

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri adalah perasaan emosional dan sensorik yang mengakibatkan rasa tak nyaman yang berkaitan dengan jaringan yang rusak (Jayantini dkk, 2021). Untuk nyeri bisa diatasi dengan terapi yakni terapi non farmakologi dan terapi farmakologi. Terapi farmakologi yang dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan penghilang rasa nyeri (analgesik) dan pengobatan non farmakologi dapat dilakukan dengan berolahraga, kompres hangat atau dingin, terapi musik dan relaksasi (Widowati, 2020).

Saat terjadi luka atau kerusakan, jaringan akan mengeluarkan mediator kimia, seperti bradikinin dan prostaglandin yang akan membentuk sensasi nyeri. Sensasi nyeri bisa diatasi dengan obat konvensional dan obat herbal (Indawati dkk, 2020). Analgesik adalah sebuah obat yang berfungsi untuk menghilangkan atau mengurangi rasa nyeri tanpa harus menghilangkan kesadaran. Analgesik dibagi menjadi dua golongan besar ialah analgesik non-opioid dan analgesik opioid (Tjay dan Rahardja, 2015). Asam mefenamat termasuk salah satu jenis analgesik non opioid untuk mengurangi nyeri ringan hingga sedang (Hargreaves K, 2005). Asam mefenamat untuk meredakan sakit kepala, sakit gigi, nyeri pasca operasi. Asam mefenamat adalah obat yang antiinflamasi non steroid (NSAID) yang

digunakan jangka pendek 7 hari atau kurang. Bentuk sediaan asam mefenamat berupa tablet, kapsul, suspensi (Anonim, 2017).

Salah satu tanaman asli Indonesia yang telah dimanfaatkan secara empiris sebagai anti nyeri adalah daun sirih (Januarti dkk, 2019). Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah tanin dan flavonoid. Kandungan senyawa flavonoid pada daun sirih digunakan menjadi pelindung terhadap mikroba patogen, antioksidan, anti inflamasi, analgesik, anti mutagenik dan anti karsinogenik (Pujaningsih dkk, 2021). Ekstrak daun sirih memiliki kadar tanin sebesar 20,33% dan kadar flavonoid sebesar 5,99% (Wulandari, 2020).

Pada penelitian telah dilakukan percobaan mengenai uji efek analgesik ekstrak daun sirih pada mencit. Daun sirih dengan dosis 0,596 mg/kgBB, 1,192 mg/kgBB dan 2,348 mg/kgBB sebagai kelompok eksperimen, kelompok kontrol positif ialah obat aspirin sedangkan kontrol negatif ialah CMC-Na. Dalam penelitian tersebut menjelaskan bahwa ekstrak daun sirih memiliki aktivitas analgesik dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada dosis 2,348 mg merupakan dosis yang paling efektif dalam memberikan efek analgesik terhadap mencit (*Mus musculus*) (Sukmawati dkk, 2021).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Metode maserasi adalah metode ekstraksi menggunakan proses perendaman memakai pelarut yang sinkron menggunakan senyawa aktif yang akan diambil. Sebenarnya metode buat menghasilkan ekstraksi sendiri lebih

menguntungkan jika menggunakan metode maserasi, karena penggunaan metode maserasi nantinya tidak membentuk senyawa yang terkandung dalam ekstraksi maka tidak akan mengalami kerusakan (Triyani dkk, 2021).

Cara untuk memilih hewan coba yang sehat, ditandai dengan bulu yang bersih dan tidak berdebu, mata jernih bersinar, dan berat badannya bertambah atau tidak berkurang setiap harinya. Mencit yang dinyatakan sehat dikelompokkan secara acak dengan jumlah 5 ekor setiap kelompoknya (Reza, 2012)

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk menguji tentang Uji Efek Analgesik Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). Dari penelitian ini diharapkan diperoleh data dan fakta yang dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah sehingga dapat dibuktikan bahwa tumbuhan ekstrak daun sirih ini berkhasiat sebagai antianalgesik secara farmakologis. Penelitian yang akan digunakan sama dengan penelitian terdahulu namun bedanya terdapat dikonsentrasi atau dosis ekstrak etanol daun sirih hijau yang digunakan adalah 4,696 mg, 9,392 mg dan 18,784 mg. Kemudian kontrol positif pada penelitian terdahulu menggunakan aspirin sedangkan yang diteliti menggunakan asam mefenamat.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) mempunyai efek analgesik pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek analgesik ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*)

