ini telah digunakan untuk menimbulkan rasa nyeri. Prinsip kerja metode ini adalah ekor hewan diletakkan pada tempat yang dapat dialiri listrik, kemudian diberi aliran listrik. Rangsang nyeri didasarkan pada gerakan tersentak dan melompat. Efek analgetik dinyatakan sebagai selisih tegangan yang didapat antara hewan uji setelah diberi obat dengan sebelum diberi obat. Cara ini cocok diberikan untuk obat golongan analgetik non-narkotik (Tuhu, 2007).

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan selama  $\pm$  6 bulan (Januari – Juni) di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

### **3.2 Metode Penelitian**

Metode yang akan dilakukan adalah metode ekperimental in vivo dengan menggunakan mencit putih jantan sebagai hewan uji.

### **3.3 Desain Penelitian**

Desain Penelitian yang digunakan adalah desain penelitian eksperimental. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan umur 2 - 3 bulan dan berat 20 – 30 gram sebanyak 25 ekor dengan pengelompokan secara acak yang telah diinduksi perangsang nyeri.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah kandang hewan percobaan, timbangan hewan percobaan, timbangan analitik, botol maserasi, *hot plate* / plat panas, seperangkat alat *rotary evaporator*, lumpang dan stamper, kaca arloji, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, batang pengaduk, stopwatch, sonde, penangas air, thermometer, kawat kasa, lampu spritus dan landasan penopang kaki tiga.

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah makanan standar mencit, daun sirih hutan (*Piper aduncumL.*), aquadest, asam asetat 1%, etanol 70%, Na CMC dan Asetosal.

### **3.5 Tahapan Penelitian**

#### **3.5.1 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) yang diambil di Tabing, Padang, Sumatera Barat.

#### **3.5.2 Identifikasi Sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang (UNAND).

#### **3.5.3 Pembuatan Simplisia**

Daun tumbuhan sirih hutan diambil sebanyak 3 kg dicuci bersih, kemudian dikeringkan di udara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia).

#### **3.5.4 Ekstraksi Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum L.*)**

Timbang simplisia daun sirih hutan lalu diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan etanol 70% (1:10), dilakukan pengadukan secara bertahap (3 x 24 jam). Setelah 3 hari ekstrak tersebut dipisahkan dengan menggunakan kertas saring, lalu dilakukan remaserasi, yaitu dilakukan pengulangan penyaringan sampai mendapatkan ekstrak bening, dan maserat hasil pemisahan dikumpulkan. Selanjutnya maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

### **3.6 Karakterisasi Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum L.*)**

#### **3.6.1 Pemeriksaan Organoleptis**

Dilakukan dengan pengamatan panca indera yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa.

### 3.6.2 Penentuan Rendemen Ekstrak

Sampel yang telah dibersihkan ditimbang (A) dan ekstrak diperoleh ditimbang kembali (B). Rendemen dihitung dengan rumus (Departemen Kesehatan RI, 2008).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{B \text{ (gram)}}{A \text{ (gram)}} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat sampel awal (g)

B = Berat ekstrak yang diperoleh (g)

### 3.6.3 Penentuan Susut Pengeringan

Bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum (rentang) senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Krush porselen dipanaskan dalam oven 105° C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan berat awal ditimbang (W<sub>0</sub>). Masukkan ekstrak sebanyak 1 gram kedalam krush tersebut dan ditimbang kembali (W<sub>1</sub>). Kemudian krush di goyang secara perlahan-lahan agar ekstrak merata. Dimasukkan ke dalam oven, buka tutup krush dan biarkan kursh terbuka dalam oven. Panaskan selama 2 jam pada suhu 105° C, dinginkan dalam desikator kemudian timbang kembali (W<sub>2</sub>). Ulangi perlakuan di atas hingga diperoleh bobot tetap (Departemen Kesehatan RI, 2008). Hasil penimbangan dicatat, dan dihitung susut pengeringannya dengan persamaan :

$$\text{Susut Pengerinan} = \frac{(W_1 - W_0) - (W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100 \%$$

Keterangan :

$W_0$  = Kurs timbang (g)

$W_1$  = Kurs timbang + ekstrak (g)

$W_2$  = Kurs timbang + hasil pengeringan (g)

### 3.6.4 Penentuan Kadar Abu

Alat yang digunakan untuk penentuan kadar abu adalah furnes. Selanjutnya timbanglah krus tabung kosong ( $W_0$ ) kemudian tambahkan ekstrak kedalam sebanyak 2 gram kedalam krus yang sudah ditimbang ( $W_1$ ), dipijarkan perlahan-lahan. Kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga  $600 \pm 25^\circ \text{C}$  sampai bebas karbon, selanjutnya dinginkan dalam desikator, serta timbang berat abu ( $W_2$ ). Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal (Departemen Kesehatan RI, 2000).

