

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Daun Sirih Merah

#### 1. Sistematika tanaman

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonea
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav (Plantamor 2011)



**Gambar 1.** Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) (Sudewo 2005).

#### 2. Nama lain

Sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai beberapa variasi nama dari berbagai daerah di Indonesia, Sedah (Jawa), Sereuh (Sunda), Ranuh (Aceh), Cambal (Lampung), Base (Bali), Gapura, Dontile, Gammjeng, Perigi (Sulawesi), Bida (Maluku), Mata (Flores), sedangkan di luar negeri juga dikenal dengan

beragam nama, Ornamental Pepper ( Inggris), Guan Shang Hu Jiao (Cina) (Mardiana 2004).

### **3. Monografi tanaman**

Tanaman sirih merah tumbuh merambat tingginya dapat mencapai 10 meter, tumbuh ditempat sejuk dengan sinar matahari 60-75% atau tempat teduh. Berbatang bulat warna hijau keunguan, bersulur, dan beruas dengan jarak 5-10 cm. Daun tunggal, bertangkai membentuk jantung dan bagian atas meruncing, bertepi rata, permukaan mengkilap dan tidak berbulu. Warna daun bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daun berlendir, rasa sangat pahit, bau khas sirih. Daun sirih dilindungi oleh daun pelindung yang berbentuk bulat panjang dengan diameter 1 mm. Bulir jantan panjang sekitar 1,5 – 3 cm dan memiliki dua benang sari yang pendek. Sementara itu, bulir betina panjangnya sekitar 1,5-6 cm, memiliki dua kepala putik dan berwarna hijau kekuningan. Berakar tunggang dan berwarna coklat kotor (Sudewo 2010; Syariefa 2006; Sholikhah 2006; Rini *et al.* 2003).

### **4. Bagian tanaman yang digunakan**

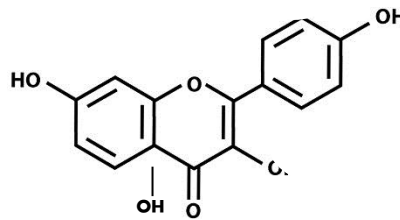
Seluruh bagian tanaman sirih merah dapat digunakan sebagai tanaman obat karena mengandung unsur-unsur zat kimia yang bermanfaat bagi pengobatan, namun bagian tanaman sirih merah yang paling banyak digunakan sebagai obat adalah daunnya (Syariefa 2006).

### **5. Kandungan kimia**

Dari hasil kromatografi diketahui daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia yaitu minyak atsiri, tanin, senyawa polifenol, dan flavonoid (Sudewo 2010). Reni (2017) menyatakan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung steroid. Sholikhah (2006) kandungan kimia daun sirih merah, yaitu alkaloid, minyak atsiri, tanin, flavonoid dan saponin. Kandungan kimia lainnya seperti hidroksikavikol, karvakrol, kavikol, kavibetol, kariofilen, kadimen estragol, eugenol, p-simen, fenil propanoid, sineol terpenena (Deptan 2007).

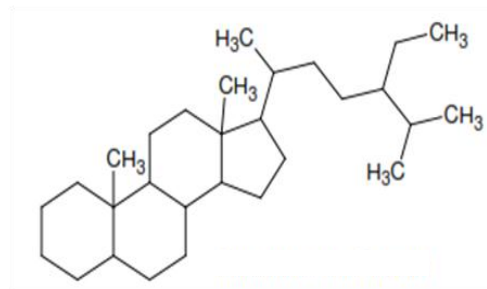
**5.1 Flavonoid.** Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene A dan B (C<sub>6</sub>) terikat pada suatu rantai propana C (C<sub>3</sub>) sehingga membentuk suatu susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Susunan Struktur

flavonoid menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid atau 1,3- diarilpropan, isoflavonoid atau 1,2-diarilpropan dan neoflavonoid atau 1,1-diarilpropan (Pourmourad *et al.* 2006). Berada dalam bentuk glikosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas disebut aglikon (Abdi 2010).



