

**UJI AKTIVITAS ANTIDIARE FRAKSI LARUT DAN TIDAK
LARUT ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOLIK BUAH LADA
HITAM (*Piper nigrum* L) PADA TIKUS PUTIH GALUR
WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN MINYAK JARAK (*Oleum ricini*)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :

Tiara Putri Mariam

33101800083

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIDIARE FRAKSI LARUT DAN TIDAK LARUT
ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOLIK BUAH LADA HITAM (*Piper*
nigrum* L) PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN (*Rattus
***norvegicus*) YANG DIINDUKSI DENGAN MINYAK JARAK (*Oleum ricini*)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Tiara Putri Mariam

33101800083

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal 4 Desember 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing 1

Anggota Tim Penguji 1



Hudan Taufiq, M.Sc., Apt.

Windi Susmayanti, M.Sc

Pembimbing II

Anggota Tim Penguji II



Dr. Naniek Widyaningrum, M.Sc., Apt.

Dwi Endah Kusumawati, M.Si.

Semarang, 4 Desember 2023

Dekan Fakultas Farmasi

Universitas Islam Sultan Agung



Dr. Nur Rina Wijayanti, M. Sc.

::

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Tiara Putri Mariam

NIM : 33101800083

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul

**“UJI AKTIVITAS ANTIDIARE FRAKSI LARUT DAN TIDAK LARUT
ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOLIK BUAH LADA HITAM (*Piper
nigrum* L) PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI DENGAN MINYAK JARAK (*Oleum
ricini*)”**

Adalah benar karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil sebagian atau seluruh hasil karya tulis ilmiah orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari saya terbukti melakukan tindakan plagiat tersebut maka saya siap menerima sanksi apapun termasuk pencabutan gelar sarjana yang telah diberikan.

Semarang, 4 Desember 2023

Yang menyatakan,



Tiara Putri Mariam

LEMBAR PENGESAHAN TURNITIN

UJI AKTIVITAS ANTIDIARE
FRAKSI LARUT DAN TIDAK
LARUT ETIL ASETAT EKSTRAK
ETANOLIK BUAH LADA HITAM
(Piper nigrum L) PADA TIKUS
PUTIH GALUR WISTAR JANTAN
(Rattus norvegicus) YANG
DIINDUKSI DENGAN MINYAK

Submission date: 30-Nov-2023 02:17PM (UTC+0700)

Submission ID: 2242868330

File name: turnitin.docx (15.31M)

Word count: 9697

Character count: 57103

by T. Putri Mariam

acc. dosen pembimbing 1


Apt. Huda Taufiq, M.Sc.

UNISSULA

جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

PRAKATA

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah – Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS UJI AKTIVITAS ANTIDIARE FRAKSI LARUT DAN TIDAK LARUT ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOLIK BUAH LADA HITAM (*Piper nigrum* L) PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI DENGAN MINYAK JARAK (*Oleum ricini*)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk ini ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya dan penghargaan yang setinggi – tingginya penulis sampaikan terutama kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum., selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. Apt. Rina Wijayanti, M. Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Bapak apt. Meki Pranata, M.Farm. Selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung.

4. Bapak Apt. Hudan Taufiq, M.Sc. selaku pembimbing 1 dan Ibu Dr. Apt. Naniek widyaningrum, M.Sc. selaku pembimbing II yang telah senantiasa membimbing, mengarahkan, dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Windi Susmayanti, M.Sc selaku penguji I dan Ibu Dwi Endah Kusumawati, M.Si. selaku penguji II yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis.
6. Segenap civitas akademika Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang terutama seluruh dosen, terimakasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
7. Orang tua penulis Bapak Ahmad Nuri dan Ibu Almh. Witi Nurhayati tercinta serta Kakak Gusti Surya Ryan Anwar, A.Md. yang senantiasa memberikan cinta kasih, berkat, do'a, dan dukungannya dari waktu ke waktu dan keluarga penulis yang sudah mendukung dan memberikan semangat dari belakang.
8. Sahabat Sebonteng yang selalu saling menyemangati lebih dari 1 dekade (Maya, Hafidh, Ratih, Bagas, Jovanka, Rosa, dan Rizky).
9. Teman – teman terdekat penulis yang sudah menemani, membantu dan memberi semangat penulis selama di Semarang (Sil Fia, Hemi, Diah, Nafisyah, Sisky, Nadya, Syifa, Wida, Lusiana, Sabila, Ulfa, Nur, Liza, dan Ninda).
10. Teman – teman Formicidae 18 yang selalu saling mendukung satu sama lain dan memberi motivasi.

11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materil.

Dengan segala kerendaha hati penulis telah berusaha menyelesaikan skripsi ini, apabila masih terdapat kekurangan dan kelemahan yang terdapat pada skripsi ini maka saran dan kritik yang bersifat membangun dari pembaca akan diterima untuk penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat berguna bagi penulis dan ilmu Farmasi saat ini.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Semarang, 4 Desember 2023



Tiara Putri Mariam

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	iv
LEMBAR PENGESAHAN TURNITIN.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
INTISARI.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1. 1. Latar Belakang.....	1
1. 2. Rumusan Masalah.....	4
1. 3. Tujuan Penelitian.....	4
1. 3. 1. Tujuan Umum.....	4
1. 3. 2. Tujuan Khusus.....	4

1. 4. Manfaat.....	5
1. 4. 1. Manfaat Teoritis	5
1. 4. 2. Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN TEORITIS	6
2. 1. Uraian Lada Hitam (<i>Piper nigrum</i> L).....	6
2. 1. 1. Morfologi Lada Hitam (<i>Piper nigrum</i> L).....	6
2. 1. 2. Klasifikasi <i>Piper nigrum</i> L.....	8
2. 1. 3. Manfaat dan Kandungan <i>Piper nigrum</i> L	8
2. 2. Simplisia Lada Hitam	10
2. 3. Ekstraksi	10
2. 4. Maserasi.....	12
2. 5. Fraksinasi	13
2. 6. Diare	14
2. 7. Etiologi Diare.....	15
2. 8. Patofisiologi Diare.....	15
2. 9. Aktivitas Antidiare	16
2. 10. Loperamid HCl.....	17
2. 11. Minyak Jarak (<i>Oleum ricini</i>).....	17
2. 12. Hubungan Antara Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam Pada Aktivitas Antidiare.....	18

2. 13.	Kerangka Teori.....	19
2. 14.	Kerangka Konsep	19
2. 15.	Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		21
3. 1.	Jenis dan Rancangan Penelitian	21
3. 2.	Variabel	21
3. 2. 1.	Variabel Bebas.....	21
3. 2. 2.	Variabel Terikat.....	21
3. 3.	Definisi Operasional.....	21
3. 3. 1.	Fraksi Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam.....	21
3. 3. 2.	Aktivitas Antidiare.....	22
3. 4.	Populasi dan Sampel	22
3. 4. 1.	Populasi.....	22
3. 4. 2.	Sampel.....	22
3. 5.	Instrumen dan Bahan Penelitian	24
3. 5. 1.	Alat.....	24
3. 5. 2.	Bahan	24
3. 6.	Cara Penelitian	24
3. 6. 1.	Determinasi Tanaman	24
3. 6. 2.	Pembuatan Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam	25

3. 6. 3.	Pembuatan Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam	25
3. 6. 4.	Uji Kualitatif.....	26
3. 6. 5.	Uji Kuantitatif.....	28
3. 6. 6.	Penyiapan Hewan Percobaan	31
3. 6. 7.	Pembuatan Larutan Na – CMC 1 mg/mL	31
3. 6. 8.	Pembuatan Larutan Stok Fraksi Larut Etil Asetat dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam 30 mg/mL	32
3. 6. 9.	Pembuatan Larutan Loperamide HCl 0,02 mg/mL	32
3. 6. 10.	Aktivitas Antidiare Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam.....	33
3. 7.	Tempat dan Waktu	33
3. 8.	Analisis Hasil	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		36
4. 1.	Hasil Penelitian	36
4.1. 1.	Determinasi Tanaman	36
4.1. 2.	Rendemen dan Uji Kadar Air Buah Lada Hitam.....	36
4.1. 3.	Uji Kualitatif.....	36
4.1. 4.	Uji Kuantitatif.....	37
4.1. 5.	Analisis Uji Aktivitas Antidiare	38
4. 2.	Pembahasan	42

BAB V PENUTUP.....	49
5. 1. Kesimpulan.....	49
5. 2. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN.....	58

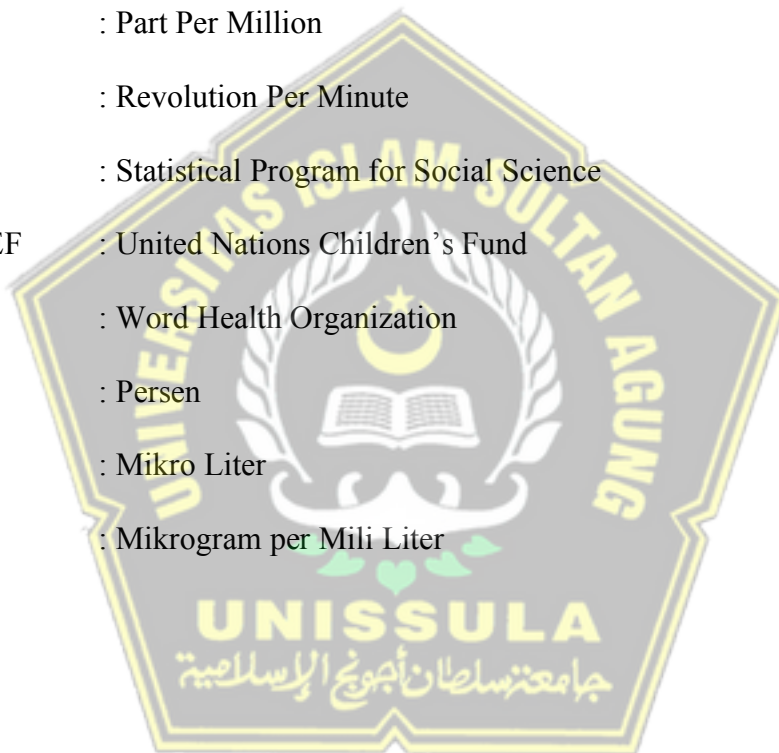


DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH



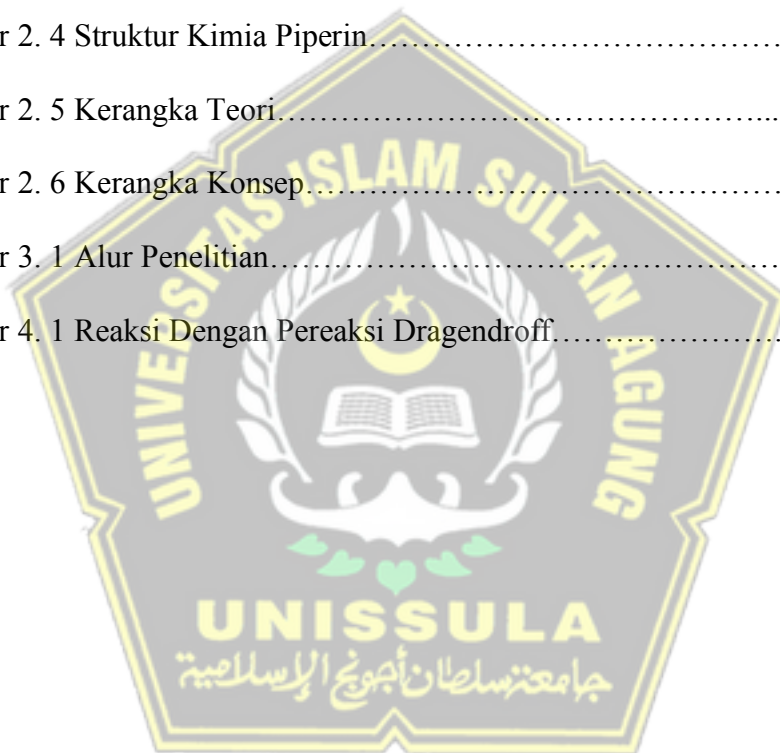
APD	: Alat Pelindung Diri
BAB	: Buang Air Besar
B POM RI	: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
cAMP	: <i>Cyclic Adenose Monophosphate</i>
Ca ²⁺	: Ion Kalsium
cm	: Centi meter
Depkes RI	: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
FDA	: Food and Drug Administration
FeCl ₃	: Feri Klorida / Besi(III) Klorida
FLEA	: Fraksi Larut Etil Asetat
FTLEA	: Fraksi Tidak Larut Etil Asetat
gBB	: Gram Berat Badan
HCl	: Hidrogen Klorida / Asam Klorida
H ₂ SO ₄	: Asam Sulfat
IUPAC	: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LC – MS	: <i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>
mg	: Mili Gram
mg/kgBB	: Mili Gram per Kilo Gram Berat Badan
mg/mL	: Mili Gram per Mili Liter

mL	: Mili Liter
mm	: Mili Meter
Na – CMC	: Natrium Karboksimetil Selulosa
nm	: Nano meter
p.a	: Pro Analis
pH	: Potential Hydrogen
ppm	: Part Per Million
rpm	: Revolution Per Minute
SPSS	: Statistical Program for Social Science
UNICEF	: United Nations Children’s Fund
WHO	: Word Health Organization
%	: Persen
μL	: Mikro Liter
μg/mL	: Mikrogram per Mili Liter