1.3.2 Tujuan Khusus

- a) Untuk membuat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.)
- b) Untuk menguji efek analgesik ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada 3 kelompok sampel.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi institusi:

Menjadi bahan pembelajaran dan referensi bagi semua kalangan yang akan melakukan penelitian lebih lanjut dengan topik yang berhubungan dengan judul penelitian diatas.

1.4.2 Bagi peneliti

Menambah pengetahuan dan membuka wawasan peneliti.

1.4.3 Bagi masyarakat

Menambah informasi bagi masyarakat mengenai daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai analgesik yang berguna bagi kesehatan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih (*Piper betle* L.)

2.1.1 Definisi Daun Sirih

Tanaman dari keluarga Piperaceae ini berasal dari Asia Selatan (India, Nepal, Bangladesh, Sri Langka) juga tumbuhan luas di kawasan Malaysia dan Indonesia. Pada studi farmakologi, daun sirih hijau bisa digunakan sebagai obat analgesik, anti bisul, anti alergi, anti bakteri, anti oksidan, dan anti diabetes. Tanaman sirih ialah tanaman hijau yang merambat dengan daun yang berbentuk hati. Tanaman ini berpotensi untuk di budidayakan karena bisa digunakan sebagai antiseptik dan obat luka. Tanaman ini dipercaya efektif untuk mengobati berbagai penyakit, salah satu contohnya yaitu anti nyeri. (Rahmawati, 2021).

Tanaman sirih termasuk tanaman yang paling gampang untuk dibudidayakan. Sirih (*Piper betle* L.) ialah salah satu tumbuhan yang sering ditemukan khususnya di lingkungan sekitar rumah, baik ditanam dengan sengaja maupun tumbuh secara liar di kebun maupun di hutan. Tumbuhan sirih diketahui khasiatnya mulai sejak zaman dahulu untuk tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari (Irma, 2019).

2.1.2 Klasifikasi Daun Sirih

Dalam tata nama atau sistematika (taksonomi) tumbuhan tanaman sirih (*Piper betle* L.) dimasukkan dalam klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio: Angiospermae

Classis : dicotyledoneae

Ordo : Piperales

Familia : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper betle* L (Kasim & Yusuf, 2020).

2.1.3 Morfologi Daun Sirih



Gambar 2.1. Daun Sirih Hijau (Sumber: Megasari & Sadewo, 2021).

Sirih mampu merambat dengan baik terhadap tiang beton atau pagar semen karena memiliki akar lekat yang kuat, akarnya

banyak bercabang yang berbentuk seperti cecak. Batang berbuku serta panjang buku 8-9 cm, bercabang-cabang dan memperoleh diameter 3-4 cm sesuai dengan umur pohon. Batang muda yang berwarna hijau, sedangkan batang dewasa berwarna coklat keputihan dengan permukaan kasar. Tanaman pemanjat ini mencapai tinggi 15 m dengan memanjat beraneka pohon seperti kapuk, dadap, gamal, kelor, kayu kuda, kelapa, pinang, dan pohon buah seperti durian dan mangga. Bunga muda berwarna hijau, dan mencorakkan putih ketika mekar yang menghembuskan aroma harum. Panjang malai bunga 7-8 cm, diameter 2-3 mm, panjang tangkai 2 cm. ada varietas yang tidak berbunga, namun ada juga varietas yang bunganya membentuk buah. Bunga berkelamin tunggal, berumah satu atau dua, tersusun sebagai bunga lada/bulir, yang berhadapan dengan daun. Pangkal daun berbangun jantung, ujung meruncing, panjang tangkai 2-5 cm. Helai daun berbangun bulat telur, maupun memanjang dengan panjang 8-14 cm, lebar 5-11 cm. Daun tunggal bertangkai, duduk berseling atau tersebar. Daun penumpak lekas runtuh dan meninggalkan bekas berupa lingkaran pada buku cabang (Evizal, 2013).