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Keterangan :

$W_0$  = Berat krush kosong

$W_1$  = Berat krush + ekstrak

$W_2$  = Berat krush + hasil pemijaran

### 3.6.5 Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak daun sirih hutan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform (Harborne, 1987).

1. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

Ambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes lalu ditambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

2. Uji Saponin

Ambil lapisan air, dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ( $\pm$  15 menit) menunjukkan adanya saponin (Harborne, 1987).

3. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Ambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan norit, ditambahkan  $H_2SO_4(p)$ , ditambahkan asam asetat anhidrat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid (Sangi dkk, 2008).

4. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)

Ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0.05 N, aduk perlahan tambahkan beberapa tetes  $H_2SO_4$  2N kemudian dikocok perlahan, biarkan memisah, lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

5. Uji Fenolik

Ambil lapisan air 1 - 2 tetes, teteskan pada plat tetes lalu tambahkan pereaksi  $FeCl_3$ , terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

### **3.7 Cara Kerja**

#### **3.7.1 Persiapan Hewan Percobaan**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan dengan berat badan 20 - 30 g. Sebelum digunakan sebagai hewan percobaan, semua mencit di aklimatisasi terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk

penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan dan berat badan serta menyeragamkan makanannya.

### 3.7.2 Dosis Yang Direncanakan

Daun sirih (Pipper betle Linn) yang digunakan dalam penelitian (Yasmin, 2010), dibuat 3 variasi dosis dengan dosis 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB, dan 140 mg/KgBB. Pemberian ekstrak dengan dosis 140 mg/KgBB pada 5 menit kedua memiliki efek yang paling baik untuk mengurangi jumlah geliat mencit.

1. Dosis ekstrak daun sirih hutan yang digunakan adalah dosis 35 mg/KgBB, dosis 70 mg/KgBB dan dosis 140 mg/KgBB.
2. Dosis asetosal yang di gunakan adalah 650 mg/Kg BB.
3. Dosis asam asetat yang digunakan adalah 1 %.
4. Dosis Na CMC yang digunakan adalah 500 mg/ml.

### 3.7.3 Penyiapan Suspensi Ekstrak Daun Sirih Hutan

Suspensi ekstrak daun sirih hutan dibuat dengan cara Na CMC 0,5% ditimbang 500 mg dikembangkan dengan 20 kali air panas, setelah mengembang digerus hingga homogen, kemudian ditambahkan ekstrak daun sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang telah direncanakan, digerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai volume 100 mL.

Konsentrasi dosis dapat ditetapkan berdasarkan rumus :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat badan} \left( \frac{\text{g}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Untuk mencit 20 g :

$$\begin{aligned} \text{VAO} &= 1\% \times \text{BB} \\ &= 1\% \times 20 \text{ g} \\ &= 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dosis 1 : 35 mg/Kg BB

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{35 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 3,5 \text{ mg/mL} \\ &= 35 \text{ mg/10 mL} \\ &= 350 \text{ mg/100 mL} \\ &= 0,35\text{g/100 mL} \\ &= 0,35 \% \end{aligned}$$

Dosis 2 : 70 mg/Kg BB

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{70 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 7 \text{ mg/mL} \\ &= 70 \text{ mg/10 mL} \\ &= 700 \text{ mg/100 mL} \\ &= 0,7 \text{ g/100 mL} \\ &= 0,7 \% \end{aligned}$$

Dosis 3 : 140 mg/Kg BB

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{140 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 14 \text{ mg/ mL} \\ &= 140 \text{ mg/10 mL} \\ &= 1400 \text{ mg/100 mL} \\ &= 1,4 \text{ g/ 100 mL} \\ &= 1,4 \%\end{aligned}$$

#### 3.7.4 Penyiapan Dosis Asetosal

Dosis asetosal yang digunakan pada manusia adalah 500 mg kemudian dikonversikan ke mencit (20 gr)  $500 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,3 \text{ mg/20grBB}$  atau 65 mg/kgBB.

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{dosis /bb mencit} \times \text{bb mencit}}{\text{VAO}} \\ &= \frac{1,3 \text{ mg} / 20\text{gr} \times 20 \text{ gr}}{0,2\text{ml}} \\ &= 6,5 \text{ mg/ml} \longrightarrow 650 \text{ mg/100ml}\end{aligned}$$

#### 3.7.5 Penyiapan Larutan Asam Asetat

Larutan asam asetat 1% digunakan sebagai senyawa penginduksi rasa nyeri pada mencit.