DAFTAR GAMBAR

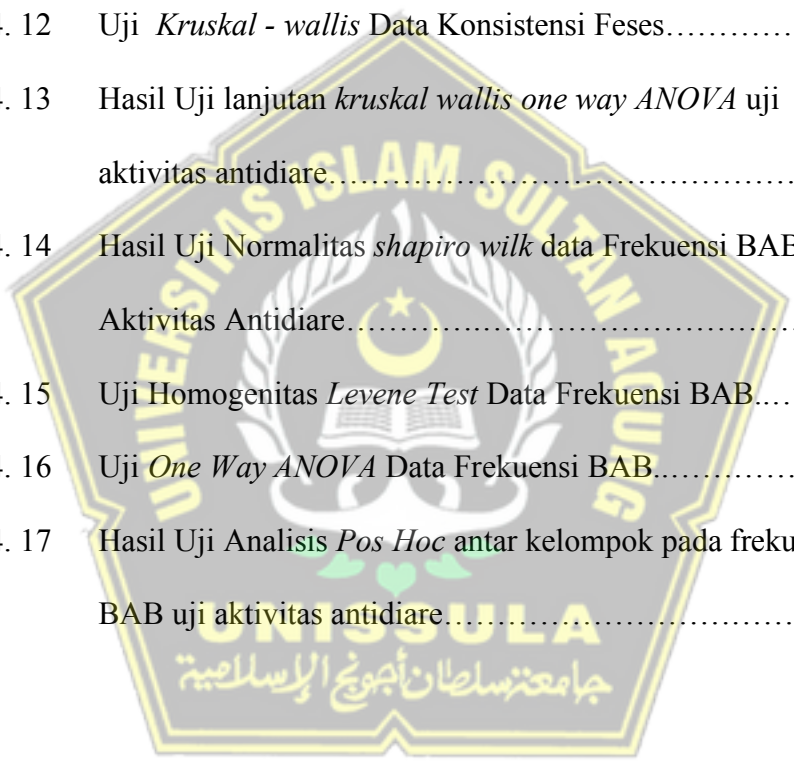
	Halaman
Gambar 2. 1 Tanaman Buah Lada Hitam.....	6
Gambar 2. 2 Tabel <i>Miscibility</i> Pelarut.....	14
Gambar 2. 3 Patofisiologi Diare.....	16
Gambar 2. 4 Struktur Kimia Piperin.....	18
Gambar 2. 5 Kerangka Teori.....	19
Gambar 2. 6 Kerangka Konsep.....	19
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	35
Gambar 4. 1 Reaksi Dengan Pereaksi Dragendroff.....	45



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3. 1	Pembagian Kelompok Uji Berdasarkan Perlakuan.....33
Tabel 4. 1	Hasil Rendemen dan Kadar Air Simplisia, Ekstrak, dan Fraksi Buah Lada Hitam..... 36
Tabel 4. 2	Uji Kualitatif Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam..... 37
Tabel 4. 3	Uji Aktivitas Antidiare Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam..... 38
Tabel 4. 4	Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Data Selisih Penurunan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Uji Aktivitas Antidiare..... 38
Tabel 4. 5	Hasil Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> Data Selisih Penurunan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Uji Aktivitas Antidiare..... 38
Tabel 4. 6	Hasil Uji <i>One way ANOVA</i> Data Selisih Penurunan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Uji Aktivitas Antidiare..... 39
Tabel 4. 7	Hasil Uji Analisis <i>Pos Hoc</i> Antar Kelompok Pada Selisih Penurunan Berat Badan Tikus..... 39
Tabel 4. 8	Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> Data Jumlah Berat Feses Yang Keluar Uji Aktivitas Antidiare..... 39

Tabel 4. 9	Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> Data Jumlah Berat Feses Yang Keluar.....	40
Tabel 4. 10	Uji <i>One Way ANOVA</i> Data Jumlah Berat Badan Feses Yang Keluar.....	40
Tabel 4. 11	Hasil Uji Analisis <i>Pos Hoc</i> antar kelompok pada jumlah berat Feses Yang Keluar.....	40
Tabel 4. 12	Uji <i>Kruskal - wallis</i> Data Konsistensi Feses.....	41
Tabel 4. 13	Hasil Uji lanjutan <i>kruskal wallis one way ANOVA</i> uji aktivitas antidiare.....	41
Tabel 4. 14	Hasil Uji Normalitas <i>shapiro wilk</i> data Frekuensi BAB uji Aktivitas Antidiare.....	41
Tabel 4. 15	Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> Data Frekuensi BAB.....	42
Tabel 4. 16	Uji <i>One Way ANOVA</i> Data Frekuensi BAB.....	42
Tabel 4. 17	Hasil Uji Analisis <i>Pos Hoc</i> antar kelompok pada frekuensi BAB uji aktivitas antidiare.....	42



INTISARI

Ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) terbukti memiliki aktivitas antidiare pada hewan uji tikus, namun belum ada penelitian tentang aktivitas antidiare pada fraksinya, sehingga belum diketahui kelompok senyawa mana yang bertanggung jawab pada aktivitas antidiare. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antidiare dari fraksi larut (FLEA) dan tidak larut etil asetat (FTLEA) ekstrak etanolik buah lada hitam menggunakan hewan uji tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi minyak jarak.

Penelitian ini menggunakan desain *post test only control group design* dengan tahapan ekstraksi (maserasi), fraksinasi (cair - cair), skrining fitokimia, uji kuantitatif piperin (KLT - Densitometri), dan uji aktivitas antidiare. Parameter aktivitas antidiare berupa selisih penurunan berat badan, jumlah berat feses yang keluar, dan frekuensi BAB dianalisis menggunakan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Adapun parameter konsistensi feses dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

Hasil penelitian rendemen ekstrak sebesar 11,51%, rendemen FLEA 14,83%, dan rendemen FTLEA 66,59%. Hasil skrining fitokimia pada FLEA positif mengandung tanin, alkaloid, dan triterpenoid, sedangkan pada FTLEA positif mengandung flavonoid. Kadar piperin pada FLEA sebesar 53,71% b/b. Parameter aktivitas antidiare berupa selisih penurunan berat badan dan jumlah berat feses yang keluar menunjukkan FLEA dan FTLEA memiliki aktivitas yang setara dengan kontrol positif (Loperamid HCl), sedangkan pada parameter frekuensi BAB yang memiliki aktivitas setara dengan kontrol positif adalah FLEA. Adapun parameter konsistensi feses tidak dijadikan acuan karena aktivitas kontrol positif sama dengan kontrol negatif.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah FLEA memiliki aktivitas antidiare yang lebih baik dibandingkan FTLEA.

Kata Kunci : Aktivitas Antidiare, Buah Lada Hitam, Ekstrak Etanolik, Fraksi Etil Asetat.

BAB I

PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang

Diare merupakan suatu kondisi medis yang ditandai dengan perubahan bentuk feses dan frekuensi buang air besar yang meningkat (lebih dari tiga kali sehari) (Prawati & Haqi, 2019). Masih banyak orang yang mengalami diare di negara – negara yang sedang berkembang, termasuk Indonesia (Andiarsa et al., 2017). Pada tahun 2020, prevalensi angka kematian akibat diare sebesar 14,5% (Kemenkes RI, 2023) dan menurut Data Profil Kesehatan Kota Semarang tahun 2020 kasus diare di tahun 2016 – 2020 kecuali tahun 2019 mengalami peningkatan dengan total kasus 50.021 kasus (Hakam et al., 2021).

Menurut data dari WHO dan UNICEF, setiap tahun terjadi sekitar 2 milyar kasus diare dan 1,9 juta anak balita meninggal karena diare di seluruh dunia (Andiarsa *et al.*, 2017). oleh karena itu, masih banyak orang yang terkena penyakit diare di negara – negara berkembang, termasuk Indonesia, dan tingkat kesakitan dan kematian akibat penyakit diare masih tinggi di seluruh dunia. Menurut Rohmah & Syahrul (2017), tingkat kematian akibat diare pada anak – anak dibawah usia lima tahun adalah sekitar 3,8 per 1000 per tahun.

Secara farmakologi obat antidiare yang paling umum digunakan adalah jenis adsorben seperti attapulgitte antimotilitas seperti loperamid HCl. Mekanisme kerja obat golongan adsorben seperti attapulgitte dapat menyerap secara tidak spesifik terhadap nutrisi, toksin, obat, atau zat – zat bantu pencernaan lainnya. Adapun obat golongan antimotilitas bekerja dengan cara mengurangi gerakan peristaltik dan produksi cairan di usus sehingga waktu transit gastrointestinal lebih lama dan meningkatkan penyerapan cairan dan elektrolit dari saluran pencernaan. Namun, obat – obatan tersebut memiliki efek samping, attapulgitte memiliki efek samping konstipasi ringan atau sembelit (Setiawan & Sudharmono, 2019). Adapun Loperamid HCl memiliki efek samping yaitu terjadinya *paralitik ileus* (Anbhuselvam et al., 2019; Andika et al., 2020). *Paralitik ileus* adalah kondisi dimana peristaltic usus terhenti akibat adanya peradangan atau tekanan pada lesi saraf, yang memicu kelumpuhan pada saraf tersebut (Nisa et al., 2021).

FDA telah menerima laporan kasus masalah jantung yang serius terkait penggunaan Loperamide HCl setelah disetujui pada tahun 1976 hingga 2015. Beberapa masalah yang dilaporkan meliputi *syncope* (24 kasus), *cardiac arrest* (13 kasus), *QT interval prolongation* (13 kasus), *ventricular tachycardia* (10 kasus), dan *tosarde de pointes* (7 kasus) (BPOM RI, 2016). Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menggunakan alternatif obat antidiare terutama dari bahan alam. Penggunaan bahan alam sebagai antidiare salah satunya adalah buah lada

hitam yang secara turun temurun digunakan oleh masyarakat Indonesia (Nuraini et al., 2021).

Buah lada hitam mengandung senyawa alkaloid utama yaitu piperin (Febriyanti et al., 2018; Quijia et al., 2021). Kadar senyawa piperin dalam ekstrak etanol 96% dari buah lada hitam sebesar 26%, yang dianalisis menggunakan LC-MS (Febriyanti *et al.*, 2018). Piperin dapat digunakan sebagai antidiare dengan mekanisme dapat menginduksi kontraksi otot polos usus melalui stimulasi kolinergik dan menghambat kontraksi spontan otot polos (Pongkorpsakol et al., 2015). Namun demikian, senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antidiare, bisa dari golongan tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Fauzi et al., 2020) sehingga diperlukan informasi mengenai sifat senyawa yang memiliki efek antidiare. Penggolongan senyawa dalam tanaman dapat diketahui melalui fraksinasi. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Shamkuwar et al (2012) untuk uji aktivitas antidiare buah lada hitam pada tikus putih jantan yang digunakan hanya menggunakan ekstrak air buah lada hitam. Hewan uji yang digunakan untuk uji aktivitas antidiare adalah tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi oleh minyak jarak, karena induksi minyak jarak ke usus dapat mengakibatkan kerja *peristaltik* usus halus dari tikus akan semakin kuat dan mengakibatkan diare (Ambari, 2018). Oleh karena itu, peneliti akan melakukan uji aktivitas antidiare fraksi larut & tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi dengan minyak jarak untuk

mendapatkan informasi sifat senyawa yang memiliki efek sebagai antidiare.

1. 2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah: “Bagaimana aktivitas antidiare fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan minyak jarak (*Oleum ricini*)?”

1. 3. Tujuan Penelitian

1. 3. 1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas antidiare fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi dengan minyak jarak (*Oleum ricini*).

1. 3. 2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui aktivitas antidiare fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan minyak jarak (*Oleum ricini*) berdasarkan jumlah berat feses yang keluar, frekuensi BAB, berat badan tikus sebelum dan sesudah diare, dan konsistensi feses (cair, lembek, dan padat) selama 6 jam penelitian.