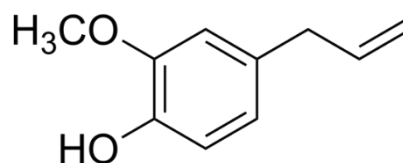
Gambar 2. Struktur flavonoid (Markham 1988).

**5.2 Steroid.** Steroid yang terdapat di jaringan hewan berasal dari triterpenoid lanosterol sedangkan yang terdapat dalam jaringan tumbuhan berasal dari triterpenoid sikloartenol (Lenny 20s06). Steroid adalah triterpenoid dimana kerangka dasarnya terdiri dari sistem cincin siklopentana perhidrofenantren. Steroid umumnya terdapat dalam bentuk bebas dan sebagai glikosida sederhana. Steroid banyak terdapat dalam jaringan tumbuhan tingkat tinggi maupun rendah (Arifuddin 2013 ).



Gambar 3. Struktur steroid

**5.3 Minyak atsiri.** Minyak atsiri terdiri dari beberapa senyawa fenolat. Senyawa dalam sirih merah adalah katekol, karvakrol, karvibetol, kavikol, sineol, estragol, eugenol dan metil eugenol (Dewi 2008). kadar senyawa aktif yang paling tinggi dalam ekstrak etanolik sirih merah adalah eugenol (Shinta *et al.* 2015).



Gambar 4. Struktur eugenol (Kamatou *et al.* 2012).

**5.4 Alkaloid.** Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran. Alkaloid merupakan golongan senyawa basa nitrogen heterosiklik yang banyak terdapat pada tumbuhan. Sebagian alkaloid terdapat dalam bentuk basa bebas sukar larut air, larut dalam pelarut organik seperti kloroform, eter dan benzena (Wibisana 2010).

**5.5 Tanin.** Tanin merupakan senyawa makromolekul dari golongan polifenol yang bersifat polar (Fegel dan Wegener 1995). Pengelompokan tanin berdasarkan tipe struktur dan aktivitasnya yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biologis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal atau galokatekin yang membentuk senyawa dimer dan oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon menghubungkan satuan flavolan dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8, kebanyakan flavon mempunyai 2-20 satuan flavon (Harborne 1987). Tanin terhidrolisis merupakan turunan dari asam galat (asam 3,4,5- trihidroksil benzoat). Tanin terhidrolisis terbagi dalam dua kelas besar yaitu gallotanin dan ellagitanin (Hagerman *et al.* 1992)

## **6. Kegunaan tanaman**

Sirih merah memiliki banyak khasiat diantaranya antidiabetes, antihipertensi, leukemia, hepatitis, TBC, maag akut, batu ginjal, ambeien, asam urat, radang prostat, serangan jantung (Sudewo 2005). Kandungan senyawa sirih merah antara lain flavonoid dan polifenol berfungsi sebagai antioksidan, antidiabetes, antiseptik, antiinflamasi, anti kanker. Senyawa eugenol sebagai analgesik, tanin berfungsi sebagai penyembuh sakit pada diare dan antiseptik pada luka (Nurmalina dan Valley 2012).

## **7. Kandungan tanaman sebagai analgesik**

Senyawa flavonoid menunjukkan lebih dari 100 bioaktivitas seperti diuretik, antiinflamasi, antidiabetes, anti konvulsan dan lain-lain (Wilmana 2007). Beberapa flavonoid menghambat fosfodiesterase sedangkan flavonoid lain menghambat aldoreduktase, monoaminoksidase, protein, kinase, DNA polimerase, lipoksigenase dan siklooksigenase. Penghambatan enzim

siklooksigenase dapat memberikan pengaruh yang lebih luas karena reaksi siklooksigenase merupakan langkah awal pada jalur yang menuju hormon eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan (Middleton *et al.* 2000).

Senyawa aktif minyak atsiri yang berfungsi sebagai analgesik adalah eugenol (kamatou *et al.* 2012). Mekanisme sebagai analgesik dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase sehingga sintesis prostaglandin sebagai salah satu mediator nyeri dapat terhambat (Puspitasari *et al.* 2003).