### 3.7.6 Pembuatan Sediaan Uji

1. Pembuatan larutan kontrol Na.CMC 0,5%

Na CMC ditimbang sebanyak 500 mg, lalu dikembangkan dengan air panas 20 kali berat Na CMC, kemudian digerus hingga menjadi masa yang homogen dan diencerkan dengan aquadest sampai 100 ml.

2. Suspensi ekstrak daun sirih hutan

Suspensi Na CMC yang telah dibuat ditambahkan ekstrak etanol daun sirih hutan yang telah ditimbang sesuai dengan konsentrasi yang digunakan.

3. Pembuatan suspensi sediaan pembanding

Yang digunakan sebagai pembanding adalah Asetosal dengan dosis 650 mg/kgBB mencit yang telah dikonversikan kepada mencit. Asetosal ditimbang 650 mg digerus dalam lumpang dan ditambahkan dalam larutan 1 suspensi Na CMC 0,5%.

4. Pembuatan larutan asam asetat 1% sebanyak 25 ml.

Larutan asam asetat dibuat dengan cara pengenceran dari larutan asam asetat glasial 100% v \ v dengan volume pengambilan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$V1 . C1 = V2 . C2$$

$$V1. 100\% = 25 \text{ ml. } 1\%$$

$$V1 = 0,25 \text{ ml}$$

Sebanyak 0,25 ml asam asetat glasial kemudian ditambah aquades hingga 25 ml menggunakan labu ukur 25 ml.

### 3.7.7 Pengujian Aktifitas Analgetik

#### a. Pengukuran dengan Metode Jentik Ekor (Khotib, 2006)

1. Aklimatisasi mencit selama 1 minggu.
2. Mencit ditimbang, masing-masing dari ekor mencit dimasukkan ke dalam penangas air dengan suhu 50° C. Respon nyeri yang timbul berupa gerak reflek ekor keluar dari penangas air dan diukur waktu yang diperlukan sampai gerak reflek ekor keluar dari penangas air, hasil pengamatan dicatat sebagai respon normal masing-masing mencit terhadap stimulus nyeri.
3. Perlakuan pada masing-masing kelompok mencit adalah sebagai berikut :
  - a. Kelompok I : Larutan Na-CMC 0,5% sebagai kontrol negatif.
  - b. Kelompok II : Diberi Asetosal (sebagai pembanding) dalam larutan Na-CMC.
  - c. Kelompok III : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 35 mg/kg BB secara per oral.
  - d. Kelompok IV : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 70 mg/kg BB secara per oral.
  - e. Kelompok V : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 140 mg/kg BB secara per oral.
4. Lakukan pengujian jentik ekor dan catat waktu responnya ( Respon berupa ekor keluar atau terangkat dari dalam penangas ) pada menit 10', 20', 30', 60', 90' dan 120' setelah perlakuan.

- b. Pengukuran dengan Metode *Hot Plate* (Christiana *et al.*, 2012)**
1. Aklimatisasi mencit selama 1 Minggu.
  2. Mencit ditimbang, masing-masing mencit ditempatkan pada *hot plate* dengan suhu 55 - 56°C, catat waktu yang diperlukan saat mencit diletakkan di atas *hot plate* sampai mencit menimbulkan respon mengangkat, menjilat telapak kaki depan atau meloncat. Hasil pengamatan dicatat sebagai respon normal masing-masing mencit terhadap stimulus nyeri.
  3. Perlakuan pada masing-masing kelompok mencit adalah sebagai berikut :
    - a. Kelompok I : Larutan Na-CMC 0,5% sebagai kontrol negatif.
    - b. Kelompok II : Diberi Asetosal (sebagai pembanding) dalam larutan Na-CMC.
    - c. Kelompok III : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 35 mg/kg BB secara per oral.
    - d. Kelompok IV : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 70 mg/kg BB secara per oral.
    - e. Kelompok V : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 140 mg/kg BB secara per oral.
  4. Lakukan uji pada *hot plate* dan catat waktu responnya ( Respon berupa saat hewan percobaan mengangkat kaki atau menjilati kakinya di atas hot plate ) pada menit 10', 20', 30', 60', 90' dan 120' setelah perlakuan.

