

Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)

SKRIPSI



**PRIMADIAN HARMASTUTI
31190289**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA
2023**

Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**PRIMADIAN HARMASTUTI
31190289**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA
2023**

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Primadian Harmastuti
NIM : 31190289
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 26 Juni 2023

Yang menyatakan



(Primadian Harmastuti)
NIM. 31190289

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

POTENSI EKSTRAK ETANOL HERBA SAWI LANGIT (*CYANTHILLIUM CINEREUM* (L.) H. ROB.) SEBAGAI ANTIDIARE PADA MENCIT JANTAN (*MUS MUSCULUS*)

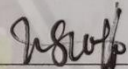
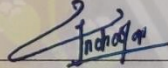
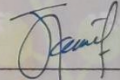
Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

PRIMADIAN HARMASTUTI
31190289

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 21 Juni 2023

Nama Dosen

Tanda Tangan

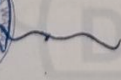
1. Dr. drh. Agustina Dwi Wijayanti, MP (Ketua Tim Penguji) : 
2. drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc. (Dosen Pembimbing I/Tim Penguji) : 
3. Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc. (Dosen Pembimbing II/Tim Penguji) : 

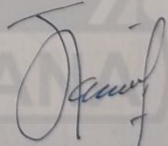
Yogyakarta, 21 Juni 2023
Disahkan Oleh:

Dekan,

Ketua Program Studi,




(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)


(Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.)

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit
(*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai
Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)
Nama Mahasiswa : Primadian Harmastuti
Nomor Induk Mahasiswa : 31190289
Hari/Tanggal Ujian : Rabu, 21 Juni 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



(drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc.)
NIK. 204E539



(Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.)
NIK. 214E556

Ketua Program Studi Biologi



(Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.)
NIK. 214E556

DUTA WACANA

LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Primadian Harmastuti

NIM : 31190289

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu

Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 21 Juni 2023



(Primadian Harmastuti)

NIM: 31190289

DUTA WACANA

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas rahmat Tuhan Yang Maha Esa sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi dengan judul **“Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)”** sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Selama proses penelitian hingga penulisan naskah skripsi ini, penulis menyadari bahwa dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikannya dengan baik dan lancar. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat, kekuatan, dan pendampingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi dengan baik dan lancar.
2. Ibu drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang memberikan kepercayaan, arahan, motivasi, nasihat, dan bantuan selama proses penelitian dan penulisan naskah skripsi.
3. Ibu Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc. selaku dosen pembimbing pendamping yang memberikan saran, arahan, motivasi, dan bantuan selama proses penelitian dan penulisan naskah skripsi.
4. Mbak Wida dan Bu Retno selaku laboran Laboratorium Bioteknologi Kesehatan yang telah membantu dan memberikan masukan selama proses penelitian skripsi.
5. Kak Ester dan Pak Hari selaku laboran Laboratorium Bioteknologi Industri yang telah membantu dan memberikan masukan selama proses penelitian skripsi.
6. Mama tercinta dan keluarga yang selalu mendoakan dan selalu memberikan dukungan.
7. *My Best Partner*, Stefanus Agung Prastopo yang selalu memberi semangat, menjadi pendengar yang baik, memberikan dukungan, dan bantuan selama penelitian skripsi.

8. Teman – teman terkasih, Siska Febby, Amel, Jasmine, Cindy, Nadya, Anjung, Albert, Niken, yang telah membantu, kebersamaan dan suka duka selama penelitian.
9. Kak Vero dan Kak Asep Angkatan 2018 yang membantu trial induksi, memberi nasihat, dan motivasi selama proses penelitian skripsi dan pengurusan *Ethical clearance*.
10. Pihak – pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang juga membantu penulis.