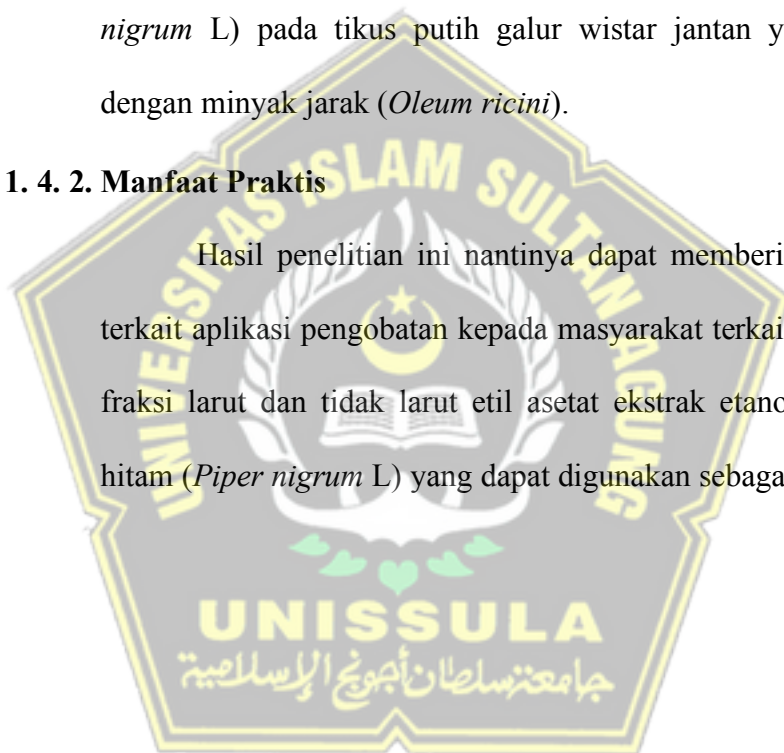
1. 4. Manfaat

1. 4. 1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian diharapkan dapat sebagai sumber informasi pengembangan ilmu pengetahuan baik dunia kesehatan maupun dalam dunia farmasi mengenai uji aktivitas antidiare fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus putih galur wistar jantan yang diinduksi dengan minyak jarak (*Oleum ricini*).

1. 4. 2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini nantinya dapat memberikan informasi terkait aplikasi pengobatan kepada masyarakat terkait pemanfaatan fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) yang dapat digunakan sebagai antidiare.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Uraian Lada Hitam (*Piper nigrum* L)

2. 1. 1. Morfologi Lada Hitam (*Piper nigrum* L)

Lada, atau *Piper nigrum* L, termasuk dalam genus *piper* suku piperaceae. Lada adalah salah satu rempah – rempah yang penting secara ekonomi, dan dapat berupa lada hitam (*black pepper*) atau lada putih. Secara morfologi, lada adalah tanaman merambat yang berkayu. Buah lada muda berwarna hijau seperti terlihat pada **Gambar 2. 1** dan merah saat masak, dengan diameter 4 – 6 mm, dan memiliki 60 – 80 buah dalam satu bunga. Genus *piper* adalah salah satu marga tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai tanaman rempah – rempah, obat tradisional, dan tanaman hias. Tumbuhan ini memiliki ciri – ciri morfologi berupa perdu, menjalar, dan berdaun sederhana (Boangmanalu & Zuhrotun, 2018).



Gambar 2. 1 Tanaman Buah Lada Hitam (Oktafiani et al., 2020)

Tanaman lada dikenal sebagai tanaman tahunan yang merambat, batangnya disertai dengan tanaman lada tinggi yang tumbuh pada tiang panjat dan terkadang menyebar di atas tanah. Setiap tanaman lada hanya memiliki satu akar, jika ditebang saat berumur satu tahun akan menumbuhkan cabang baru. Tanaman lada termasuk dalam kelompok tumbuhan dikotil dengan akar tandan. Akar utama terletak di pangkal batang dan akar melengkung di atas tanah memiliki fungsi menempel pada tanaman merambat dan juga tempat menyerap nutrisi. Akar lengket hanya berkembang pada batang utama dan cabang *orthogonal*, sedangkan pada cabang produktif (*multidirectional*) tidak ada akar aksesori (Oktafiani *et al.*, 2020).

Lada hitam tumbuh luas di tempat dengan iklim tropis dan kelembapan yang cukup. Buah lada yang telah dikeringkan merupakan bagian tanaman lada yang sering dimanfaatkan. Lada hitam dikenal sebagai “*king of spesies*” karena memiliki rasa pedas dan aroma yang sangat kuat yang tak tertandingi oleh rempah – rempah lain di dunia (Febriyanti *et al.*, 2018). Buah lada hitam dipanen setelah berbunga selama 6 – 7 bulan. Warna buah tersebut adalah hijau tua atau hijau gelap (Manohara *et al.*, 2013). Tanaman lada dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah terutama tanah lempung berpasir dengan unsur hara yang cukup, keasaman tanah (pH) 5 – 6,5 dan memiliki kelembaban udara 70 % sampai 90 %

dengan suhu maksimum 35°C dan minimum 25°C (Manohara et al., 2013).

2. 1. 2. Klasifikasi *Piper nigrum* L.

Klasifikasi Menurut Oktafiani *et al.* (2020) sistematika lada

hitam:

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

SuperOrdo : Magnolianaes

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae

Genus : *Piper*

Spesies : *Piper nigrum* Linn.

2. 1. 3. Manfaat dan Kandungan *Piper nigrum* L

Lada adalah komoditas yang paling banyak digunakan di seluruh dunia sebagai bumbu masakan. Selain itu, lada juga banyak digunakan dalam industry medis sebagai bahan pembuatan jamu karena memiliki banyak manfaat, seperti memperlancar sistem pencernaan, melancarkan peredaran darah, menurunkan tekanan darah, antioksidan, dan antikanker, mengurangi kesuburan, antimikotik pada tikus, anti-inflamasi, anti-malaria, menurunkan berat badan, antipiretik, menetralkan racun ular, anti-epilepsi, membantu meningkatkan penyerapan beberapa vitamin, analgesik, dan antidiare(Arief et al., 2020).

Buah lada hitam mengandung berbagai fitokimia seperti alkaloid, fenol, tanin, kumarin, saponin, flavonoid, glikosida, terpenoid (Sari et al., 2014), minyak atsiri, piperin, piperamid, piperacid, sarmentosin, dan sarmentin. Berbagai kandungan fitokimia dalam buah lada hitam, yang memiliki khasiat sebagai antidiare adalah piperin, karena senyawa piperin sering digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan seperti detoksifikasi usus besar yang menyebabkan diare, merangsang enzim pencernaan di pankreas dan usus kecil serta dapat meningkatkan sekresi asam bilirubinat dan dapat menghambat atau membunuh bakteri (*Escherichia coli*) penyebab diare (Febriyanti et al., 2018). Menurut Pongkorpsakol et al. (2015) senyawa alkaloid yaitu piperin bekerja dengan cara menekan sekresi elektrolit dalam tubuh yang melintasi sel epitel usus manusia agar dapat mengurangi terjadinya diare.

Senyawa piperin memiliki sifat semi polar, syarat kadar piperin pada simplisia buah lada hitam tidak kurang dari 5,8 %, sedangkan pada ekstrak buah lada hitam mengandung tidak kurang dari 48,6 % dengan rendemen tidak kurang dari 11,3 %. Penetapan kadar piperin dilakukan dengan cara KLT Densitometri dengan menggunakan fase gerak Etil asetat : N-Heksan untuk mengetahui persentase piperin dalam ekstrak etanolik buah lada hitam menggunakan rumus : (Depkes RI, 2017; Hikmawanti et al., 2016)

$$\% = \frac{C_p \times \frac{A_u}{A_p} \times V \times f}{W} \times 100$$

Keterangan :

C_p = Kadar Larutan Perbandingan

A_u = Serapan Larutan Uji

A_p = Serapan Larutan perbandingan

V = Volume larutan uji sebelum pengenceran

f = Faktor pengenceran Larutan uji

W = Bobot Bahan uji

2. 2. Simplisia Lada Hitam

Proses pengolahan lada hitam sangat sederhana, yaitu dengan memisahkan buah lada dari tangkainya, kemudian melakukan *blanching* dengan mencelupkannya dalam air panas selama 2,5 menit agar diperoleh warna hitam yang bersinar dan aroma yang lebih baik. Setelah itu, lada dijemur menggunakan rak – rak, tikar, tampah, atau terpal plastik dan dijaga dari gangguan hewan. Waktu penjemuran adalah selama 3 hari (tergantung cuaca) hingga kadar airnya mencapai 14%, yang ditandai dengan buah yang pecah saat digigit dan warnanya menjadi pekat hitam. (Rukmana et al., 2015).

2. 3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan aktif dari padatan atau cairan dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus bisa memisahkan atau mengekstrak zat yang diinginkan tanpa melarutkan zat lain yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi. Proses yang terjadi selama ekstraksi padat

– cair (*leaching*) biasa disebut sebagai difusi. Beberapa faktor yang secara signifikan mempengaruhi laju difusi prose *leaching* adalah sebagai berikut (Prayudo & Novian, 2015) :

1. Ukuran Partikel

Semakin kecil ukuran partikel, semakin memperluas kontak antara permukaan padatan *inert* dengan pelarut dan semakin pendek jarak difusi antara *solute* dengan *solvent*. Hal ini menyebabkan kecepatan ekstraksi semakin tinggi (Prayudo & Novian, 2015).

2. Kecepatan Pengadukan

Semakin cepat kecepatan pengadukan yang digunakan dalam proses ekstraksi, maka semakin besar partikel yang memiliki area kontak dengan pelarut. Selain itu, kecepatan pengadukan juga mempengaruhi suspensi partikel dan dapat mencegah pengendapan komponen yang diekstraksi (Prayudo & Novian, 2015).

3. Waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi adalah salah satu faktor yang menentukan laju difusi dari proses ekstraksi padat – cair (*leaching*). Namun, menambahkan terlalu banyak waktu tidak sebanding dengan hasil yang dicapai. Oleh karena itu, ekstraksi memerlukan optimalisasi waktu untuk memastikan proses ekstraksi berjalan dengan lancar dan optimal (Prayudo & Novian, 2015).

4. Kelarutan Obat

Kelarutan obat dalam padatan *inert* meningkat ketika suhu pelarut meningkat. Koefisien difusi juga meningkat ketika suhu meningkat, sehingga laju ekstraksi meningkat (Prayudo & Novian, 2015).

5. Volume Pelarut

Semakin banyak pelarut yang digunakan, semakin cepat bahan berdifusi dan semakin tinggi rendemannya. Akan tetapi, tidak ekonomis untuk menggunakan terlalu banyak pelarut. Ada beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan ketika memilih jenis pelarut antara lain selektivitas pelarut, perbedaan titik didih antara pelarut dan zat yang diekstraksi (Prayudo & Novian, 2015).

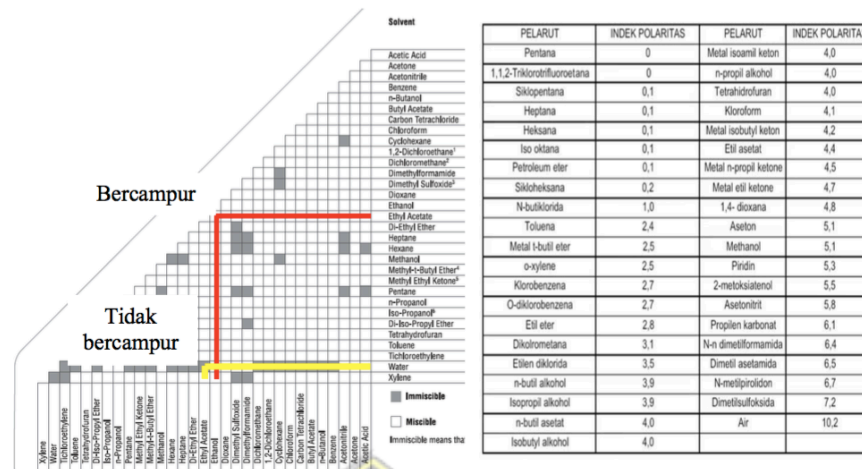
2. 4. Maserasi

Maserasi adalah proses merendam sampel dalam pelarut organik pada suhu kamar. Selama proses perendaman, dinding dan membrane sel pada sampel tumbuhan akan pecah akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Handayani & Nurcahyanti, 2015). Maserasi dilakukan dengan merendam seluruh atau bagian tanaman yang ditumbuk kasar dalam pada suhu kamar selama minimal 3 hari dan diaduk berulang kali sampai semua ekstrak tanaman larut dalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau terkadang air. Campuran kemudian disaring dan residu yang dihasilkan ditekan untuk mendapatkan bagian cair saja. Cairan yang dihasilkan kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah waktu tunggu tertentu. Keuntungan

dari proses maserasi antara lain bahwa fraksi tumbuhan yang akan diekstraksi tidak perlu dalam bentuk serbuk halus, proses sederhana, dan kurang rentan terhadap kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada infiltrasi atau absorpsi. Kelemahan perendaman adalah perlunya pengocokan/pengadukan, pengepresan, penyaringan, serta keberadaan residu pelarut dalam produk akhir tidak konsisten (Endarini, 2016).

2. 5. Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses ekstraksi senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak dapat bercampur. Pelarut yang banyak digunakan untuk fraksinasi adalah n-heksana dengan massa jenis 0,655g/mL (Wiradnyani et al., 2014), Etil asetat dengan berat jenis 0,894 g/mL (Sogandi & Gunarto, 2020), dan metanol dengan berat jenis 0,7915 (Muti'ah et al., 2013). Pelarut N – Heksana digunakan untuk menarik lemak dan senyawa non polar, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, dan metanol untuk menarik senyawa polar. Berdasarkan prinsip "*like dissolve like*", senyawa non polar akan larut dalam pelarut yang non polar, sedangkan senyawa polar akan larut dalam pelarut yang polar. Salah satu metode yang umum digunakan untuk memisahkan komponen senyawa adalah metode kromatografi. Tujuan kualitatif, dapat digunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Sudarwati & Fernanda, 2019). Faktor – faktor yang dapat mempengaruhi pada proses fraksinasi yaitu jumlah pelarut, lama waktu fraksinasi dan kekuatan pengadukan (Kusnanto et al., 2021).