2.1.4 Kandungan Kimia Daun Sirih

Daun sirih hijau mempunyai kandungan utama minyak atsiri yang terdiri dari fenol dan turunannya maka memiliki potensi sebagai zat antiseptic dan antijamur (Magnesa, 2020). Daun sirih

hijau (*Piper betle* L.) memiliki senyawa kimia sebagai berikut: alkaloid, asam amino, steroid, tanin, terpen (Pradhan dkk, 2013).

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung zat kimia antara lain: saponin, glucoside, seta flavonoid yang dapat bermanfaat sebagai anti nyeri. Selain itu, daun sirih hijau ialah obat tradisional memiliki efek antiinflamasi, mempertahankan kekebalan tubuh, obat batuk, antidiare, analgesik, dan antiseptik (Anwar dkk, 2015).

2.1.5 Manfaat Daun Sirih

Manfaat daun sirih sendiri sebagai berikut: pada ekstra daun sirih sering digunakan sebagai campuran dengan obat-obatan yang berbeda mungkin untuk efek yang lebih baik di samping penggunaan tunggal sebagai obat. Daun sirih digunakan sebagai aromatik, obat masuk angin dan penghangat, astrigent dan afrodisiak. Daun sirih secara tradisional dikenal bermanfaat untuk mengobati berbagai penyakit seperti bau mulut, bisul dan abses, konjungtivitas, sembelit, sakit kepala, sakit gigi, gatal-gatal, mastitis, mastoiditis, keputihan, otore, pembengkakan gusi, rematik, dan luka. Daun sirih dicampur dengan digunakan sebagai obat untuk batuk. Daun sirih segar memiliki sifat sebagai antimikrob, analgesik, antijamur, antiseptik, dan efek antihelmintik. Daun sirih bisa digunakan sebagai obat tetes mata untuk cedera mata atau infeksi. Serta daun sirih memiliki efek hepatoprotektif sebagai imunomodulator, aktivitas sebagai

gastroprotektif sebagai antioksidan dan aktivitas sebagai antidiabetik
(Suarsana dkk, 2014)

2.2 Hewan Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Definisi Mencit (*Mus musculus*)



Gambar 2.2 Mencit putih 2 (*Mus musculus*) (Tambupol, A.M., 2014)

Hewan laboratorium yang sering digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*), tikus putih (*Rattus norvegicus*), kelinci, dan hamster. Sekitar 40-80% pemakain mencit untuk hewan percobaan laboratorium, mencit cukup berlimpah dipakai karena siklus hidupnya relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, gampang ditangani, dan sifat anatomis dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Hewan percobaan merupakan hewan yang direncanakan dipelihara untuk dipakai sebagai hewan percobaan yang berkaitan untuk pengetahuan dan meningkatkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium (Tolistiawaty dkk, 2014).

2.2.2 Klasifikasi Mencit

Dalam sistematika mencit (*Mus musculus*) digolongkan sebagai berikut:



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Sub class	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub family	: Murinae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i> (Nugroho, 2018).

2.3 Analgesik

2.3.1 Definisi Analgesik

Analgesik merupakan senyawa yang dapat menekan fungsi kegunaan sistem syaraf cara selektif, dimanfaatkan sebagai mengurangi rasa nyeri tanpa mempengaruhi kesadaran (Siswandono, 2008). *Nonsteroidal anti-inflamasi drugs* (NSAID) merupakan salah satu pilihan terapi agar menghilangkan rasa nyeri.

Tetapi jika penggunaan jangka panjang dapat memicu pendarahan gastrointestinal. Terapi yang dipakai untuk meredakan nyeri ialah analgesik baik analgesik narkotik ataupun non-narkotik. Tetapi, obat-obat tersebut perlu diwaspadai jika mengkonsumsi secara berkepanjangan akan menimbulkan efek samping (Maharani dkk, 2020).

2.3.2 Golongan Obat Analgesik

Golongan obat analgesik dibagi menjadi dua ialah analgesik opioid atau narkotik dan analgesik non-narkotik.