Senyawa steroid juga dicurigai dapat memberikan efek analgesik walaupun mekanisme kerjanya belum jelas. Dimana hal tersebut berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antiinflamasi yaitu dengan menghambat produksi berbagai mediator peradangan. Adanya aktivitas antiinflamasi dapat menurunkan produksi berbagai mediator inflamasi serta dapat memperkuat dan mempertahankan persepsi nyeri (Grover *et al.* 2007).

## **B. Nyeri**

### **1. Definisi nyeri**

Menurut *The International Association for the Study of Pain* (IASP) yang dikutip oleh WHO (2012) mendefinisikan nyeri sebagai perasaan yang tidak menyenangkan dan pengalaman emosional yang ditandai dengan potensi kerusakan jaringan yang digambarkan pada keadaan seperti rusak. Nyeri dapat terjadi karena adanya rangsangan pada reseptor nyeri (nocireseptor) baik secara mekanis, kimiawi, atau termal. Setiap jaringan memiliki reseptor nyeri terutama pada kulit (Wijoartmojo 2000; Sherwood 2001). Nyeri merupakan manifestasi klinis yang umum dari berbagai penyakit dan potensi menurunkan kualitas hidup penderita.

Nyeri berdasarkan waktu diklasifikasikan menjadi nyeri akut dan nyeri kronis. Nyeri akut adalah nyeri yang berlangsung kurang dari 30 hari, sedangkan nyeri kronis dapat berlangsung lebih dari 3 bulan. Nyeri akut ditandai dengan onset segera setelah luka, intensitas berat namun durasinya pendek. Sedangkan nyeri kronis memiliki karakteristik kontinu dan bertahan melebihi waktu normal

penyembuhan. Nyeri kronis berawal dari nyeri akut yang terus menerus (McMahon 2013).

## **2. Mekanisme nyeri**

Proses terjadinya stimulasi yang kuat di perifer hingga dirasakan sebagai nyeri di susunan saraf pusat (korteks serebri) yang merupakan rangkaian proses elektro fisiologi yang disebut nosiseptin, menurut Nazaruddin (2002) mekanisme nyeri terdiri dari empat proses yaitu :

**2.1 Proses transduksi.** Proses dimana terjadinya stimulan kuat yang diubah menjadi impuls listrik yang akan diterima ujung-ujung saraf perifer atau organ-organ tubuh. Rangsangan tersebut dapat berupa rangsangan fisik, rangsang panas, rangsang kimia. Kerusakan jaringan akan melepaskan sejumlah substansi nyeri berupa ion  $K^+$ ,  $H^+$ , serotonin, bradikin, histamin dan prostaglandin. Substansi nyeri akan merangsang dilepaskannya substansi P dari ujung-ujung serabut saraf A-delta dan serabut C.

**2.2 Proses transmisi.** Proses ini merupakan penyaluran impuls melalui saraf sensoris sebagai lanjutan dari proses transduksi, melalui serabut A-delta dan C dari perifer ke medula spinalis. Sebelum diteruskan ke talamus oleh traktus spinothalamikus dan sebagian ke traktus spinoretikularis.

**2.3 Proses modulasi.** Proses terjadi interaksi antara sistem analgesik endogen dengan nyeri yang masuk ke cornus posterior medula spinalis. Analgesik endogen (enkefalin, serotonin, norepinefrine, GABA dan endofrin) dapat menekan impuls nyeri pada cornus posterior medulla spinalis dengan cara menghambat pelepasan substansi P.

**2.4 Persepsi.** Hasil akhir dari proses transduksi, transmisi dan modulasi yang menghasilkan perasaan subjektif yang dikenal dengan persepsi nyeri.

## **C. Analgesik**

Analgesia adalah keadaan dimana tidak ada rasa nyeri. Analgesik adalah obat yang mempunyai efek menghilangkan atau mengurangi nyeri tanpa menghilangkan kesadaran atau fungsi sensoris lainnya. Obat analgesik bekerja dengan meningkatkan ambang nyeri, mempengaruhi emosional yang dapat

berpengaruh pada persepsi nyeri, atau menimbulkan sedatif yang dapat menaikkan nilai ambang nyeri atau dapat pula mengubah persepsi modalitas nyeri. Pada umumnya penggolongan analgesik dapat dibagi dalam dua kategori yaitu analgesik golongan narkotik dan analgesik golongan non narkotika.