Yogyakarta, 21 Juni 2023

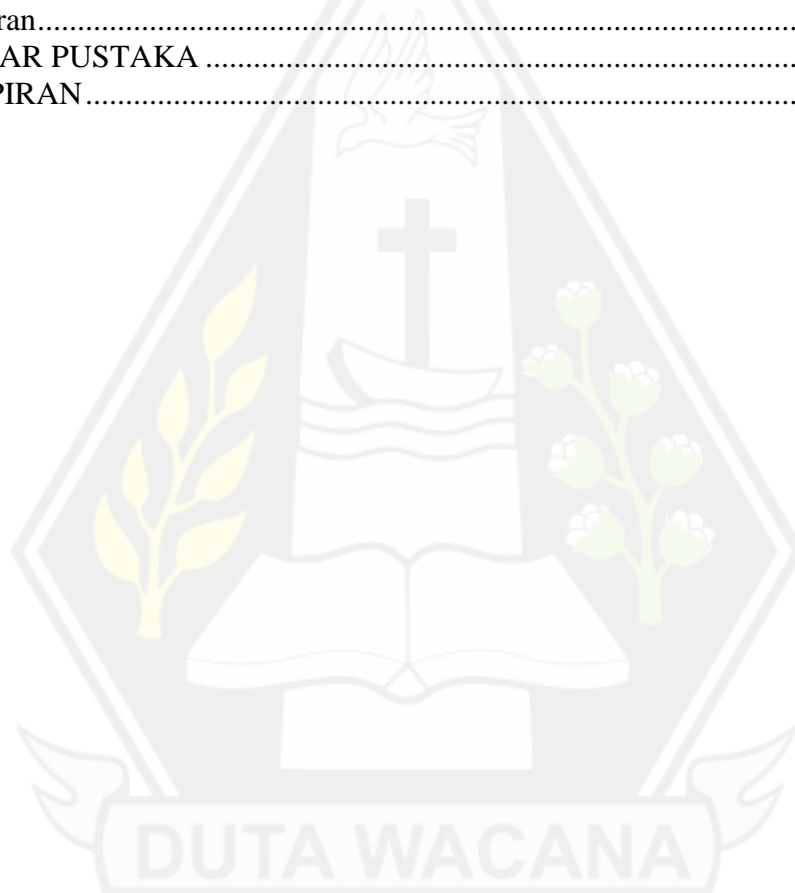
Penulis



DAFTAR ISI

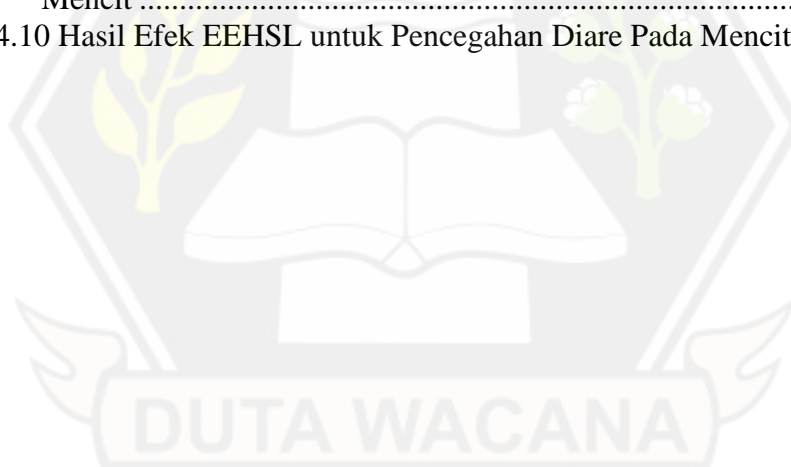
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL BAGIAN DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	5
2.1.1 Habitat dan Distribusi	6
2.1.2 Manfaat	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Fitokimia	7
2.2 Diare.....	9
2.3 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	10
2.4 Loperamide	11
2.5 Induksi Minyak Jarak.....	12
2.6 Ekstraksi.....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat.....	15
3.3 Bahan.....	15
3.4 Metode Kerja.....	16
3.4.1 Preparasi Simplisia.....	16
3.4.2 Ekstraksi Simplisia.....	17
3.4.3 Skrining Senyawa Fitokimia.....	17
3.4.4 Penetapan Total Kadar Flavonoid.....	19
3.4.5 Penetapan Total Kadar Tanin.....	21
3.4.6 Penetapan Total Kadar Saponin.....	22
3.4.7 Uji Pre-Klinis Perlakuan Hewan Coba	24
3.4.8 Pengumpulan dan Analisis Data	28

3.4.9 Alur Penelitian	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.).....	32
4.2 Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit.....	34
4.3 Hasil Total Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit	37
4.4 Hasil Total kadar Tanin Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit.....	38
4.5 Hasil Total Kadar Saponin Ekstrak Etanol Herba Sawi langit	40
4.6 Aktivitas Antidiare Pada Mencit.....	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	69



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
Tabel 3.1	Formulasi Dosis Perlakuan Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit	26
Tabel 3.2	Kelompok Perlakuan Pada mencit	27
Tabel 4.1	Hasil Identifikasi Senyawa Fitokimia Secara Kualitatif Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit.....	35
Tabel 4.2	Hasil Total Kadar Flavonoid EEHSL	37
Tabel 4.3	Hasil Total Kadar Tanin EEHSL	39
Tabel 4.4	Hasil Total Kadar Saponin EEHSL	41
Tabel 4.5	Hasil Efek EEHSL terhadap rata – rata Konsistensi Feses Pada Mencit.....	44
Tabel 4.6	Hasil Efek EEHSL terhadap rata – rata Berat Feses Pada Mencit	46
Tabel 4.7	Hasil Efek EEHSL terhadap rata – rata <i>Onset</i> Diare Pada Mencit	48
Tabel 4.8	Hasil Efek EEHSL terhadap rata – rata Durasi Diare Pada Mencit	49
Tabel 4.9	Hasil Efek EEHSL terhadap rata – rata Frekuensi Diare Pada Mencit	51
Tabel 4.10	Hasil Efek EEHSL untuk Pencegahan Diare Pada Mencit ...	52