1. Analgesik Opioid

Analgesik opioid sering disebut dengan analgesik narkotik adalah obat yang daya kerjanya dengan memperpanjang aktivitas dan reseptor opioid. Analgesik opioid bekerja terutama pada reseptor opioid yang berada di sistem saraf pusat, sehingga nyeri dan respon emosional terhadap nyeri berubah berkurang. Golongan obat-obatan analgesik opioid seperti morfin berfungsi sebagai meredakan nyeri jantung, codein berfungsi sebagai meredakan nyeri ringan hingga sedang, hidromorfon berfungsi untuk nyeri berat lebih kuat dari pada morfin, oksikodon dan leforfanol berfungsi sebagai meredakan nyeri sedang hingga berat.

2. Analgesik Non Opioid

Analgesik non opioid sering disebut analgesik non narkotik tidak bersifat adiktif dan kurang berpengaruh dibandingkan dengan analgesik narkotik. Analgesik non opioid juga disebut dengan analgesik perifer karena merintanginya terbentuknya rangsangan terhadap reseptor nyeri perifer. Obat-obat ini dapat digunakan untuk mengobati nyeri ringan hingga nyeri sedang seperti sakit kepala, dismenore / nyeri menstruasi, nyeri inflamasi. Obat-obatan golongan non opioid seperti aspilet yang berefek antiinflamasi bersama dengan antiinflamasi nonsteroid dapat meredakan nyeri dengan menghambat sintesis prostaglandin. NSAIDs yang memiliki efek analgesik adalah Ibuprofen, Asetaminofen, Fenoprofen dan Suprofen dan kelompok asam propionate (Indijah & Fajri, 2016).

2.4 Simplisia

Simplisia ialah bahan alam yang dipakai untuk obat yang belum menjalani apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berbentuk bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu:

1. Simplisia nabati

Simplisia nabati ialah simplisia berbentuk tanaman utuh, elemen tanaman atau eksudat tanaman.

2. Simplisia hewani

Simplisia hewani ialah simplisia yang berbentuk hewan utuh, elemen hewan atau zat-zat yang bermakna yang dihasilkan dari hewan dan belum berbentuk zat kimia murni.

3. Simplisia mineral (pelikan)

Simplisia mineral ialah simplisia yang berbentuk mineral (pelikan) yang belum dikerjakan atau dikerjakan dengan cara sederhana dan belum berbentuk zat kimia murni (Widyastuti dkk, 2004).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi ialah sebuah proses pembelahan massa komponen kimia yang terletak dalam sebuah sampel bahan alam ke dalam pelarutnya. Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan, antara lain maserasi, perkolasi, sokletasi dan lain-lain. Hasil yang didapatkan dari ekstraksi ialah ekstrak (Ilyas, 2013).

2.5.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut ada dua macam yaitu cara dingin dan cara panas (Depkes RI, 2000) sebagai berikut:

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi kinetik berarti dilaksanakan dengan pengadukan yang kontinu atau terus menerus. Remaserasi ialah dilaksanakan dengan pengulangan menambahkan pelarut sesudah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Maserasi ialah sebuah proses pengestrakan simplisi dengan memakai pelarut beberapa kali pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Menurut teknologi tergolong ekstraksi dengan prinsip metode penerimaan konsentrasi pada keseimbangan.

b. Perkolasi

Perkolasi ialah ekstraksi beserta pelarut yang senantiasa terkini sampai sempurna yang lazimnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses mencangkup mulai tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara lain, tahap perkolasi sebenarnya penetesan atau penampungan ekstrak, dengan terus-menerus hingga didapatkan ekstrak perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks ialah ekstraksi beserta pelarut pada temperatur titik didihnya, sewaktu tertentu dan total pelarut terbatas yang relatif stabil beserta adanya pendingin kembali. Universalnya dilaksanakan pengulangan proses pada residu pertama hingga 3-5 kali kemudian dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Soxhlet

Soxhlet ialah ekstraksi memakai pelarut yang senantiasa baru yang universalnya dilaksanakan melalui alat khusus hingga terjadi ekstraksi berkelanjutan bersama jumlah pelarut relatif stabil beserta adanya pendingin kembali.

c. Digesti

Digesti ialah maserasi kinetik dengan cara mengaduk secara terus-menerus pada temperatur yang bertambah tinggi dari temperatur ruangan kamar, yaitu secara universal dilaksanakan pada temperatur 40-50°C.

d. Infus

Infus ialah ekstraksi bersama pelarut air pada temperatur penangas air, bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur ternilai 96-98°C sampai waktu tertentu 15-20 menit.