**c. Pengukuran dengan metode Uji Geliat (Sundari *et al.*, 2005)**

1. Hewan percobaan di aklimatisasi.
2. Setelah ditimbang, hewan percobaan dikelompokkan secara acak, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok uji. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.
3. Perlakuan pada masing-masing kelompok mencit adalah sebagai berikut :
  - a. Kelompok I : Larutan Na-CMC 0,5% sebagai kontrol negatif dan diberi induksi asam asetat 1%.
  - b. Kelompok II : Diberi Asetosal (sebagai pembanding) dalam larutan Na-CMC dan diberi induksi asam asetat 1%.
  - c. Kelompok III : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 35 mg/kg BB secara per oral dan diberi induksi asam asetat 1%.
  - d. Kelompok IV : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 70 mg/kg BB secara per oral dan diberi induksi asam asetat 1%.
  - e. Kelompok V : Diberi ekstrak etanol daun sirih hutan dengan dosis 140 mg/kg BB secara per oral dan diberi induksi asam asetat 1%.

Sediaan uji diberikan 30 menit sebelum diinduksi asam asetat, lalu diamati dan dicatat jumlah geliat terjadi setiap 5 menit selama 30 menit. Jumlah geliatan untuk tiap kelompok dirata-ratakan.
4. Dihitung persentase proteksi analgetik pada masing-masing kelompok dosis.

### **3.7.8 Analisa Data**

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis varian (ANOVA) dua arah. ANOVA ini digunakan karena data yang diperoleh bersifat objektif, kategorik dan numerik. ANOVA dua arah digunakan karena pada parameter ini ada dua variabel bebas dan dua variabel terikat. Dua variabel bebasnya adalah variasi dosis yang digunakan dengan waktu pengamatan pada 3 metoda yang dipakai, sedangkan dua variabel terikatnya adalah hasil pengamatan atau data yang diperoleh dari pengaruh variasi dosis dan waktu pengamatan. Jika hasil yang diperoleh signifikan ( $P < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji duncan yang bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil antara masing-masing kelompok perlakuan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.R., Juwita, J., Ratulangi, S.A.D., & Malik, A. 2015. *Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (Etilingera elatior (Jack) R.M.SM)*. Pharmaceutical Sciences and Research.
- Ali S, Baharuddin M, Sappewali S. *Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe (Zingiber officinale Roscoe) terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Escheria coli*. Al-Kimia 2013,1(2), 18-31.
- Amalia. 2014. "Pengaruh Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Daun Sirih (Piper bettle)". *Skripsi*. Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Anderson, P.O, Knoben, J.E, Troutman, W.G, 2001, "Handbook of clinical drug data", 11th Ed. Mc Graw Hill, New york, P.
- Anonymous. 2017. *Pedoman Pemeliharaan Lohman Broiler MB 202*. Japfa Poultry Breeding Division. Jakarta : PT Japfa Comfeed Indonesia Tbk.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah, Vol 6 No (1), Hlm 21–29*.
- Arneti. 2012. "Bioaktivitas ekstrak buah Piper aduncum L. (Piperaceae) terhadap Crocidolomia pavonana (F.) (Lepidoptera: crambidae) dan formulasinya sebagai insektisida botani". *Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Andalas : Padang.
- Balitbangkes, 2019. *Riset Kesehatan Dasar 2018*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : Kementrian Kesehatan RI.
- B.G.Wells,J.T. Dipiro, T.L. Scwinghammer, and C.V. Dipiro. 2017. "Pharmacotherapy Handbook", 10th edition. McGraw Hills Professional.
- Christiana, I, Evacuasiyany, E, Hidayat, M, 2012, Efek Analgetik Infusa Kulit Kayu Rapat (Parameria laevigata ( Juss , ) Moldenke ) Pada Mencit Jantan yang Diinduksi Rangsang Termik, *Jurnal Medika Planta, 2(1), P.69-76*.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional*.
- Departemen kesehatan RI, 2008. *Farmakope herbal indonesia (I)*. Jakarta : Ditjen POM.
- Dipiro, J. T., Dipiro, C.V., Wells, B.G., & Scwinghammer, T.L. 2008. *Pharmacoteraphy Handbook Seventh Edition*. USA : McGraw-Hill Company.
- Gholib, D. 2009. "Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Karuk (Piper sarmentosum. Roxb) Dan Daun Seserehan (Piper aduncum L) Terhadap Trichophyton mentagrophytes (Inhibition Test of Ethanolic Extract of

Karuk Leaf (*Piper sarmentosum*, *Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner*,” 815–819

Harborne, J.B, 1987, *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, Bandung: Institut teknologi bandung.