Gambar 2. 2 Tabel *Miscibility* Pelarut (Dean, 2022)

Etil asetat memiliki polaritas semi polar, sedangkan pelarut ekstrak etanol bersifat polar – semi polar dan berdasarkan tabel *miscibility* pada **Gambar 2. 2** bercampur. Oleh karena itu, perlu ditambahkan air hangat agar terbentuk dua fraksi yang tidak saling larut (Dean, 2022).

2. 6. Diare

Diare merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti Indonesia. Hal ini disebabkan karena sering terjadi dalam bentuk Kejadian Luar Biasa (KLB) dan dikaitkan dengan angka kematian yang tinggi terutama di kawasan timur Indonesia. Pada diare berat yang sering disertai muntah, tubuh kehilangan banyak air dengan garam (terutama natrium dan kalium). Hal ini dapat menyebabkan kekeringan (dehidrasi), kekurangan kalium (hipokalemia), dan kadang – kadang asidosis (darah menjadi asam), yang dapat berakhir syok dan meninggal. Obat – obatan yang digunakan dalam pengobatan diare

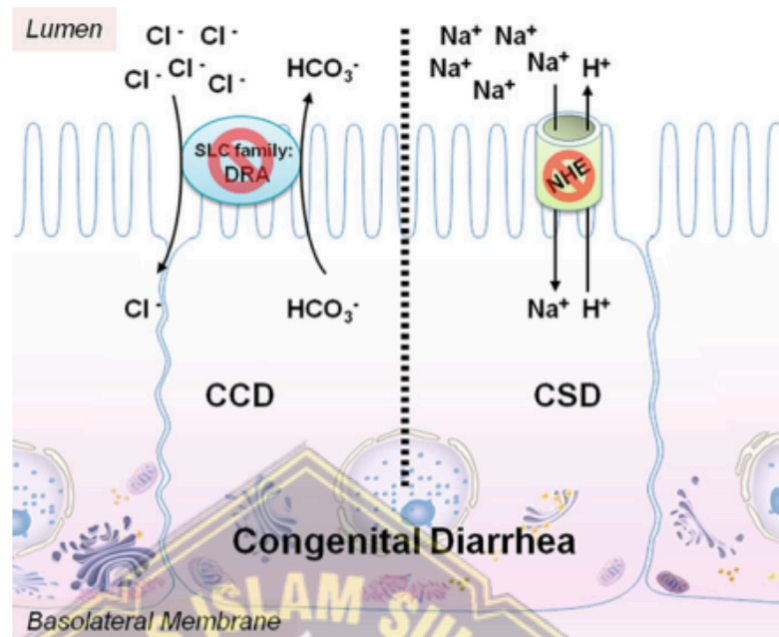
diklasifikasikan menjadi beberapa kategori yaitu antibiotik, adsorben, agen antisekresi, antibiotik, enzim dan mikroflora usus (Suherman et al., 2013).

2. 7. Etiologi Diare

Diare dapat disebabkan dalam beberapa cara, yang paling umum adalah infeksi. Dalam hal ini diare merupakan respon fisiologis yang menguntungkan terhadap bahan berbahaya di dalam usus, sehingga dapat mengeluarkan bakteri dan racun berbahaya dalam tubuh. Penyebab infeksi adalah hasil dari kerusakan pada mukosa (misalnya pada rotavirus), dan toksin yang dihasilkan oleh organisme infeksius itu sendiri (misalnya pada kolera). (Kotloff, 2017).

2. 8. Patofisiologi Diare

Diare terjadi karena ketidakseimbangan dalam penyerapan dan sekresi air dan elektrolit dalam tubuh. Mekanisme patofisiologi umum diare yang dapat mengganggu keseimbangan air dan elektrolit yaitu perubahan transport ion aktif baik dengan penurunan penyerapan natrium atau peningkatan sekresi klorida seperti yang tertera di **Gambar 2. 3** (Wells et al., 2015)



Gambar 2. 3 Patofisiologi diare (Hamilton & Devor, 2020)

2. 9. Aktivitas Antidiare

Diare atau mencret didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses yang tidak terbentuk (*unformed stools*) atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Bila diare berlangsung kurang dari 2 minggu, disebut sebagai diare akut. Sedangkan, bila diare berlangsung 2 minggu atau lebih, digolongkan pada diare kronik. Feses dapat dengan atau tanpa lendir, atau darah. Gejala penyerta dapat berupa mual, muntah, nyeri abdominal, mulas, tenesmus, demam, dan tanda – tanda dehidrasi (Amin, 2015). Pada saat diare, konsistensi dari feses cenderung berbentuk cairan atau setengah cairan dan frekuensi terjadinya defekasi lebih sering dari keadaan normal sekitar 4 – 5 kali dalam sehari dengan kandungan air pada feses lebih banyak dari normal (Sukmawati et al., 2017). Sehingga peneliti menggunakan beberapa parameter selama 6 jam untuk mengetahui

aktivitas antidiare dari fraksi larut etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam menggunakan tikus sebagai hewan uji dengan gejala diare yang hampir sama dengan manusia (Manek et al., 2020; N. K. Sari et al., 2017).

2. 10. Loperamid HCl

Loperamid HCl adalah suatu agonis opioid non – resep yang tidak menembus sawar darah otak serta tidak memiliki efek analgesik atau potensi adiksi dengan mekanisme dapat meningkatkan aktivitas segmentasi fasik kolon melalui inhibisi saraf kolinergik prasinaps di pleksus lapisan lambung diatas mukosa dan pada bagian sistem syaraf pada dinding saluran cerna serta menyebabkan peningkatan waktu transit kolon dan penyerapan air tinja dan juga meningkatkan gerakan massal reaksi tak sadar yang normal terhadap makanan yan masuk ke lambung (Katzung et al., 2012). Loperamid HCl digunakan sebagai kontrol positif karena ketika peristaltik usus halus diperkuat oleh oleum ricini maka Loperamide HCl akan menghentikan diare dengan menekan peristaltik usus sehingga memberikan lebih banyak waktu untuk resorpsi air dan elektrolit oleh mukosa usus (Ambari, 2018).

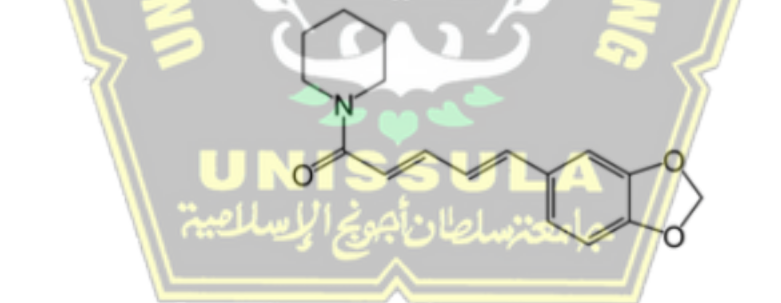
2. 11. Minyak Jarak (*Oleum ricini*)

Minyak jarak adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan dari biji *Ricinus communis* L yang telah dikupas. Kandungan asam lemak pada minyak jarak 90% terdiri dari asam risinoleat, dan hanya sedikit mengandung asam dihidroksi stearat, linoleat, oleat, serta stearat.

Minyak jarak termasuk kedalam golongan pencahar rangsang karena merangsang otot polos usus sehingga meningkatkan peristaltik dan sekresi lendir usus. Selain itu, minyak jarak juga bersifat *emolient* yaitu dapat melunakkan feses dan memudahkan pengeluarannya (Purwatinigrum, 2014).

2. 12. Hubungan Antara Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam Pada Aktivitas Antidiare

Piperin termasuk kedalam golongan alkaloid yang merupakan komponen utama yang terkandung dalam buah lada hitam, memiliki struktur seperti yang terlihat pada **Gambar 2. 4** dengan nama IUPAC yaitu *1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl] piperidine*. Senyawa piperin memiliki sifat semi polar (Hikmawanti et al., 2016).

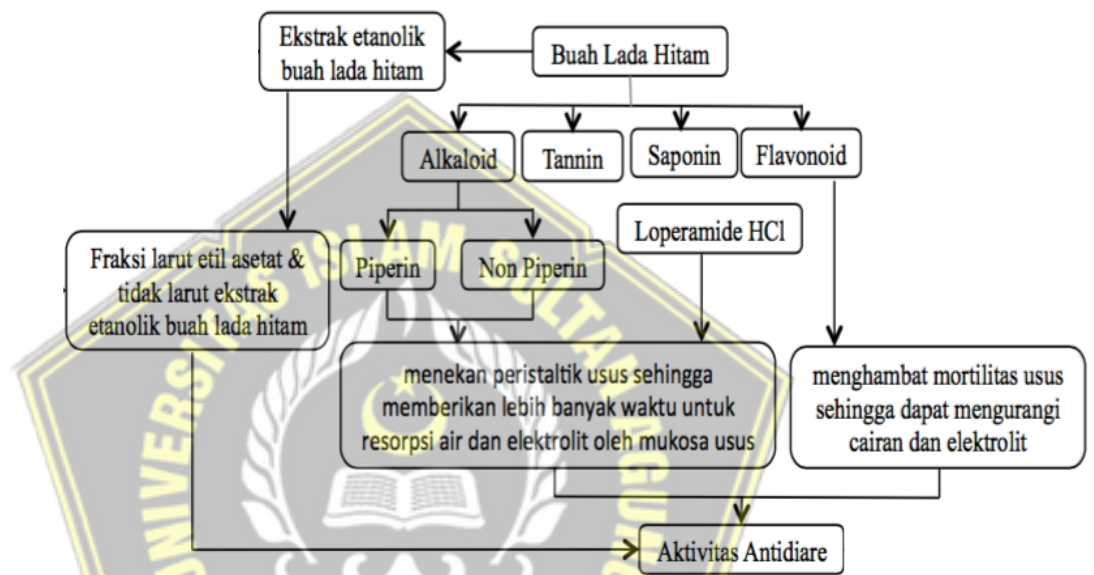


Gambar 2. 4 Struktur Kimia Piperin (Febriyanti *et al.*, 2018)

Kandungan piperin dalam ekstrak etanol 60% buah lada hitam menghasilkan kandungan piperin sebesar 52,81% (Hikmawanti et al., 2016). Kandungan piperin dapat menginduksi kontraksi otot polos usus melalui mekanisme yang melibatkan reseptor aktivitas μ -opioid dan Ca^{2+} channel blockade. Piperin juga bertanggung jawab atas efek penghambatan pada sekresi Cl^- usus yang di induksi cAMP sehingga

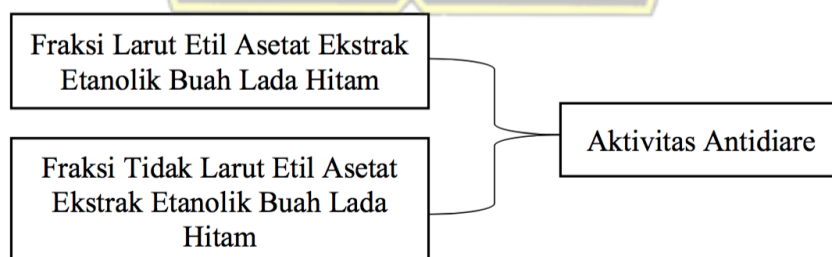
piperin dapat mengurangi akumulasi cairan usus, sehingga dapat memperkuat potensi penggunaan piperin dalam pengobatan diare dengan dosis efektif pada tikus yaitu sebesar 300 mg/kgBB tikus (Pongkorpsakol *et al.*, 2015).

2. 13. Kerangka Teori



Gambar 2. 5 Kerangka Teori

2. 14. Kerangka Konsep



Gambar 2. 6 Kerangka Konsep

2. 15. Hipotesis

Fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) memiliki aktivitas sebagai antidiare lebih baik dibandingkan fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* L) pada tikus galur wistar jantan yang diinduksi minyak jarak.



BAB III

METODE PENELITIAN

3. 1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental design* dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian ini menguji aktivitas antidiare fraksi larut etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam menggunakan tikus putih galur wistar jantan dengan menggunakan kontrol negatif Na CMC dan kontrol positif Loperamid HCl.

3. 2. Variabel

3. 2. 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam.

3. 2. 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antidiare.

3. 3. Definisi Operasional

3. 3. 1. Fraksi Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam

Buah lada hitam diekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 60%. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi yaitu etil asetat (Sudarwati & Fernanda, 2019). Fraksinasi menggunakan

metode fraksinasi cair – cair sehingga menghasilkan 2 fraksi yaitu fraksi larut etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat. Hasil fraksinasi diuji aktivitasnya dengan dosis 300 mg/200gBB tikus.