Analgesik narkotik adalah zat-zat dapat menghalangi rasa nyeri yang sangat kuat dan bekerja pada sistem saraf pusat (SSP). Umumnya analgesik sentral dapat mengurangi hingga menghilangkan kesadaran, mengakibatkan toleransi dan ketagihan, misalnya golongan morfin dan turunannya kodein, heroin, hidromorfin, hydrocodone, dan dionin (Mutschler 1991; Tjay dan Rahardja 2002). Morfin merupakan analgesik kuat yang bekerja secara sentral dengan meningkatkan nilai ambang nyeri, mempengaruhi emosi dan memberikan efek sedatif (Driessen *et al.* 2005).

Analgesik golongan non narkotika adalah analgesik lemah yang bekerja mempengaruhi sistem saraf tepi, dengan melalui mekanisme penghambatan enzim siklooksigenase. Enzim siklooksigenase berperan dalam mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin, sedangkan prostaglandin berperan dalam meningkatkan kepekaan reseptor nyeri. Bila terjadi penghambatan pada enzim siklooksigenase maka tingkat kepekaan reseptor nyeri dapat ditekan. Contoh dari analgesik non narkotik adalah paracetamol, aspirin, asetosal, asam mefenamat.

### **1. Tramadol**

Tramadol merupakan analgesik yang bekerja secara sentral, bersifat agonis opioid. Mekanisme kerja tramadol ialah berikatan dengan reseptor opioid yang ada di spinal dan otak sehingga menghambat transmisi sinyal nyeri dan perifer ke otak, dan meningkatkan aktivitas saraf penghambat monoaminergik yang berjalan dari otak ke spinal sehingga terjadi inhibisi transmisi sinyal nyeri (Ajartha 2007). Bioavailabilitas tramadol 70% sampai 90% pada pemberian oral. Dosis harian 200 mg hingga 400 mg memberikan efek seperti morfin, dosis lebih dari 400 mg memberikan efek candu atau ketagihan (Babalonis *et al.* 2013). Dosis hendaklah disesuaikan berdasarkan intensitas nyeri dan respons masing-masing pasien, dosis 50 mg sampai 100 mg empat kali sehari sebagai penghilang rasa nyeri yang memadai. Dosis pada anak 1 mg hingga 2 mg/kgbb (Setyarini 2009). Efek samping tramadol pusing, vertigo, sembelit, mual, muntah, lesu (Epstein *et al.*

2008). Selain itu penggunaan dalam jangka panjang dapat menyebabkan ketergantungan (Agrensa 2013).

## **2. Asam mefenamat**

Asam mefenamat merupakan obat dari golongan AINS (Anti inflamasi Non Steroid) turunan dari *N-phenylanthranili* (Alaa *et al.* 2015). Dosis asam mefenamat untuk dewasa ialah 2-3 kali 250-500 mg sehari. Asam mefenamat mencapai kadar puncak dalam plasma 2-4 jam setelah penggunaan dosis tunggal. Efek samping asam mefenamat pada saluran cerna sering timbul, seperti dispepsia, diare, sampai diare berdarah dan gejala iritasi lain terhadap mukosa lambung. Efek samping sering dilaporkan terjadi pada orang tua dengan keluhan diare hebat (Wilman dan Gan 2007).

## **D. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan berguna untuk tujuan pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Bila tidak dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60<sup>0</sup>C. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum mengalami proses pengeringan (Depkes RI 2008).

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, hewani dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan dari ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman berupa zat atau bahan nabati dengan cara dipisahkan atau diisolasi dari tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat yang dihasilkan dari hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia mineral merupakan simplisia yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004).

## **E. Metode Penyarian**

### **1. Definisi ekstrak dan ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai,



kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI 2000).

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode yang sesuai dengan sifat dan tujuan dari ekstraksi, proses ekstraksi dihentikan jika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani 2014).