Hidayat, Novita, Yandi, dan Ulpah. 2021. Potensi pemanfaatan daun sirih hutan dan daun mimba untuk mengendalikan hama gudang kacang tanah dengan metoda bantalan kasa : literatur review. *Jurnal Dinamika Pertanian*. 37(1) : 29-36

Ikawati, Zullies, Ph.D, 2012, “*Farmakoterapi peyakit sistem syaraf pusat*”, Bursa ilmu karangkajen : Yogyakarta.

Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. 2019. “Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri”. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*.

Khotib, J, 2006, Mekanisme Molekular Toleransi Obat Anti Nyeri Opiod, *Jurnal farmasi indonesia*, 3(1), P, 1-8.

Kinho, J. 2011. *Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara Jilid I*. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.

Maija, F. 2015. “Uji daya hambat ekstrak daun *Harrisonia perforata* Merr terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*”. *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu.

Mardiana. 2016. “Aktivitas air rebusan beberapa tanaman dalam menekan pertumbuhan jamur *Colletotrichum musae* (Berk of Curt) penyebab penyakit antraknosa pada buah pisang secara *in vitro*”. *Skripsi*. Universitas Andalas : Padang.

Marlina, 2005, *Metode penelitian tanaman obat bandung*, Bandung.

Mita, S.R., Husni, P. 2017. Pemberian pemahaman mengenai penggunaan obat analgesik secara rasional pada masyarakat di Arjasari Kabupaten Bandung. *Jurnal Aplikasi Ipteks Untuk Masyarakat*, 6(3)

Noventi W. 2016. *Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau ( Piper betle L .) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris*. Studi Pendidikan Dokter, Fak Kedokteran, Univ Lampung.

Nova C. 2016. “Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun sirih lengkung (*Piper aduncum* L.)”. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

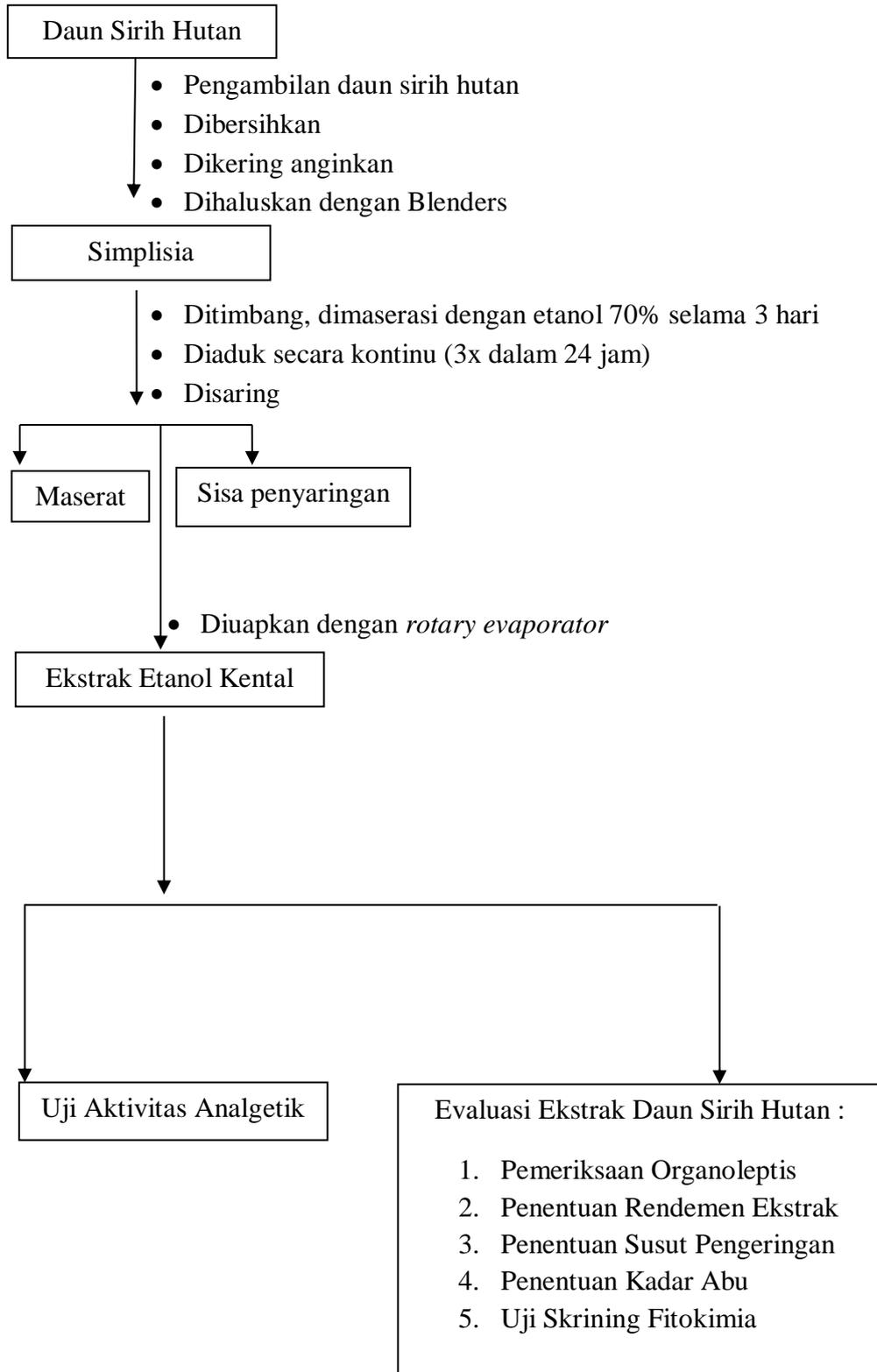
Parise-Filho, R., Pastrello, M., Pereira Camerlingo, C. E., Silva, G. J., Agostinho, L. A., De Souza, T., Motter Magri, F. M., Ribeiro, R. R., Brandt, C. A., & Carneiro Polli, M. 2011. The anti-inflammatory activity of dillapiole and