Skala data : Rasio

3. 3. 2. Aktivitas Antidiare

Untuk mengetahui aktivitas antidiare fraksi etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam (*Piper nigrum* Linn) penelitian kali ini menggunakan parameter :

1. Jumlah berat feses yang keluar (mg) dengan skala data : rasio
2. Frekuensi BAB (jumlah) dengan skala data : rasio
3. Berat badan tikus sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan (gram) dengan skala data : rasio
4. Konsistensi feses (cair, lembek, padat) dengan skala data : Ordinal

3. 4. Populasi dan Sampel

3. 4. 1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian kali ini adalah tikus putih galur wistar jantan yang diperoleh dari daerah Semarang

3. 4. 2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah tikus putih galur wistar jantan dengan perhitungan jumlah sampel adala berdasarkan rumus Federer, yaitu : (Siswanti et al., 2022)

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Banyak pengulangan pada tiap perlakuan

Sampel yang digunakan dibagi menjadi 5 kelompok maka perhitungannya adalah :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Jumlah sampel menurut perhitungan rumus Federer adalah 5 sampel dan setiap kelompok ditingkatkan 20% (1 hewan) untuk mengantisipasi ada hewan yang mati atau gagal ketika melakukan percobaan sehingga tiap kelompok berisi 6 ekor tikus.

➤ Kriteria inklusi sampel :

- Tikus wistar jantan
- Berbulu putih dan halus
- Sehat ditandai dengan bergerak aktif
- Tingkah laku normal
- Umur 10 – 16 minggu dengan bukti sertifikat
- Berat badan \pm 160 – 250 gram

➤ Kriteria eksklusi sampel :

- Terdapat penurunan berat badan $> 10\%$ setelah masa adaptasi
- Cacat
- Sakit
- Mati (Tambunan et al., 2014)

3. 5. Instrumen dan Bahan Penelitian

3. 5. 1. Alat

Alat yang digunakan yaitu timbangan elektronik (*ohaus*), lemari pengering, *rotary evaporator*, sonde, ayakan no. 40, kandang tikus, spuit 3 mL (*onemed*), bejana, Plat KLT silica gel F₂₅₄ (*Merck*), densitometer (*CAMAG vision CATS*), dan alat – alat gelas (*pyrex*) yang biasa digunakan di laboratorium farmasi.

3. 5. 2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu buah lada hitam yang diperoleh dari kecamatan Gunung Pati Kota Semarang, etanol 96% teknis (*Merck*), etil asetat teknis (*Merck*), etanol p.a (*Merck*), aquadest (PT. Mitra Karya Aquadest Industri), standar piperin (*Sigma – Aldrich*), Na – CMC (*Sigma*), methanol p.a (*Merck*), N-Heksan p.a (*Merck*).

3. 6. Cara Penelitian

3. 6. 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman buah lada hitam dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

3. 6. 2. Pembuatan Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam

Buah lada hitam dicuci terlebih dahulu dengan air bersih guna menghilangkan kotoran yang melekat, kemudian dikeringkan menggunakan lemari pengering dengan suhu 60°C. Buah lada hitam yang sudah kering (kadar air < 10%) dihaluskan dengan cara diblender kemudian diayak dengan ayakan no. 40. Serbuk yang diperoleh lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 60% (perbandingan 10 : 75), dengan 1.500 gram buah lada hitam yang sudah dihaluskan dengan 11.250 ml pelarut etanol 60%, kemudian bejana ditutup dan dibiarkan selama 3 hari dan sesekali diaduk. Bejana ditutupi dengan aluminium foil dan disimpan di tempat yang terhindar dari cahaya. Setelah 3 hari, filtrat dipisahkan dengan ampasnya menggunakan kertas saring. Kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 60°C dengan kecepatan 70 rpm sampai mengental agar didapatkan ekstrak kental etanolik buah lada hitam (Febriyanti *et al.*, 2018). Ekstrak ditimbang dan dihitung persentase rendemennya menggunakan rumus : (Wijaya *et al.*, 2018)

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \times 100\%$$

3. 6. 3. Pembuatan Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam

Proses fraksinasi menggunakan metode cair – cair, dengan proses partisi menggunakan pelarut etanol 60% - air hangat (2 : 3)

dan dilanjutkan penambahan etil asetat dengan perbandingan 1 : 1. Sebanyak 120 gram ekstrak kental buah lada hitam dilarutkan dalam 1200 mL pelarut campuran etanol 60% - air hangat yang selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 1200 mL pelarut etil asetat. Campuran diaduk/dikocok dalam labu pemisah, lalu didiamkan selama 30 – 60 menit dan dipisahkan lapisan yang terbentuk lapisan etil asetat berada di lapisan atas. Setelah proses partisi fraksi yang diperoleh dikentalkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C hingga diperoleh fraksi kental/serbuk (Yuliani et al., 2016).

3. 6. 4. Uji Kualitatif

1. Uji tanin

Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 100 mg lalu dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian masing – masing ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2 – 3 tetes. Sampel mengandung tanin bila mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Khanifah et al., 2021).

2. Uji Flavonoid

Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 100 mg lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat 2 tetes dan dihomogenkan, lalu ditambahkan sedikit serbuk magnesium. Fraksi dinyatakan positif flavonoid

ditunjukkan dengan adanya warna jingga dan muncul buih (Khanifah et al., 2021).

3. Uji alkaloid

Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 100 mg, lalu ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL amonia kemudian dikocok. Filtrat ditambahkan HCl 2N hingga terjadi pemisahan. Kemudian larutan dipisahkan, lalu ditambahkan dengan reagen dragendroff. Fraksi dinyatakan positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat (Izza et al., 2023).

4. Uji Saponin

Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 100 mg, lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 5 mL air panas dan didinginkan, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif mengandung saponin jika berbentuk buih yang bertahan selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 – 10 cm. Pada penambahan HCl 2N, buih akan hilang (Simaremare, 2014).

5. Uji Steroid

Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 100 mg lalu sampel dicampur dengan asetat anhidrat ditambahkan H_2SO_4 pekat. Perubahan warna hijau – biru menunjukkan adanya steroid dan jika perubahan warna merah – ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Ikalinus et al., 2015).

3. 6. 5. Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif yang dilakukan pada penelitian kali ini menggunakan KLT – Densitometri untuk menetapkan senyawa marker piperin yang terkandung di dalam fraksi larut etil asetat dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam :

3.6.5.1 Pembuatan Larutan Uji

3.6.5.1.1 Fraksi Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah

Lada Hitam

Fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam ditimbang kurang lebih 20 mg fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam, dilarutkan dalam 25 mL etanol *P* dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, ditambahkan etanol *P* sampai tanda sehingga didapatkan 400 ppm (Lampiran 5) lalu dipipet 25 mL ke labu tentukur 50 mL, ditambahkan etanol *P* sampai tanda (Depkes RI, 2017) sehingga diperoleh larutan 200 ppm (Lampiran 5)

3.6.5.1.2 Fraksi Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik

Buah Lada Hitam

Fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam ditimbang kurang lebih 20 mg fraksi

larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam, dilarutkan dalam 25 mL etanol *P* dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL, ditambahkan etanol *P* sampai tanda sehingga didapatkan 400 ppm (Lampiran 5) lalu dipipet 25 mL ke labu tentukur 50 mL, ditambahkan etanol *P* sampai tanda (Depkes RI, 2017) sehingga diperoleh larutan 200 ppm (Lampiran 5)

3.6.5.2 Pembuatan Larutan Baku

Piperin ditimbang saksama lebih kurang 100 mg, dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, lalu ditambahkan etanol *P* sampai tanda sehingga didapatkan larutan baku induk 1000 (Lampiran 6). Larutan baku induk dibuat menjadi larutan baku kerja dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm.

a. Larutan Baku Kerja 20 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 0,2 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

b. Larutan Baku Kerja 40 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 0,4 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

c. Larutan Baku Kerja 60 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 0,6 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

d. Larutan Baku Kerja 80 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 0,8 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

e. Larutan baku kerja 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 0,2 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

3.6.5.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Piperin

Larutan baku kerja standar piperin kemudian ditotolkan pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ masing – masing sebanyak 5 μ L dengan pipa kapiler 5 μ L. Plat KLT selanjutnya dielusi dengan fase gerak etil asetat : N – Heksan (1:1) dan *discanning* pada densitometer dengan panjang gelombang 254 nm sehingga dihasilkan data area standar piperin. Kemudian dibuat hubungan linear antara y (luas area) dan x (kadar/konsentrasi larutan baku kerja piperin) dengan persamaan garis regresi $y = bx + a$ dan dilihat harga r (koefisien korelasi) (Hikmawanti *et al.*, 2016).

3.6.5.4 Pengukuran Kadar Piperin Dari Fraksi

Fraksi yang sudah di preparasi pada poin 3.6.5.1.1 dan 3.6.5.1.2 ditotolkan masing – masing 5 μ L pada plat KLT silika gel 60 F₂₅₄. Plat selanjutnya dielusi dengan fase gerak etil asetat : N – Heksan (1:1), dan diukur dengan densitometer pada Panjang gelombang 254 nm. Data luas area yang didapatkan dimasukkan dalam persamaan regresi point 3.6.5.3 sehingga diperoleh nilai kadar % piperin (Hikmawanti et al., 2016).

3. 6. 6. Penyiapan Hewan Percobaan

Satu minggu sebelum penelitian, tikus putih galur wistar jantan diadaptasi selama 7 hari dengan cara disimpan di dalam wadah tempat tikus lalu disimpan di lingkungan tempat percobaan dengan pakan standar yang digunakan adalah *brailler – II pellet* dan aquadest.

3. 6. 7. Pembuatan Larutan Na – CMC 1 mg/mL

Sebanyak 1,3 gram Na – CMC dimasukkan ke dalam mortar yang berisi air panas sebanyak 20 mL, ditutup dan dibiarkan selama 30 menit hingga diperoleh massa yang transparan, digerus lalu diencerkan dengan air suling hingga 1300 mL. (Lampiran 7)

3. 6. 8. Pembuatan Larutan Stok Fraksi Larut Etil Asetat dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam 30 mg/mL

Pembuatan larutan fraksi larut etil asetat dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam dibuat masing – masing sebanyak 100 mL. Masing – masing fraksi ditimbang sebanyak 3 gram lalu dimasukkan ke dalam mortar hangat, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit Na – CMC aduk hingga homogen, lalu campuran dipindahkan ke dalam glass beaker 100 mL lalu ditambahkan Na – CMC 1 mg/mL hingga 100 mL dan diaduk kembali hingga homogen, lalu disimpan ke dalam botol (Lampiran 8).

3. 6. 9. Pembuatan Larutan Loperamide HCl 0,02 mg/mL

Pembuatan larutan loperamide HCl dibuat sebanyak 100 mL. Tablet Loperamide HCl 2 mg sebanyak 1 tablet dimasukkan kedalam mortar dan digerus hingga halus, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit Na – CMC dan diaduk hingga homogen. Campuran dipindahkan ke dalam glass beaker 100 mL lalu mortar dibilas 2x dengan Na – CMC dan dimasukkan kembali ke glass beaker, lalu dicukupkan hingga 100 mL dan diaduk hingga homogen. Campuran disimpan ke dalam botol (Lampiran 9).

3. 6. 10. Aktivitas Antidiare Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah

Lada Hitam

Sebanyak 30 ekor tikus putih galur wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing – masing kelompok memiliki 6 ekor tikus putih galur wistar jantan.

Tabel 3. 1 Pembagian Kelompok Uji Berdasarkan Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
1	Normal
2	Negatif (Larutan Na – CMC 1mg/mL)
3	Positif (Larutan Loperamid HCl 0.02mg/mL)
4	Uji (Larutan fraksi larut etil asetat 30 mg/mL)
5	Uji (Larutan fraksi tidak larut etil asetat 30 mg/mL)

Perhitungan Pemberian dosis tiap tikus disajikan pada (lampiran 7, 8 , dan 9). Sebelum dilakukan uji aktivitas antidiare fraksi larut etil asetat dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam hewan percobaan akan dibuat diare terlebih dahulu dengan menggunakan minyak jarak (*Oleum ricini*) dengan dosis sebanyak 3 mL/200gBB tikus (Zulkifli et al., 2017) yang diberikan secara per oral menggunakan sonde lalu dibiarkan selama 60 menit, setelah itu diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok yang sudah dibagi selama 6 jam. Volume pemberian sonde maksimal terhadap tikus adalah sebesar 5 mL. (lampiran 10)