## **2. Maserasi**

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang (kamar). Maserasi merupakan metode sederhana, cara ini sesuai dan baik untuk skala kecil maupun industri. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ini dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam tanaman. Setelah proses ekstraksi dilanjutkan dengan pemisahan pelarut dengan filtrat dengan penyaringan. Metode maserasi dapat mencegah rusaknya senyawa-senyawa yang termolabil (Mukhriani 2014).

Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI 2000).

## **3. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah metode pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan senyawa berdasarkan perbedaan polaritas dalam suatu tanaman. Pemisahan jumlah dan jenis menjadi fraksi yang berbeda, mulai dari ekstrak kental di fraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritas nya (Harborne 2006). Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang memiliki polaritas yang relatif sama. Prinsip kelarutan yang dipakai

adalah *like-dissolve-like* artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar begitu pula dengan senyawa semi polar dan non polar (Khopkar 2008).

#### 4. Pelarut

Pemilihan pelarut pada proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut golongan alkaloid merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi bahan alam, karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder. Salah satu pelarut alkohol yang digunakan pada proses maserasi adalah etanol (Lenny 2006). Pemilihan pelarut pada proses fraksinasi berdasarkan pada perbedaan polaritas yang bertujuan untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan polaritas pelarut.

**4.1 Air.** Air atau H<sub>2</sub>O digunakan sebagai pelarut karena mudah didapat, murah, tidak mudah menguap, tidak dapat terbakar, aman dan tidak beracun, air merupakan pelarut polar. Air dapat melarutkan garam, alkaloid, tanin, gula, pati, enzim, zat warna serta asam organik (Depkes 2005).

**4.2 Etanol.** Etanol atau alkohol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) merupakan cairan tidak berwarna dan larut dalam air, densitas 0,6 (0<sup>0</sup>C) titik leleh -169<sup>0</sup>C dan titik didih -102<sup>0</sup>C (Daintith 1994). Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intra seluler bahan tanaman. Etanol dapat melarutkan tanin, steroid, polifenol, flavonoid, terpenoid, alkaloid (Tiwari *et al.* 2011).

**4.3 n-heksana.** n-heksana (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>) merupakan pelarut petroleum yang mudah menguap, ikatan pada heksana bersifat tunggal dan kovalen sehingga tidak reaktif dan sering digunakan sebagai pelarut inert pada reaksi senyawa organik. n-heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar dan mudah menguap. Berat molekul 86,17 gram/mol dengan titik leleh -94,3 hingga -95,3<sup>0</sup>C (Daintith 1994). n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar, seperti golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak, asam lemak tinggi, sterol dan triterpenoid, karotenoid (Tiwari *et al.* 2011).

**4.4 Etil asetat.** Etil asetat (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>COOH) merupakan senyawa turunan steroid dengan berat molekul 72,08 gram/mol. Pelarut ini bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid, serta senyawa

golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

## 5. Kromatografi

Kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase, seperti bergerak secara berkesinambungan dengan arah tertentu, di dalamnya zat-zat tersebut menunjukkan perbedaan mobilitas yang disebabkan karena adanya perbedaan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Sehingga masing-masing zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan sebagai metode analitik (Depkes RI 2009). Pengujian secara kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat menggunakan kromatografi kolom.

Zat penjerap pada KLT merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorpsi, partisi atau kombinasi kedua efek, yang tergantung dari jenis pelarut yang digunakan. Identifikasi dapat diperoleh dari pengamatan bercak dengan  $R_f$  yang identik dan mempunyai ukuran yang hampir sama, caranya dengan menotolkan bahan uji dan pembanding pada lempeng (Depkes RI 2009).

Perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu terhadap jarak rambat fase gerak, diukur dari titik toloan sampai titik yang memberikan intensitas maksimum pada bercak noda, yang dinyatakan sebagai harga  $R_f$  dari suatu senyawa, harga  $R_f$  berjangka antara 0,00-1,00 dan hanya ditentukan dua desimal. Jika zat uji memiliki harga  $R_f$  yang sama dengan standar yang digunakan kemungkinan zat uji memiliki kandungan senyawa yang sama dengan standar.