some semisynthetic analogues. *Pharmaceutical Biology*, 49(11), 1173–1179.

- Periyanayagam, K., M. Jagadeesan, S.Kavimani, and T.Vetriselvan. 2012. Phaemacognostical and Phyto-physicochemical profile of the leaves of piper betle L. Var Pachaikodi (Piperaceae) – Valuable assessment of its quality. *Asian Pacific Joournal of Tropical Biomedicine*.
- Pradhan, D. 2013 ‘Golden Heart of the Nature : Piper betle L .’, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), pp. 147–167.
- Pourmorad, F, Hosseinimehr, S,J, Shahabimajdi, N, 2006, Antioxidant Activity, Phenol, and Flavanoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of biotechnology*, 5(11), 1142-1145.
- Pujiwati, Sri . 2015. Gambaran Kadar Asam Mafenamat Dalam Obat Antinyeri Yang Berada Pada Warung-Warung Di Kecamatan Kedamaian Kota Bandar Lampung. Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Tanjungkarang. *Jurnal Analis Kesehatan*, 4(1).
- Robinson, 1995, *Kandungan senyawa organik tumbuhan tinggi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Shafa Noer, Rosa Dewi Pratiwi, Efri Gresinta, 2018 Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia ( Tanin, saponin, dan flavanoid sebagai kuersetin ) Pada Ekstrak Daun Inggu ( *Ruta angustifollia L.*), *Jurnal ilmu ilmu MIPA*.
- Sangi, M : Runtuwene, M.R,J, Simbala, H.E.I dan Makang, V.M.A, 2008, *Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten minahasa utara*, *Chemistri Progres*, 1,47-53.
- Sasabone. A. 2016. “Optimasi Pengolahan Gula Dari Buah Tumbuhan Sirih Hutan (*Piper Caducibracteam C.Dc*)”. *Biolearning Journal*.
- Sundari, D, Gusmali. M, Nuratmi, B, 2005, *Uji khasiat infus kayu rapet ( Parameria laevigata ( juss.) Moldenke ) pada mencit putih, Media litbang kesehatan*, 15(4), P,8-11.
- Susianto Pangestu & Triswanto Sentat, 2016. “Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dengan Induksi Nyeri Asam Asetat”, *Akademi Farmasi : Samarinda*.
- Sutarno. 2014. “Penurunan dan Upaya Pengelolaan untuk Menjamin Kemandirian Bangsa. Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia”, Depok.
- Syafitri, A. S. 2014. “Keamanan dan Khasiat Mutu Kemangi”. Yogyakarta : Pustaka Baru Press.
- Tjay, H.T., dan Rahardjo, K., 2015, *Obat-Obat Penting, Edisi VII*, PT.Gramedia, Jakarta.