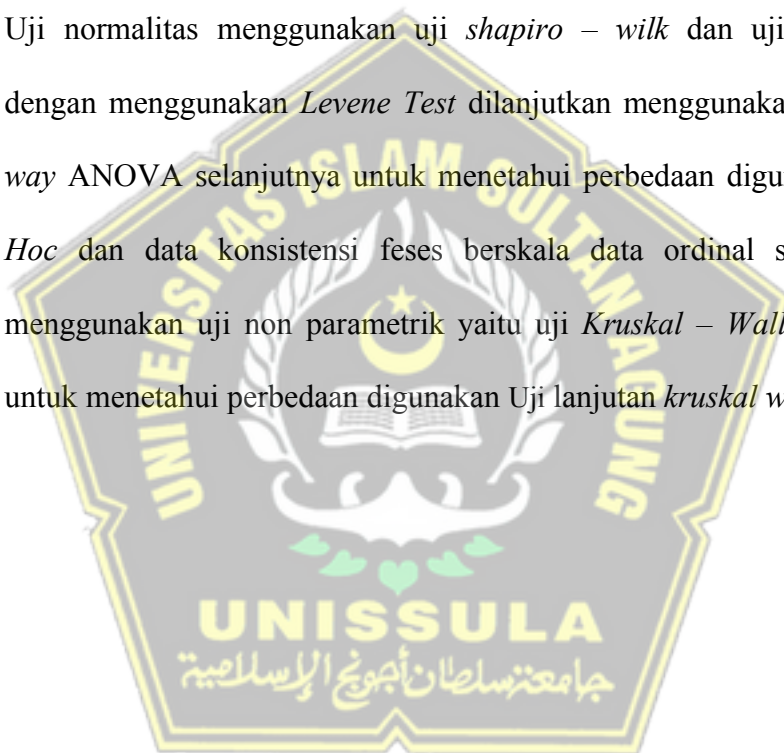
3. 7. Tempat dan Waktu

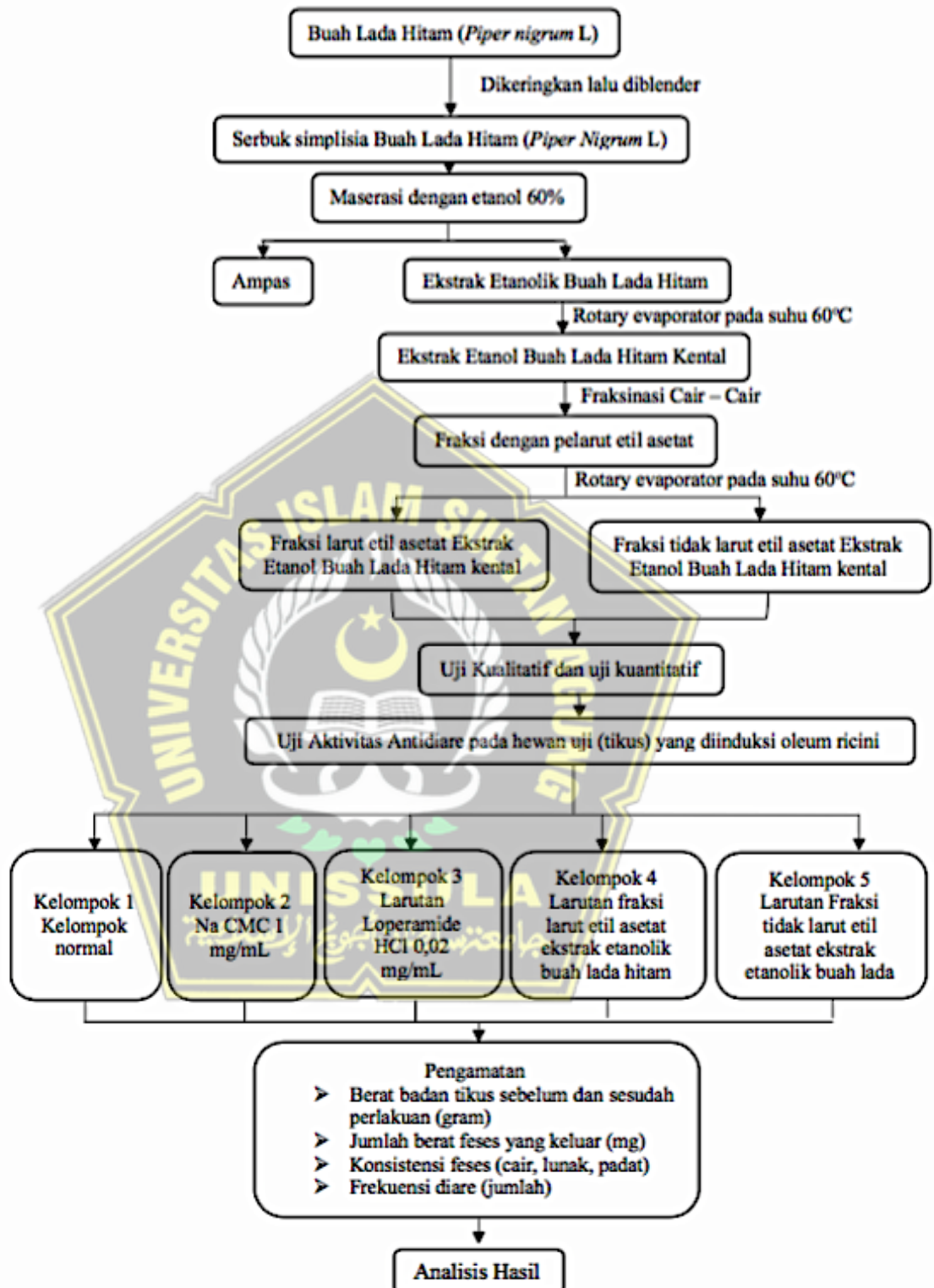
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Islam Sultan Agung dan Laboratorium Biologi Universitas

Negeri Semarang dengan waktu penelitian mulai Juli 2023 sampai November 2023.

3. 8. Analisis Hasil

Data jumlah berat feses yang keluar (gram), berat badan tikus sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan (gram), dan frekuensi BAB (jumlah), diolah menggunakan *software* statistik SPSS dengan melakukan Uji normalitas menggunakan uji *shapiro – wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene Test* dilanjutkan menggunakan metode *one way ANOVA* selanjutnya untuk mengetahui perbedaan digunakan uji *Pos Hoc* dan data konsistensi feses berskala data ordinal sehingga diuji menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal – Wallis* selanjutnya untuk mengetahui perbedaan digunakan Uji lanjutan *kruskal wallis*.





Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4. 1. Hasil Penelitian

4.1. 1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa buah lada hitam benar berasal dari spesies *Piper nigrum* L. (Lampiran 2)

4.1. 2. Rendemen dan Uji Kadar Air Buah Lada Hitam

Simplisia buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari. Hasil rendemen ekstrak, fraksi dan pemeriksaan kadar air terdapat di Tabel 4.1 (Lampiran 11).

Tabel 4. 1 Hasil Rendemen dan Kadar air Simplisia, Ekstrak dan Fraksi Buah Lada Hitam

Parameter	Hasil
Rendemen Ekstrak	11,51 %
Rendemen Fraksi Larut Etil Asetat	14,83 %
Rendemen Fraksi Tidak Larut Etil Asetat	66,59 %
Kadar Air Simplisia	8,05 %
Kadar Air Ekstrak	7,87 %
Kadar Air Fraksi Larut Etil Asetat	4,77 %
Kadar Air Fraksi Tidak Larut Etil Asetat	4,08 %

4.1. 3. Uji Kualitatif

Metode yang digunakan dalam uji kualitatif yaitu dengan cara mengamati perubahan warna yang terjadi. Hasil uji kualitatif fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak buah lada hitam

terdapat pada **Tabel 4. 2** dengan hasil perubahan warna terdapat di (Lampiran 12).

Tabel 4. 2 Uji Kualitatif Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam

Parameter Uji	Fraksi Larut Etil Asetat	Fraksi Tidak Larut Etil Asetat
Tannin	+	-
Flavonoid	-	++
Alkaloid	++	-
Saponin	-	-
Steroid	-	-
Triterpenoid	++	-

Keterangan :

- : Tidak terdapat perubahan warna
- + : Nampak perubaha warna tidak terlalu pekat
- ++ : Nampak perubahan warna pekat

4.1. 4. Uji Kuantitatif

Metode yang digunakan dalam uji kuantitatif yaitu KLT – Densitometri dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : N-heksan (1:1) yang terdiri dari 5 seri standar dan 2 sampel. Hasil yang diperoleh disajikan pada (Lampiran 13) Dari persamaan regresi tersebut didapatkan persamaan $y = 0,021x - 0,00158$ dan dilakukan perhitungan yang terlampir di (Lampiran 13) didapatkan nilai kadar piperin sebesar 53,71 %.

4.1. 5. Analisis Uji Aktivitas Antidiare

Tabel 4. 3 Uji Aktivitas Antidiare Fraksi Larut dan Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanolik Buah Lada Hitam

Kelompok	Rata – Rata Selisih Penurunan Berat Badan Tikus (gram) ± SD	Rata – Rata Jumlah Berat Feses Yang Keluar (Gram) ± SD	Rata – Rata Konsistensi Feses (skor) ± SD	Rata – Rata Frekuensi BAB ± SD
Tanpa perlakuan	-5,4 ± 2,70185	5,2 ± 1,68077	14,8 ± 5,54076	1 ± 1
Kontrol Negatif	-12,4 ± 2,50998 [^]	8,78 ± 1,84581 [^]	36,6 ± 12,46194 [^]	12 ± 2,73861 [^]
Kontrol Positif	-8,2 ± 1,92354 [*]	6,38 ± 1,75556 [*]	22,6 ± 4,82701	6.8 ± 1,64317 ^{^*}
FLEA	-8,6 ± 2,30217 [*]	6,42 ± 1,67988 [*]	26 ± 6,36396 [^]	8,8 ± 1,30384 ^{^*}
FTLEA	-9,6 ± 3,20936 [^]	8,04 ± 1,59154 [^]	27,2 ± 4,81664 [^]	10 ± 2,82843 ^{^#}

Keterangan :

- [^] : terdapat perbedaan signifikan dengan tanpa perlakuan
^{*} : terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol negatif
[#] : terdapat perbedaan signifikan dengan kontrol positif
 FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat
 FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

4.1.5.1. Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Tabel 4. 4 Hasil Uji Normalitas *Shapiro Wilk* data Selisih Penurunan Berat badan sebelum dan setelah perlakuan uji aktivitas antidiare

Kelompok	Signifikansi	Keterangan*
Tanpa perlakuan	0,427	Normal
Kontrol negatif	0,314	Normal
Kontrol Positif	0,223	Normal
FLEA	0,685	Normal
FTLEA	0,666	Normal

Keterangan : * Data Normal Jika nilai signifikansi (p) > 0,05

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

Tabel 4. 5 Hasil Uji Homogenitas *Levene Test* Data Selisih Penurunan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Uji Aktivitas Antidiare

Selisih Penurunan BB	Signifikansi	Keterangan
Based on Mean	0,934	Homogen

Keterangan :

*Data Homogen jika nilai signifikansi (p) > 0,05

Data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan uji *one way ANOVA*.

Tabel 4. 6 Hasil Uji *One way ANOVA* Data Selisih Penurunan Berat Badan Sebelum dan Sesudah Perlakuan Uji Aktivitas Antidiare

Selisih Penurunan Berat Badan	Signifikansi
<i>Between groups</i>	0,007

Keterangan : Data (p) <0.05 berbeda secara signifikan

Berdasarkan uji One Way ANOVA dapat diketahui bahwa signifikansi adalah 0.007. keputusan yang diambil adalah menolak H_0 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Perbedaan selisih penurunan berat badan pada setiap kontrol dilanjutkan dengan analisis pos hoc yang tersaji pada **Tabel 4. 7.**

Tabel 4. 7 Hasil Uji Analisis *Pos Hoc* Antar Kelompok Pada Selisih Penurunan Berat Badan Tikus

Kelompok	Tanpa Perlakuan	Kontrol negatif	Kontrol Positif	FLEA	FTLEA
Tanpa Perlakuan	-	0,000*	0,100	0,063	0,018*
Kontrol Negatif	0,000*	-	0,018*	0,030*	0,100
Kontrol Positif	0,100	0,018*	-	0,808	0,398
FLEA	0,063	0,030*	0,808	-	0,545
FTLEA	0,018*	0,100	0,398	0,545	-

Keterangan: * terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok (p<0.05)

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

4.1.5.2. Jumlah Berat Feses Yang Keluar

Tabel 4. 8 Hasil Uji Normalitas *shapiro wilk* data jumlah berat feses yang keluar uji aktivitas antidiare

Kelompok	Signifikansi	Keterangan*
Tanpa Perlakuan	0,217	Normal
Kontrol Negatif	0,611	Normal
Kontrol Positif	0,678	Normal
FLEA	0,786	Normal
FTLEA	0,186	Normal

Keterangan : * Data Normal Jika nilai signifikasi (p) > 0,05

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

Tabel 4. 9 Uji Homogenitas *Levene Test* Data Jumlah Berat Feses Yang Keluar

Jumlah Berat Feses Yang keluar	Signifikansi	Keterangan
<i>Based on Mean</i>	0,956	Homogen

Keterangan :

*Data Homogen jika nilai signifikansi (p) > 0,05

Data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan uji *one way ANOVA*.

Tabel 4. 10 Uji *One Way ANOVA* Data Jumlah Berat Badan Feses Yang Keluar

Jumlah Berat Feses Yang Keluar	Signifikansi
<i>Between groups</i>	0,026

Keterangan : Data (p) <0,05 berbeda secara signifikan

Berdasarkan uji *One Way ANOVA* dapat diketahui bahwa signifikansi adalah 0.026. keputusan yang diambil adalah menolak H_0 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Perbedaan jumlah berat badan feses yang keluar pada setiap kontrol dilanjutkan dengan analisis *pos hoc* yang tersaji pada **Tabel 4. 11**.