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Penetapan bercak yang dihasilkan KLT dapat ditetapkan dengan pengamatan langsung, sinar ultraviolet 254 nm atau 366 nm, atau dengan

pengamatan sinar ultraviolet setelah disemprot dengan penampakan bercak (Depkes RI 2009).

## F. Metode Uji Analgesik

Metode *tail flick* yang dilaporkan oleh D'Amour dan Smith digunakan untuk uji efek analgesik non perifer (narkotik) (Turner 1965 ; Vogel 2002). Metode *Randall Selitto* dilakukan untuk menguji aktivitas analgesik perifer (non narkotik).

### 1. *Tail flick*

Pada pengujian dengan *tail flick*, hewan diberi induksi nyeri berupa panas pada suhu  $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Suhu di atas  $48^{\circ}\text{C}$  dapat menyebabkan rangsangan kuat pada reseptor nyeri sehingga menghasilkan sensasi nyeri yang hebat (Nair dan Peate 2015). Rasa nyeri diperlihatkan dalam respons gerakan menjentik atau menarik ekor secara tiba-tiba ketika ekor tikus di induksi oleh rangsangan termal. Waktu yang dibutuhkan oleh tikus untuk menjentikan ekor kemudian dicatat (Goyal *et al.* 2013). Waktu pencatatan 30, 60, 90, 120 menit.

Metode ini dilengkapi dengan alat bantu yaitu wadah tikus terbuat dari plastik, bertujuan agar hewan uji tidak mudah bergerak. Metode ini dilakukan dengan hati-hati dalam penggunaan alat bantu, tidak boleh sampai melukai hewan uji (Thompson 1990).

### 2. *Randall Selitto*

Metode ini dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan obat analgesik yang mempengaruhi ambang reaksi terhadap rangsangan tekanan mekanis pada jaringan inflamasi (Anseloni *et al.* 2003). Prinsip metode adalah inflamasi yang meningkatkan sensitivitas nyeri dan dapat dikurangi oleh suatu obat analgesik. Bahan kimia yang dapat digunakan untuk menghasilkan inflamasi seperti karagenan, asam asetat, *Brewer's yeast* (Parmar dan Prakash 2006). Pencatatan beban terhadap pengujian berupa (%) peningkatan hambat nyeri pada menit ke-30, 60, 120, 180 dan 240 menit.

## G. Tikus

### 1. Sistematika tikus putih

Tikus putih dalam sistematika hewan percobaan diklasifikasikan sebagai berikut (Sugiyanto 2010) :

Filum	: Chordota
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>

### 2. Teknik pengambilan dan pemegangan tikus

Cara penangkapan tikus yang baik dan aman ialah dengan memegang pada bagian pangkal ekor, letakkan di atas ram kawat, pegang tengkuk dengan cepat menggunakan ibu jari dan jari telunjuk dengan menggunakan satu tangan, pegang kaki tikus bersama dengan ekor menggunakan jari manis dan jari kelingking, kemudian pegang ekor tikus agar tikus tidak berbalik (Harmita dan Radji 2008).

### 3. Pemberian secara oral

Pemberian obat pada hewan uji akan dilakukan secara oral. Pemberian obat secara oral dengan jarum khusus nomor 20 dengan panjang lebih dari 5 cm untuk memasukkan senyawa langsung melalui esophagus. Dalam memasukkan jarum peneliti perlu hati-hati agar tidak melukai dinding esophagus hewan uji (Smith dan Mangkoewidjojo 1998).

## H. Landasan Teori

Nyeri adalah perasaan yang tidak menyenangkan dan pengalaman emosional yang ditandai dengan potensi kerusakan jaringan yang digambarkan pada keadaan seperti rusak, didefinisikan oleh *The International Association for the Study of Pain* (IASP) yang dikutip oleh WHO (2012).

Beragam jenis tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat baik sintesis maupun tradisional yang dapat mengurangi rasa nyeri. Analgesik sintesis banyak digunakan untuk mengurangi rasa nyeri oleh kebanyakan orang, mulai dari analgesik *perifer* hingga *non perifer* serta analgesik antiinflamasi non steroid (AINS) namun penggunaannya dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan. Efek samping yang dapat ditimbulkan seperti mual, muntah, gangguan gastrointestinal, hingga ketergantungan pada penggunaan analgesik *non perifer*.