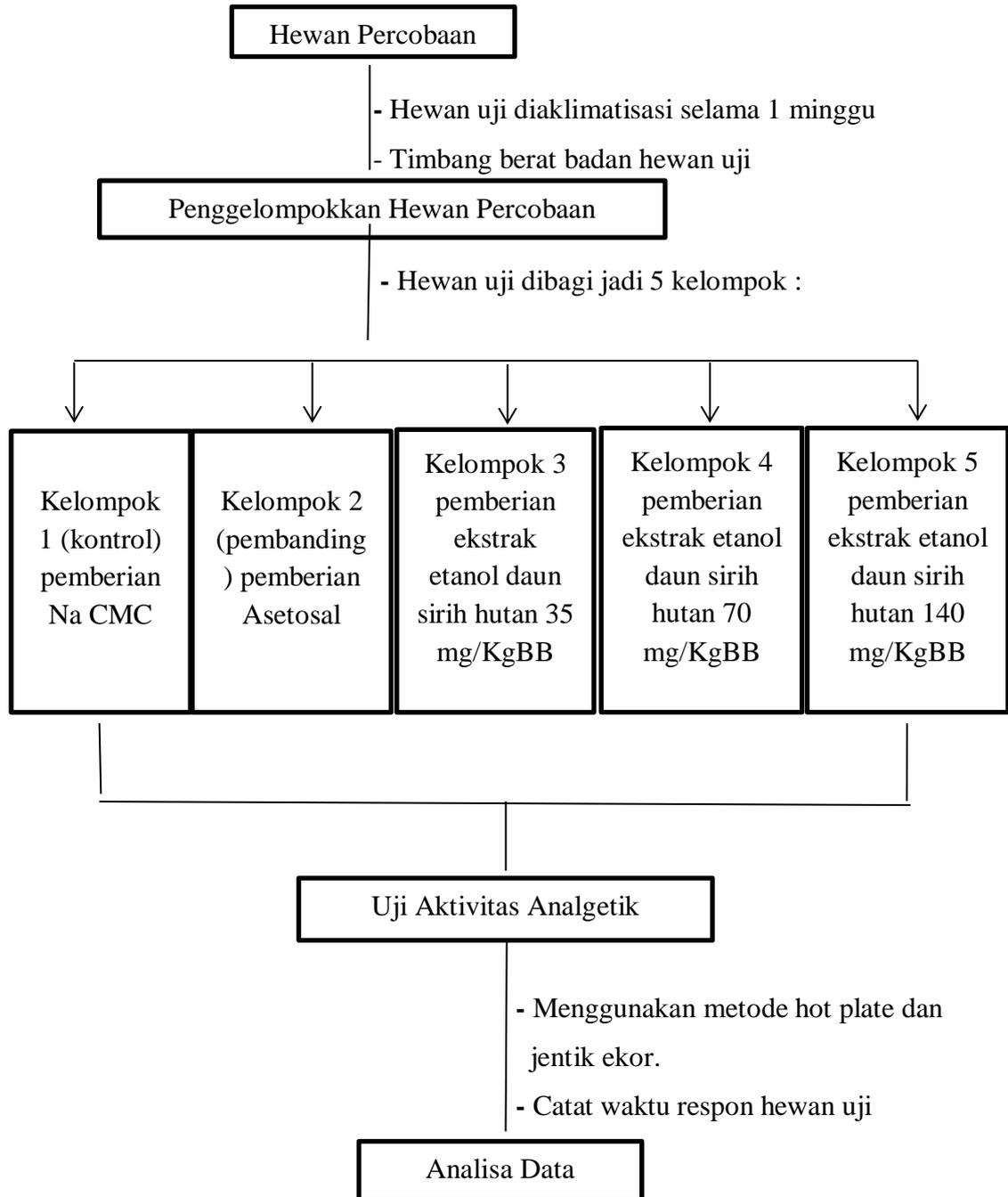
- Tjay, T,H, Rahardja, K, 2002, *Obat obat penting (V)*, PT. Elex media komputindo, Jakarta.
- Tjay, T,H, Rahardja, K, 2007, *Obat obat penting (VI)*, PT. Elex media komputindo, Jakarta.
- Tuhu, P, F, S, 2007, Efek Analgetik Etanol Daun Kayu Putih ( *Melaleuca leucadendrom L.* ) Pada mencit putih jantan, *Skripsi* : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Tushi, G, N, T, 2011, “Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Senggani ( *Melastoma polyanthum BI.*) Pada Mencit Putih Betina *Skripsi* : Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Ulfah, M., dan M. A'tourrohman. 2020. “*Studi Etnobotani Pemanfaatan Jenis-Jenis Sirih (Famili: Piperaceae) di Desa Kalijambe Kecamatan Bener Kabupaten Purworejo. Biocelebles.*”
- Winarti, L, Wantiyah, 2011, “*Uji Efek Analgetik Ekstrak Rimpang Temu Kunci ( Boessenbergia pandurara ( Roxb, ) Schelecter Pada Mencit Jantan Galur Swiss, Majalah obat tradisional, P.26-33.*
- Yasimin, 2010, "Pengaruh Ekstrak Duan Sirih (*piper betle Linn*) Terhadap Jumlah Geliat Mencit Bal b/c Yang Diinduksi Asam Asetat". *Jurnal ilmiah, universitas Diponegoro Semarang*