Tabel 4. 11 Hasil Uji Analisis *Pos Hoc* antar kelompok pada jumlah berat Feses Yang Keluar

Kelompok	Tanpa Perlakuan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	FLEA	FTLEA
Tanpa Perlakuan	-	0,004*	0,289	0,273	0,016*
Kontrol Negatif	0,004*	-	0,038*	0,042*	0,502
Kontrol Positif	0,289	0,038*	-	0,971	0,141
FLEA	0,273	0,042*	0,971	-	0,15
FTLEA	0,016*	0,502	0,141	0,15	-

Keterangan: * terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok (p<0.05)

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

4.1.5.3. Konsistensi Feses

Tabel 4. 12 Uji *Kruskal - wallis* Data Konsistensi Feses

Konsistensi Feses	Signifikansi
<i>Asymptotic sig. (2-sided test)</i>	0,015

Keterangan : Data (p) <0,05 berbeda secara signifikan

Berdasarkan uji *One Way ANOVA* dapat diketahui bahwa signifikansi adalah 0.012. keputusan yang diambil adalah menolak H_0 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Perbedaan konsistensi feses pada setiap kontrol dilanjut dengan uji lanjutan *kruskal wallis one way ANOVA* untuk melihat perbedaan antar kelompok yang tersaji pada Tabel 4. 13.

Tabel 4. 13 Hasil Uji lanjutan *kruskal wallis one way ANOVA* uji aktivitas antidiare

Kelompok	Tanpa Perlakuan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	FLEA	FTLEA
Tanpa Perlakuan	-	0,001*	0,111	0,041*	0,013*
Kontrol Negatif	0,001*	-	0,081	0,197	0,401
Kontrol Positif	0,111	0,081	-	0,651	0,366
FLEA	0,041*	0,197	0,651	-	0,651
FTLEA	0,013*	0,401	0,366	0,651	-

Keterangan: * terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok (p<0,05)

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLAEE : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

4.1.5.4. Frekuensi BAB

Tabel 4. 14 Hasil Uji Normalitas *shapiro wilk* data Frekuensi BAB uji aktivitas antidiare

Kelompok	Signifikansi	Keterangan*
Tanpa Perlakuan	0,119	Normal
Kontrol Negatif	0,833	Normal
Kontrol Positif	0,49	Normal
FLEA	0,421	Normal
FTLEA	0,174	Normal

Keterangan : * Data Normal Jika nilai signifikansi (p) > 0,05

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

Tabel 4. 15 Uji Homogenitas *Levene Test* Data Frekuensi BAB

Frekuensi BAB	Signifikansi	Keterangan
<i>Based on Mean</i>	0,065	Homogen

Keterangan :

*Data Homogen jika nilai signifikansi (p) > 0,05

Data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan uji *one way ANOVA*.

Tabel 4. 16 Uji *One Way ANOVA* Data Frekuensi BAB

Frekuensi BAB	Signifikansi
<i>Between groups</i>	0,000

Keterangan : Data (p) < 0.05 berbeda secara signifikan

Berdasarkan uji *One Way ANOVA* dapat diketahui bahwa signifikansi adalah 0.001. keputusan yang diambil adalah menolak H_0 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Perbedaan konsistensi feses pada setiap kontrol dilanjutkan dengan analisis *pos hoc* yang tersaji pada Tabel 4. 17.

Tabel 4. 17 Hasil Uji Analisis *Pos Hoc* antar kelompok pada frekuensi BAB uji aktivitas antidiare

Kelompok	Tanpa Perlakuan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	FLEA	FTLEA
Tanpa Perlakuan	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Kontrol Negatif	0,000*	-	0,001*	0,022*	0,138
Kontrol Positif	0,000*	0,001*	-	0,138	0,022*
FLEA	0,000*	0,022*	0,138	-	0,364
FTLEA	0,000*	0,138	0,022*	0,364	-

Keterangan: * terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0.05$)

FLEA : Fraksi Larut Etil Asetat

FTLEA : Fraksi Tidak Larut Etil Asetat

4. 2. Pembahasan

Determinasi tanaman buah lada hitam berguna untuk membuktikan kebenaran jenis tanaman dan mengantisipasi terjadinya kesalahan dalam

mengumpulan bahan yang digunakan, sebab dalam pemanfaatannya setiap tanaman memiliki berbagai varietas sehingga tanaman harus dilakukan determinasi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa benar tanaman buah lada hitam termasuk kedalam familia *Piperaceae* dengan spesies *Piper nigrum* L. (Oktafiani *et al.*, 2020).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian kali ini yaitu metode maserasi. Penggunaan metode maserasi digunakan karena tanaman yang akan di ekstraksi tidak harus serbuk halus, lebih sedikit kehilangan pelarut, lebih sederhana dibandingkan metode yang lain, biaya operasionalnya relatif murah, dan tidak memerlukan keahlian khusus (Endarini, 2016). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 60% karena dari penelitian sebelumnya etanol 60% menghasilkan nilai rendeman lebih banyak dibandingkan pelarut etanol lainnya (Hikmawanti *et al.*, 2016).

Metode yang digunakan dalam fraksinasi adalah fraksinasi cair – cair, fraksinasi cair – cair digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran (Uthia *et al.*, 2017). Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi yaitu etil asetat yang bersifat semi polar untuk menarik senyawa semi polar piperin yang terdapat di ekstrak etanolik buah lada hitam (Hikmawanti *et al.*, 2016).

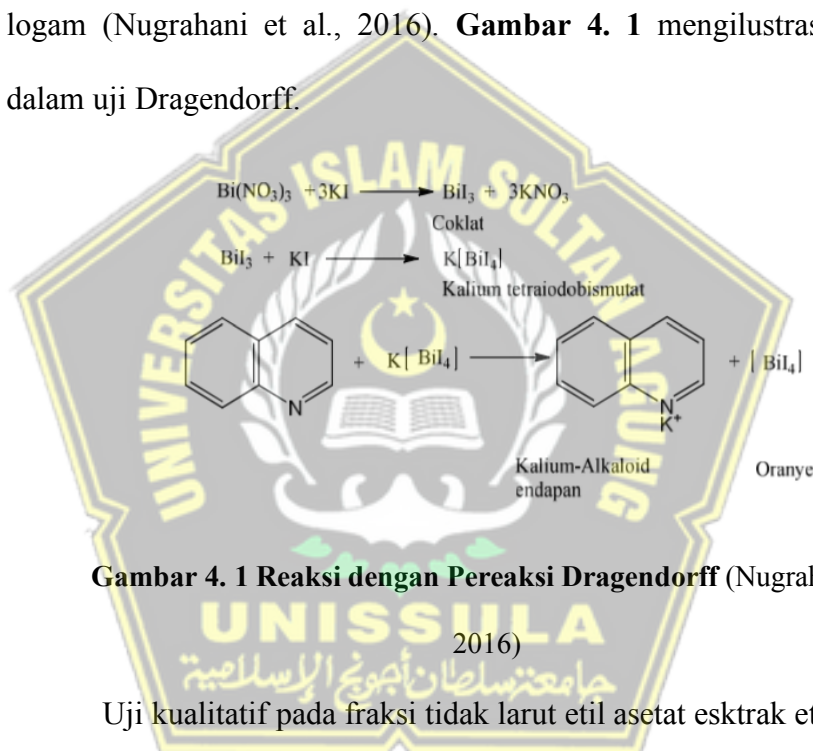
Ekstrak dan fraksi kental yang didapatkan lalu dilakukan uji kadar air dengan batas kadar air dalam ekstrak dan fraksi yaitu $< 10\%$ agar keadaan ekstrak dan fraksi lebih stabil (Depkes RI, 2017), jika kadar air $> 10\%$

akan menurunkan kestabilan ekstrak dan menyebabkan pertumbuhan mikroba pada ekstrak dan fraksi (Utami et al., 2017). Hasil dari uji kadar air simplisia buah lada hitam yaitu 8,05%, kadar air ekstrak kental buah lada hitam yaitu 7,87%, kadar air fraksi larut etil asetat ekstrak kental buah lada hitam yaitu 4,77%, dan kadar air fraksi tidak larut etil asetat ekstrak kental buah lada hitam yaitu 4,08%, dimana hasil tersebut sudah sesuai parameter rentang kadar air <10% yang ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia (Depkes RI, 2017).

Hasil rendemen ekstrak etanolik buah lada hitam diperoleh sebesar 11,51%, fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam diperoleh sebesar 14,83%, dan fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam diperoleh sebesar 66,59%. Hasil rendemen ekstrak etanolik buah lada hitam tersebut telah memenuhi syarat nilai rendemen ekstrak buah lada hitam yang terdapat di Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak kurang dari 11,3%. Proses ekstraksi yang dilakukan secara berulang dengan jumlah pelarut yang konstan akan mempengaruhi nilai rendemen. Dengan melakukan ekstraksi berulang, komponen atau senyawa kimia dalam sampel akan terisolasi dengan baik. Selain itu, suhu ekstraksi yang lebih tinggi juga dapat mempengaruhi rendemen, dimana suhu yang lebih tinggi akan meningkatkan gerakan molekul, serta sirkulasi pelarut yang lebih baik (Wijaya et al., 2018).

Uji kualitatif yang dilakukan pada fraksi larut ekstrak etanolik buah lada hitam menunjukkan adanya senyawa alkaloid yang ditandai dengan

adanya endapan warna coklat setelah direaksikan dengan kloroform, ammonia, HCl 2N, dan reagen Dragendorff. Hasil positif pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat muda hingga kuning jingga. Endapan ini mengindikasikan adanya alkaloid kalium, dimana nitrogen dari alkaloid bereaksi dengan reagen Dragendorff membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ , yang merupakan ion logam (Nugrahani et al., 2016). **Gambar 4. 1** mengilustrasikan reaksi dalam uji Dragendorff.



Gambar 4. 1 Reaksi dengan Pereaksi Dragendorff (Nugrahani et al., 2016)

Uji kualitatif pada fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya adanya reaksi setelah pemberian HCl pekat dan magnesium, dengan terjadinya perubahan warna menjadi jingga dan muncul buih. Alasan senyawa flavonoid tidak tertarik ke fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam yaitu karena senyawa flavonoid memiliki sifat polar, sedangkan pelarut etil asetat berguna untuk menarik senyawa semi polar (Kemit et al., 2014)

Uji kuantitatif yang dilakukan pada fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam menggunakan metode KLT – Densitometri. Fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam setelah dilakukan analisis mengandung senyawa piperin sebesar 53,71 %, sedangkan fraksi tidak larut etil asetat tidak menunjukkan senyawa piperin. kadar piperin untuk ekstrak buah lada hitam menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi II yaitu 48,6 % (Depkes RI, 2017) sehingga kadar piperin dalam fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam sudah sesuai.

Pengujian aktivitas antidiare dilakukan menggunakan hewan uji berupa tikus putih galur wistar jantan. Alasan digunakannya tikus jantan adalah karena tikus jantan tidak mempunyai siklus hormonal seperti tikus betina, lebih stabil dan konsisten dalam respons terhadap perlakuan, sehingga hasil yang didapat bisa lebih akurat dan dapat diandalkan. Selain itu, tikus jantan juga memiliki sistem reproduksi yang lebih sederhana dibandingkan tikus betina (Jalung et al., 2023).

Penentuan aktivitas antidiare dari fraksi larut dan tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam dilakukan dengan mengamati berat badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan, jumlah berat feses yang keluar, konsistensi feses, dan frekuensi BAB. Diare pada tikus ditandai dengan frekuensi buang air besar lebih sering dan konsistensi feses yang cenderung lebih lembek atau cair (Manek et al., 2020). Hal ini diperjelas dengan definisi diare adalah penyakit yang ditandai dengan perubahan

bentuk tinja dengan buang air besar yang berlebihan (lebih dari tiga kali sehari) (Prawati & Haqi, 2019).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi *oleum ricini* menyebabkan hewan uji mengalami diare karena setelah pemberian *oleum ricini* terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol sehat dengan kontrol negatif yang ditunjukkan pada **Tabel 4. 3.** dimana nilai rata – rata pada setiap parameter pada kontrol negatif lebih besar dibandingkan dengan kontrol sehat. Hal ini disebabkan karena *Oleum ricini* termasuk kedalam golongan pencabar rangsang karena merangsang otot polos usus sehingga meningkatkan peristaltik dan sekresi lendir usus. Selain itu, *Oleum ricini* juga bersifat *emolient* yaitu dapat melunakkan feses dan memudahkan pengeluarannya (Purwatinigrum, 2014). Oleh karena itu, *oleum ricini* dapat menyebabkan diare pada tikus putih galur wistar jantan.

Pengujian antidiare fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam dengan dosis 300 mg/kgBB tikus dilakukan dengan menginduksi *oleum ricini* dengan dosis 3 mL/200gBB tikus secara oral, kemudian tikus didiamkan selama 30 menit - 1 jam, dengan estimasi bahwa dalam 30 menit – 1 jam *oleum ricini* telah bekerja dalam tubuh tikus (Ambari, 2018).