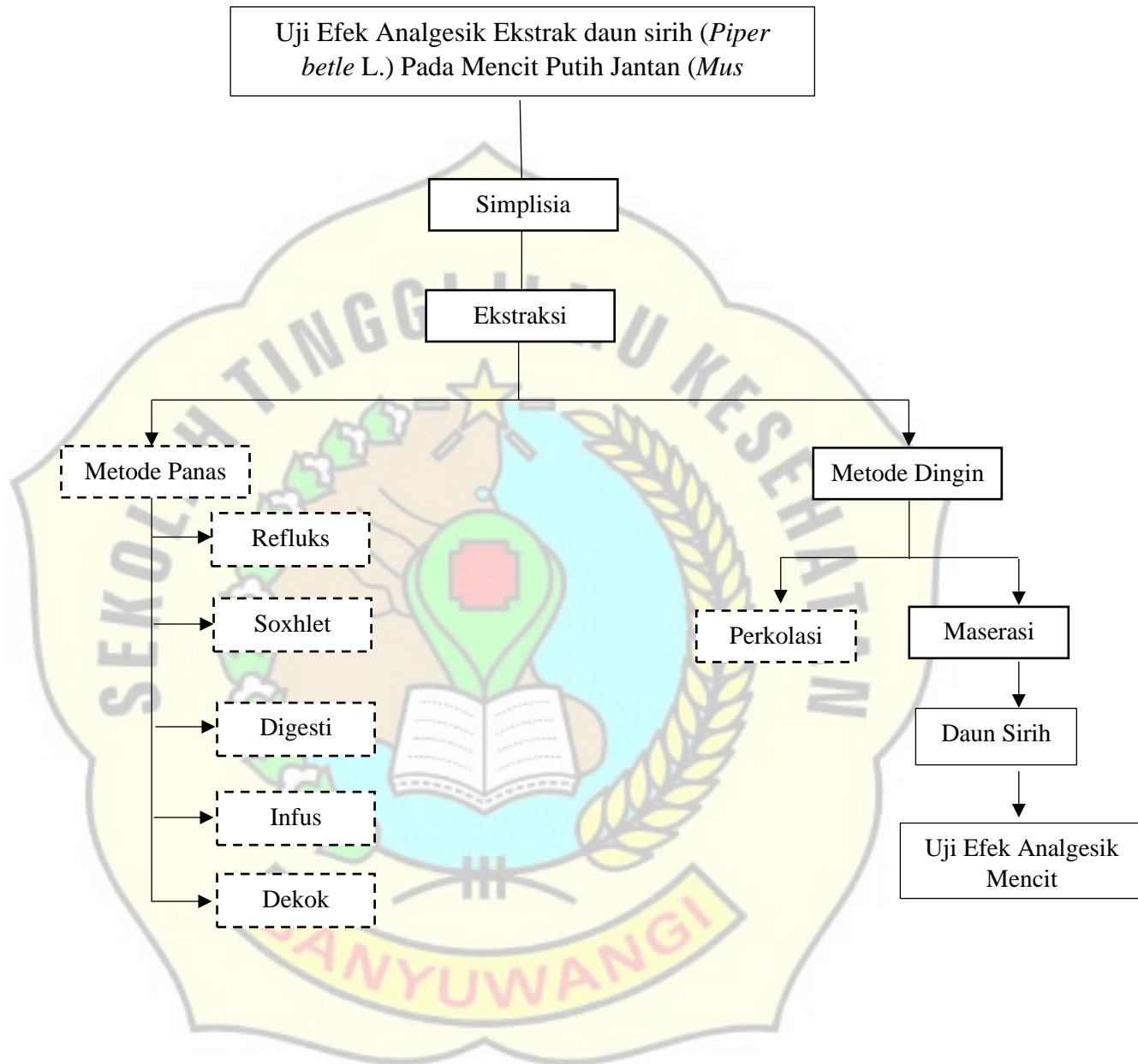
e. Dekok

Dekok ialah infusa sewaktu yang lebih lama ~ 30°C temperatur sampai titik didih air.