### Lampiran 1. Skema Kerja



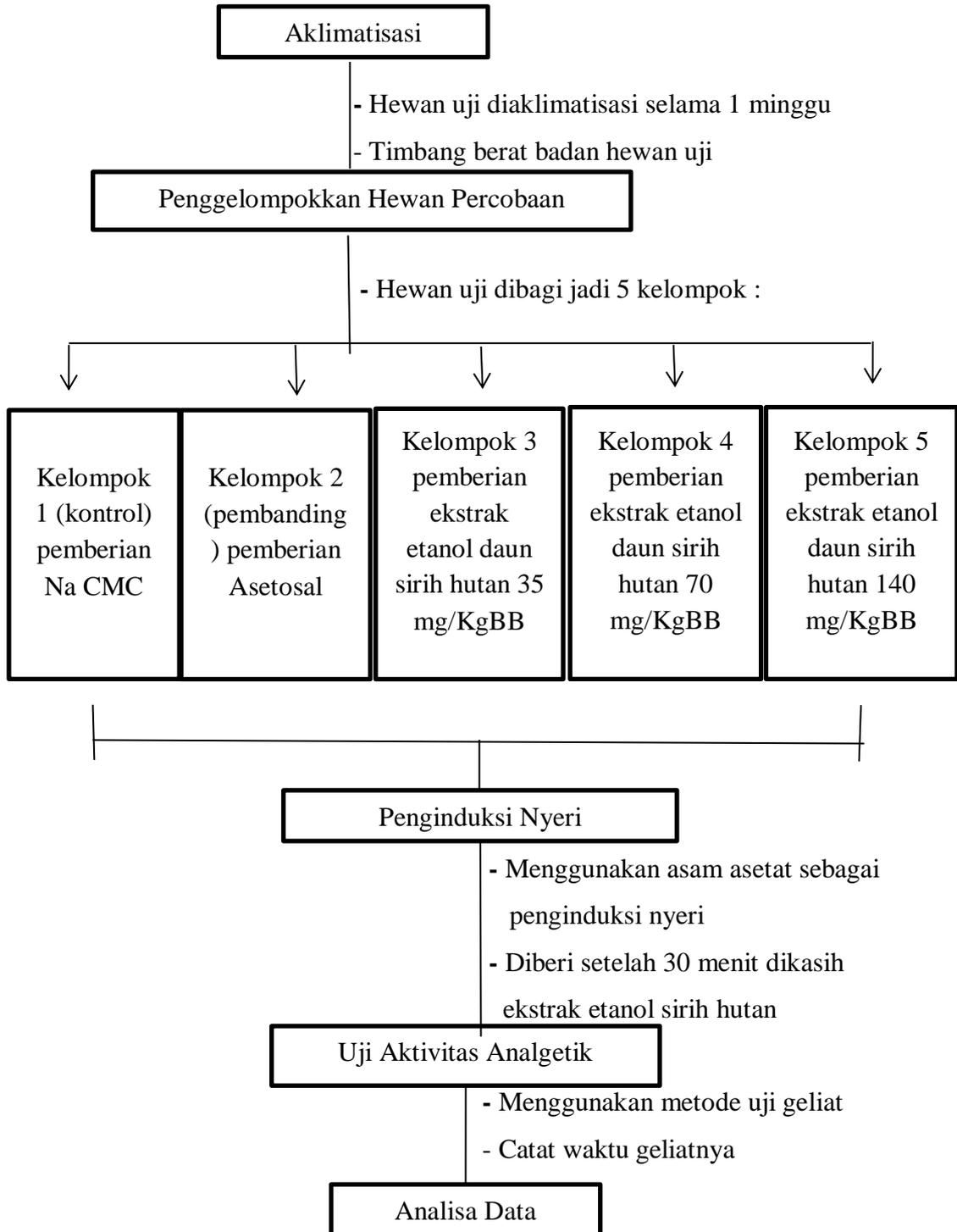
Gambar 4. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan

**Lampiran 1. (Lanjutan)**



**Gambar 5. Skema Kerja Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan Pada Metode Hot Plate dan Metode Jentik Ekor**

**Lampiran 1. (Lanjutan)**



**Gambar 6. Skema Kerja Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan Pada Metode Uji Geliat**