Hasil pengujian aktivitas antidiare pada tikus. Parameter selisih penurunan berat badan, jumlah feses yang keluar dan frekuensi BAB fraksi larut etil asetat memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif, dan tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif, namun pada

konsistensi feses tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol positif dan negatif. Hal ini disebabkan karena kandungan yang terdapat pada larutan fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam yaitu alkaloid piperin. Senyawa Piperin memiliki gugus fungsi piperidin dengan nama IUPAC yaitu *1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl] piperidine* (Hikmawanti et al., 2016) yang mana pada penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa piperin dapat digunakan sebagai antidiare dengan mekanisme dapat menginduksi kontraksi otot polos usus melalui stimulasi kolinergik dan menghambat kontraksi spontan otot polos. Piperin juga bertanggung jawab atas efek penghambatan pada sekresi Cl⁻ usus yang diinduksi cAMP sehingga piperin dapat mengurangi akumulasi cairan usus, sehingga dapat memperkuat potensi penggunaan piperin dalam pengobatan diare (Pongkorpsakol et al., 2015).

Keterbatasan penelitian ini adalah senyawa yang terkandung pada fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam masih terdapat senyawa selain alkaloid piperin. Sehingga disarankan untuk penelitian selanjutnya dilakukan isolasi atau pemurnian senyawa piperin yang terdapat di fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam.

BAB V

PENUTUP

5. 1. Kesimpulan

- 5.1.1. Fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam memiliki aktivitas antidiare pada tikus putih jantan galur wistar berdasarkan parameter selisih penurunan berat badan tikus, jumlah berat feses yang keluar, dan frekuensi BAB.
- 5.1.2. Fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam memiliki aktivitas antidiare pada tikus putih galur wistar jantan berdasarkan parameter selisih penurunan berat badan tikus dan jumlah berat feses yang keluar, tetapi tidak memiliki aktivitas antidiare berdasarkan parameter frekuensi BAB.
- 5.1.3. Parameter konsistensi feses tidak dapat dijadikan penentuan aktivitas antidiare karena hasil kontrol positif tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

5. 2. Saran

Perlu dilakukan isolasi dan pemurnian senyawa piperin pada fraksi larut etil asetat ekstrak etanolik buah lada hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambari, Y. (2018). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan Galur Balb-C. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 1(1).
- Amin, L. Z. (2015). *Tatalaksana Diare Akut* (Vol. 42, Issue 7).
- Anbhuselvam, V. L., Karyana, I. P. G., & Purniti, N. P. S. (2019). Implementasi lintas diare dan penggunaan obat antidiare pada anak dengan diare. *Intisari Sains Medis*, 10(3). <https://doi.org/10.15562/ism.v10i3.488>
- Andiarsa, D., Setianingsih, I., & Sulasmi, S. (2017). Kebijakan Pengendalian Diare Berdasarkan Analisis Spasial Faktor Penyebab Diare di Kabupaten Tanah Bumbu. *Jurnal Kebijakan Pembangunan*, 12(1), 9–21.
- Andika, choestrina, R., & Lestari, F. (2020). *Pola Swamedikasi Obat Diare Pada Mahasiswa Universitas Islam Bandung*. 28–39.
- Arief, R. W., Mustikawati, D. R., & Asnawi, R. (2020). *Karakteristik Mutu Lada Hitam dan Lada Putih dari Beberapa Kabupaten Sentra Lada di Lampung*. 4(1), 111.
- Boangmanalu, R. K., & Zuhrotun, A. (2018). Potensi Khasiat Obat Tanaman Marga Piper : Piper nigrum L., Piper Retrofractum Vahl., Piper betle Linn., Piper cubeba L. dan Piper crocatum Ruiz & Pav. *Farmaka*, 16(3), 204–212.
- BPOM RI. (2016). *SV.01.05.343.3.07.16.3607*.
- Dean, J. R. (2022). *Extraction Techniques for Environmental Analysis*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119719069.fmatter>

- Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017*.
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognosi dan Fitokimia*. Penerbit Pusdik SDM Kesehatan: Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Fauzi, R., Fatmawati, A., & Emelda. (2020). Efek Anti diare Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 2020(1), 35–39. <http://.pji.ub.ac.id>
- Febriyanti, A. P., & Iswarin, S. J. (2018). Penetapan Kadar Piperin Dalam Ekstrak Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* Linn.) Menggunakan Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). In *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa* (Vol. 1, Issue 2).
- Hakam, M. A., Rijanto, N. E., Rianasmi, P. I., Suhito, H. P., & Nugraheni, T. (2021). *Profil Kesehatan Kota Semarang 2020*. www.dinkes.semarangkota.go.id
- Hamilton, K. L., & Devor, D. C. (2020). *Ion Transport Across Epithelial Tissues and Disease (Ion Channels and Transporters of Epithelia in Health and Disease - Vol. 2) Second Edition* (Vol. 2). Springer.
- Handayani, P. A., & Nurcahyanti, H. (2015). Ekstraksi Minyak Atsiri Daun Zodia (*Evodia Suaveolens*) Dengan Metode Maserasi dan Distilasi Air. *JBAT*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i1.3095>
- Hikmawanti, N. P. E., Aulia, C., & Viransa, V. P. (2016). *Kandungan Piperin Dalam Ekstrak Buah Lada Hitam dan Buah Lada Putih (Piper nigrum L.)*

Yang Diekstraksi dengan Variasi Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode KLT-Densitometri (Vol. 13, Issue 2).

Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.

Izza, A. R. F., Tambunan, F. M. A., & Maulina, D. (2023). Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Buah Lada Putih (*Piperis albi fructus*). In *Indonesian Journal of Health Science* (Vol. 3, Issue 1).

Jalung, F., Rindayani, M. F., & Christiani, M. (2023). Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Spina Christi L*) terhadap Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(4), 1654–1657.

Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2012). *Farmakologi Dasar & Klinik* (12th ed.). Mc Graw Hill Medical.
<http://www.usdoj.gov/dea/pubs/scheduling.html>

Kemenkes RI. (2023). *LAPORAN KINERJA 2022*.

Kemit, N., Rai Widarta, W., & Nocianitri, K. A. (2014). *Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (Persea Americana Mill)*.

Khanifah, F., Puspitasari, E., & Awwaludin, S. (2021). Uji Kualitatif Flavonoid, Alkaloid, Tanin Pada Kombinasi Kunyit (*Curcuma longa*) dan Coklat (*Theobroma cacao L*). *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 15(1), 1.
<https://doi.org/10.20527/jstk.v15i1.8617>

- Kotloff, K. L. (2017). The Burden and Etiology of Diarrheal Illness in Developing Countries. In *Pediatric Clinics of North America* (Vol. 64, Issue 4, pp. 799–814). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2017.03.006>
- Kusnanto, C. A., Gani, A. P., Wahyuono, S., & Fakhrudin, N. (2021). *Optimasi Penggunaan High Shear Mixer pada Pembuatan Fraksi Alkaloid dari Daun Awar-awar (Ficus septica) dengan Desain Faktorial*. <https://doi.org/10.2>
- Manek, M. S., Klau, M. E., & Beama, C. A. (2020). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Oleum Ricini. *CHMK Pharmaceutical Scientific Journal*, 3(2).
- Manohara, D., Wahyuno, D., & Rivai, A. (2013). *Teknologi Unggulan Lada Budidaya dan Pascapanen Pendukung Varietas Unggul* (2nd ed.). Penerbit Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Muti'ah, R., Hayati, K., & Triastutik, Y. (2013). Pemisahan dan identifikasi ekstrak kasar Sesquiterpen Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Dengan Kromatografi Lapis Tipis. In *ALCHEMY* (Vol. 2, Issue 3).
- Nisa, S. A., Finansah, Y. W., Marlina, U., & Rochman, S. (2021). Differences Characteristics of Partial Bowel Obstruction and Total Bowel Obstruction in Ileus Patients at Dr. Soegiri Lamongan Hospital. *Magna Medica Berkala Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 8(1), 29. <https://doi.org/10.26714/magnamed.8.1.2021.29-34>
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal*

Penelitian Pendidikan IPA, 2(1), 96–103.

<http://jurnal.unram.ac.id/index.php/jpp-ipa>

Nuraini, Safrida, & Hasanuddin. (2021). Pemanfaatan Tumbuhan Tradisional Sebagai Obat Diare Pada Masyarakat Kecamatan Terangun Kabupaten Gayo Lues. In *Jurnal Jeumpa* (Vol. 8, Issue 1).

Oktafiani, R., Retnoningsih, A., & Widiatningrum, T. (2020). *E-Book Interaktif Tumbuhan Berbiji Dengan Pendekatan Sainifik dan Kontekstual* (1st ed.). Unnes Press.

Pongkorpsakol, P., Wongkrasant, P., Kumpun, S., Chatsudthipong, V., & Muanprasat, C. (2015). Inhibition of intestinal chloride secretion by piperine as a cellular basis for the anti-secretory effect of black peppers. *Pharmacological Research*, 100, 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.012>

Prawati, D. D., & Haqi, D. N. (2019). Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Diare Di Tambak Sari, Kota Surabaya. *Jurnal Promkes*, 7(1), 35–46. <https://doi.org/10.20473/jpk.V7.I1.2019.35-46>

Prayudo, A. N., & Novian, O. (2015). Koefisien Transfer Massa Kurkumin Dari Temulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 14.

Purwatinigrum, H. (2014). Formulasi dan Uji Sifat Fisik Emulsi Minyak Jarak (*Oleum ricini*) Dengan Perbedaan Emulgator Derivat Selulosa. *Parapemikir Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1).

- Quijia, C. R., Araujo, V. H., & Chorilli, M. (2021). Piperine: Chemical, biological and nanotechnological applications. *Acta Pharmaceutica*, 71(2), 185–213. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0015>
- Rohmah, N., & Syahrul, F. (2017). Relationship Between Hand-washing Habit and Toilet Use with Diarrhea Incidence in Children Under Five Years. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 5(1), 95. <https://doi.org/10.20473/jbe.v5i12017.95-106>
- Rukmana, D., Wahyudi, A., & Nurhayati, H. (2015). *Sirkuler Informasi Teknologi Tanaman Rempah Dan Obat : Perbenihan Dan Budidaya Lada Perdu*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. www.litbang.deptan.go.id
- Sari, D. R. A. P., Yustiantara, P. S., Paramita, N. L. P. V., & Wirasuta, I. M. A. G. (2014). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (Piper nigrum L.) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes*.
- Sari, N. K., Lukito, A., & Astria, A. (2017). hubungan pengetahuan ibu tentang diare dengan kejadian diare pada anak 1 - 4 tahun di wilayah puskesmas pekan bahorok. *Ibnu Sina Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 25(4).
- Setiawan, C. H., & Sudharmono, U. (2019). *Identification of Public Transport Drivers' Self-medication in Parongpong District Bandung Barat District*.
- Shamkuwar, P. B., Jadhav, S. T., & Pelagia, P. (2012). Evaluasi Efek Antidiare Lada Hitam (Piper nigrum L.) 2 Sekolah Tinggi Farmasi Pemerintah, Jalan Vedant, Aurangabad (India). In *Jurnal Ilmu dan Penelitian Tumbuhan Asia* (Vol. 2, Issue 1). www.pelagiaresearchlibrary.com

- Simaremare, E. S. (2014). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (Laportea decumana (Roxb.) Wedd)*. 11(01).
- Siswanti, E., Marbun, R. A. T., Siska, F., Cornella Simanjuntak, C., & Akbar, K. (2022). Uji Efektivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Buah Rimbang (*Solanum torvum Swartz*) Terhadap Tikus Jantan. In *Jurnal Dunia Farmasi* (Vol. 6, Issue 2).
- Sogandi, S., & Gunarto, F. (2020). Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 12(1), 27–36. <https://doi.org/10.22435/asp.v12i1.1288>
- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. A. H. F. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes aegypti*. Penerbit Graniti. www.penerbitgraniti.com
- Suherman, L. P., Hermanto, F., & Luthfi Pramukti, M. (2013). *Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Mindi (Melia azedarach Linn) Pada Mencit Swiss Webster Jantan*. 1, 38–44.
- Sukmawati, I. K., Yulinah Sukandar, E., & Kurniati, N. F. (2017). *Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Suji (Dracaena angustifolia Roxb)*. 14.
- Tambunan, S., Asni, E., Malik, Z., & Ismawati. (2014). Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. In *Jom FK* (Vol. 2, Issue 1).
- Utami, Y. P., Halim Umar, A., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*

- Teisjm. & Binn.). In *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* (Vol. 2, Issue 1).
- Uthia, R., Arifin, H., & Efrianti, F. (2017). Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat Pada Mencit Putih Jantan. In *Jurnal Farmasi Higea* (Vol. 9, Issue 1).
- Wells, B. G., DiPiro, J. T., Schwinghammer, T. L., & DiPiro, C. V. (2015). *Pharmacotherapy Handbook: Ninth Edition*.
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.
- Wiradnyani, N. K., Wartini, N. M., & Admadi, B. (2014). *Komposisi Senyawa Penyusun Minuman Sinom (curcuma domestica val.-tamarindus indica l.)* (Vol. 1, Issue 1).
- Yuliani, N. N., Sambara, J., & Mau, M. A. (2016). *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) Dengan Metode DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)*.
- Zulkifli, Jangga, & Murianti, M. R. (2017). Uji Efek Antidiare Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.) Terhadap Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *The National Journal of Pharmacy* .