Melihat efek samping yang dapat ditimbulkan dari penggunaan obat sintesis, masyarakat Indonesia lebih mempertimbangkan penggunaan obat tradisional. Salah satu tanaman obat yang dipercaya secara empiris dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) termasuk tanaman genus *Piper* dari family *Piperaceae*. Tanaman ini tumbuh ditempat sejuk atau tempat teduh.

Dari hasil kromatografi diketahui daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia yaitu minyak atsiri, tanin, senyawa polifenolat, dan flavonoid (Sudewo 2005). Reni (2017) menyatakan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung steroid. Dian *et al.* (2012) melaporkan bahwa dosis 7,28mg dan 14,56mg ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas analgesik. Ekstrak daun sirih merah pada dosis 7,28mg/20gbb dan 14,56mg/20gbb menunjukkan efektivitas analgesik setara dengan aspirin 1,3mg/20gbb.

Senyawa flavonoid memiliki khasiat sebagai analgesik dengan mekanisme kerja menghambat enzim siklooksigenase merupakan langkah awal terbentuknya prostaglandin dan tromboksan (Middleton *et al.* 2000). Minyak atsiri juga diharapkan dapat memberikan efek analgesik dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase sehingga sintesis prostaglandin sebagai salah satu mediator nyeri juga terhambat (Puspitasari *et al.* 2003). Senyawa steroid juga dicurigai dapat memberikan efek analgesik karena adanya aktivitas anti inflamasi yang dapat menurunkan produksi berbagai mediator inflamasi serta dapat memperkuat dan mempertahankan persepsi nyeri (Grover *et al.* 2007).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, air daun sirih merah. Senyawa aktif yang berperan sebagai

analgesik diperoleh dengan cara ekstraksi terlebih dahulu dengan metode maserasi. Metode maserasi ini dipilih karena dapat melarutkan senyawa aktif sebanyak mungkin dan tidak membutuhkan suhu tinggi sehingga tidak mempengaruhi senyawa yang terkandung dalam daun sirih merah, selain itu metode ini juga pengerjaan dan alatnya sangat sederhana. Penyarian simplisia dilakukan dengan merendam serbuk daun sirih merah dengan pelarut etanol 70% dalam temperatur kamar dengan beberapa kali pengadukan (Agoes 2007). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dengan metode maserasi adalah etanol 70%, dipilih karena aman, tidak beracun, absorpsi baik dan sulit ditumbuhi mikroba. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair untuk mendapatkan fraksi-fraksi yang mengandung senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya.

Metode pengujian yang digunakan adalah *tail flick* untuk mengetahui aktivitas analgesik *non perifer* dan *Randall Sellitto* untuk mengetahui aktivitas analgesik *perifer*. Prinsip metode *tail flick* dengan mencatat waktu yang dibutuhkan hewan uji untuk bertahan pada rangsangan termal (temperatur 50<sup>0</sup>C) pada ekor, respons yang diberikan berupa penjentikan atau penarikan ekor hewan uji secara tiba-tiba (Yusuf 2001). Waktu pencatatan 30, 60, 90, 120 menit. Sedangkan Prinsip metode *Randall Sellitto* adalah peningkatan ambang nyeri pada jaringan inflamasi yang diberikan tekanan peningkatan beban, tekanan dihentikan dan dibaca dalam gram sebagai ambang respons nyeri (Wordliczek *et al.* 2001). Pencatatan waktu terhadap pengujian berupa (%) peningkatan hambat nyeri yang diberi beban, waktu pencatatan 30,60, 120, 180 dan 240 menit.

## I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut hipotesis yang dapat disusun pada penelitian ini adalah :

Pertama, ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, air daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki aktivitas analgesik *non perifer* pada tikus putih dengan metode *tail flick*.

Kedua, ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana, etil asetat, air daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki aktivitas analgesik *perifer* pada tikus putih dengan metode *Randall Selitto*.

Ketiga, golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi aktif ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) adalah alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, steroid dan tanin.