2.6 Pelarut

Setiap tanaman memiliki sifat kimia yang berbeda, agar menggapai senyawa satu dengan lainnya digunakan pelarut yang berbeda pula. Hal yang harus diperhatikan ketika melaksanakan proses ekstraksi pelarut yaitu jenis pelarut, sistem pelarut, dan kondisi temperatur yang dipakai karena mempunyai pengaruh terhadap ekstrak sehingga diperoleh hasil yang maksimal. Senyawa yang terdapat dalam tanaman dikategorikan berdasarkan polaritasnya: senyawa polar dan non-polar, hingga sangat diperlukan untuk memahami karakteristik dari senyawa yang mau diisolasi. Pelarut yang paling universal dipakai ialah etanol, metanol, aseton, dan etil asetat. Etanol ialah pelarut yang baik dipakai untuk ekstraksi polifenol dan aman dikonsumsi. Metanol baik dipakai untuk ekstraksi senyawa polifenol pada berat molekul yang lebih ringan. Sementara itu aseton baik dipakai untuk ekstraksi senyawa flavanol terhadap berat molekul yang lebih besar (Do et al., 2014).

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

-  = tidak diteliti
-  = yang diteliti

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian adalah eksperimen (*eksperimental*) laboratorium yang dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai analgesik terhadap mencit putih jantan sebagai hewan percobaan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Farmakologi atau Patologi STIKes Banyuwangi.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2022.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, gelas ukur, cawan porselen, kaca arloji, oven, blender, pengayak, batang pengaduk, sudip, timbangan analitik, sarung

tangan, alat saring, pipet tetes, *hot plate*, *waterbath*, *stopwatch*, *disposable syringe* 1 ml, aluminium foil, toples, sonde oral.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari Mencit putih jantan, Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.), etanol 96%, aquadest, CMC-Na, sirup asam mefenamat 500 mg/5ml, aquadest dan DMSO.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau yang diambil dari Desa Wongsorejo, Kecamatan Wongsorejo, Kabupaten Banyuwangi.

3.4.2 Determinasi Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian dilakukan uji determinasi terlebih dahulu untuk identifikasi tahap awal sebagai tujuan pengamatan secara fisiologi tumbuhan sudah sesuai dengan varietasnya dan determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Banyuwangi.

3.4.3 Pembuatan Simplisia dan Proses Ekstraksi

Daun sirih hijau segar (*Piper betle* L.) dicuci bersih, dikeringkan dengan cara dimasukkan kedalam oven dengan suhu 50°C hingga daunnya mengering atau menyusut dengan kadar airnya 10%. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dilakukan dengan

cara maserasi, menggunakan pelarut etanol 96% yang bersifat polar. Sampel yang sudah kering di blender kemudian ditimbang. Ditimbang 500g simplisia daun siirih hijau yang telah dirajang kemudian direndam dalam etanol 96% selama 72 jam sambil sesekali diaduk. Dimana setiap 24 jam diadakan pergantian pelarut. Maserat dikumpulkan lalu diuapkan sampai pelarut ekstrak menguap dan didapatkan ekstrak kental. Penguapan dilakukan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 40-50°C.

3.4.4 Pembuatan Larutan CMC 0,5%

CMC ditimbang, kemudian dilarutkan dalam aquadest hangat, diaduk dan ditambahkan aquadest sambil terus diaduk. Sisa aquadest ditambahkan sampai didapatkan volume larutan CMC 100 ml.

➤ Perhitungan Penimbangan dan Volume Pemberian Na CMC

- Penimbangan bahan = $\frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ g} = 500 \text{ mg}$

- Volume pemberian Na cmc 0,5% adalah 1 ml / 20 gBB mencit.

3.4.5 Dosis Asam Mefenamat

Dosis Asam Mefenamat untuk manusia adalah 500 mg. Takaran konversi dosis asam mefenamat pada manusia dengan berat badan 70 kg, pada mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026.

- Maka dosis untuk mencit adalah = $0,0026 \times 500 \text{ mg} = 1,3 \text{ mg}/20\text{gBb}$ Mencit.

3.4.6 Pengujian Analgesik Pada Hewan

3.4.6.1 Penyiapan hewan uji

Hewan Uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan (*Mus musculus*) diadaptasi selama ± 3 hari dengan kondisi lingkungan percobaan. Mencit dipuasakan ± 18 jam sebelum perlakuan, namun air minum tetap diberikan. Masing-masing mencit ditimbang dengan berat 20-30g. dan diberi penomoran. Kemudian sebanyak 25 ekor mencit, dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

3.4.6.2 Pengujian

Langkah-langkah pengujian efek analgesik pada hewan uji yaitu berikut meletakkan beaker glass diatas *hot plate* yang dipanaskan pada suhu 50°C . Setelah suhu mencapai 50°C masukkan mencit kedalam beaker glass tersebut. Setelah mencit berada di dalam beaker glass responnya diamati, yaitu berupa gerakan menjilat kaki atau melompat, lakukan pengamatan selama 1 menit.

Setelah itu berikan secara peroral kepada masing-masing mencit dengan perlakuan yang telah dikelompokkan yaitu kelompok 1 (kontrol negatif), kelompok 2 (kontrol positif), kelompok 3-5 (uji). Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok negatif menggunakan CMC 0,5% sebanyak 1 ml, kelompok positif menggunakan Asam mefenamat 1,3 mg / 20gBb, dan kelompok 3-5 dengan uji ekstrak daun sirih dengan dosis 4,696 mg/kgBB mencit, 9,392 mg/kgBB mencit, dan 18,784 mg/kgBB mencit.

- K (-) : diberikan CMC 0,5% sebanyak 1 ml / 20gBb mencit
- K (+) : diberikan Asam mefenamat 1,3 mg / 20gBb mencit
- KP1 : diberikan ekstrak daun sirih dengan dosis 4,696 mg / kgBB mencit
- KP 2 : diberikan ekstrak daun sirih dengan dosis 9.392 mg / kgBB mencit
- KP 3 : diberikan ekstrak daun sirih dengan dosis 18,784 mg / kgBB mencit

Kemudian mencit diistirahatkan untuk diamati kembali pengamatan terhadap respon dari mencit dilakukan pada menit 30,60,90,120 setelah pemberian zat uji dan larutan pembanding, dengan lama pengamatan 1 menit. Pengamatan dilakukan sebanyak 5 kali, yaitu sebelum pemberian zat uji, menit ke 30, 60, 90 dan 120 setelah pemberian zat uji.

3.4.6.3 Perhitungan dosis ekstrak daun sirih hijau serta pembuatan larutan uji pada mencit: (BB mencit 20-30g)

$$\text{Uji 1 : } \frac{0,02 \text{ kg}}{1 \text{ kg}} \times 235 \text{ mg} = 4,696 \text{ mg /kgBB mencit}$$

$$\text{Uji 2 : } \frac{0,02 \text{ kg}}{1 \text{ kg}} \times 470 \text{ mg} = 9,392 \text{ mg /kgBB mencit}$$

$$\text{Uji 3: } \frac{0,02 \text{ kg}}{1 \text{ kg}} \times 939 \text{ mg} = 18,784 \text{ mg/kgBB mencit}$$

➤ Tambah DMSO

Pelarut *dimethylsulfoxide* (DMSO) berfungsi untuk melarutkan ekstrak daun sirih, karena DMSO bersifat polar. (Anita dkk, 2019). Maka untuk melarutkan ekstrak daun sirih menggunakan DMSO yang diencerkan dengan aquadest.

3.4 Analisis Data

Data hasil pengamatan dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik

3.5 Alur Penelitian