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
Gambar 2.1	Bagian Tanaman Sawi Langit	5
Gambar 2.2	Struktur Loperamide	12
Gambar 2.3	Skema Ekstraksi Menggunakan Metode Sokletasi	14
Gambar 3.1	Nilai Konsistensi Feses	29
Gambar 4.1	Bunga, Daun, dan Batang Sawi Langit	32
Gambar 4.2	Ekstrak Kental Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit	33
Gambar 4.3	Konsistensi Feses Pada Mencit	43



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
Lampiran 1.	Proses Pengambilan Sampel dan Pembuatan Simplisia	69
Lampiran 2.	Proses Ekstrasi	71
Lampiran 3.	Hasil Identifikasi Fitokimia Secara Kualitatif	72
Lampiran 4.	Penetapan Kadar Flavonoid, Tanin, dan Saponin.....	74
Lampiran 5.	Aktivitas Antidiare Pada Mencit	76
Lampiran 6.	Tabulasi Data Berat Feses Pada Mencit	77
Lampiran 7.	Tabulasi Data Konsistensi Feses Pada Mencit	78
Lampiran 8.	Tabulasi Data Frekuensi Diare Pada Mencit	85
Lampiran 9.	Tabulasi Data <i>Onset</i> Diare Pada Mencit.....	86
Lampiran 10.	Tabulasi Data Durasi Diare Pada Mencit	87
Lampiran 11.	Perhitungan % Inhibisi Defekasi Feses, LSIR, ALSG, dan <i>Diarrhea Index</i>	87
Lampiran 12.	Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit	102
Lampiran 13.	Perhitungan Total Kadar Flavonoid, Tanin, dan Saponin	102
Lampiran 14.	Determinasi Tanaman Sawi Langit	107
Lampiran 15.	Ethical Clearance	108
Lampiran 16.	Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Konsistensi Feses	109
Lampiran 17.	Hasil Analisa Statistik Uji Lavene Statistik Konsistensi Feses	109
Lampiran 18.	Hasil Analisa Statistik Uji Kruskal Wallis Konsistensi Feses	110
Lampiran 19.	Hasil Analisa Statistik Uji Dunn's Post Hoc Konsistensi Feses	110
Lampiran 20.	Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Berat Feses	112
Lampiran 21.	Hasil Analisa Statistik Uji Lavene Statistik Berat Feses..	113
Lampiran 22.	Hasil Analisa Statistik Uji Kruskal Wallis Berat Feses....	113
Lampiran 23.	Hasil Analisa Statistik Uji Dunn's Post Hoc Berat Feses	113
Lampiran 24.	Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Frekuensi Feses	114
Lampiran 25.	Hasil Analisa Statistik Uji Lavene Statistik Frekuensi Feses	114
Lampiran 26.	Hasil Analisa Statistik Kruskal Wallis Frekuensi Feses...	114
Lampiran 27.	Hasil Analisa Statistik Uji Dunn's Post Hoc Frekuensi Feses	115
Lampiran 28.	Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Onset Diare	115
Lampiran 29.	Hasil Analsia Statistik Uji Lavene Statistik Onset Diare .	115
Lampiran 30.	Hasil Analisa Statistik Uji Kruskal Wallis Onset Diare ...	116
Lampiran 31.	Hasil Analisa Statistik Uji Independent-Sampel Kruskal Wallis Onset Diare	116
Lampiran 32.	Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Durasi Diare....	116

Lampiran 33. Hasil Analisa Statistik Uji Lavene Statistik Durasi Diare	117
Lampiran 34. Hasil Analisa Statistik Uji Kruskal Wallis Durasi Diare..	117
Lampiran 35. Hasil Analisa Statistik Uji Dunn's Post Hoc Durasi Diare	117
Lampiran 36. Hasil Analisa Statistik Uji Shapiro-Wilk Diarrhea Index	118
Lampiran 37. Hasil Analisa Statistik Uji Lavene Statistik Diarrhea Index.....	118
Lampiran 38. Hasil Analisa Statistik Uji Kruskal Wallis Diarrhea Index	119
Lampiran 39. Hasil Analisa Statistik Uji Dunn's Post Hoc Diarrhea Index.....	119
Lampiran 40. Kartu Aktivitas Skripsi	120



ABSTRAK

Potensi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) sebagai Antidiare Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)

PRIMADIAN HARMASTUTI

Diare merupakan gejala gangguan saluran pencernaan yang menimbulkan peradangan dan kasusnya terjadi setiap tahun, apabila tidak segera ditangani menimbulkan diare kronis seperti penyakit bowel sindrom, penyakit radang usus, dan penyakit seliak. Salah satu pengobatan diare adalah pengobatan herbal yang mudah dijangkau masyarakat. Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) atau EEHSL mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang diketahui mampu mensintesis prostaglandin, meningkatkan kekebalan lapisan mukosa, dan menghambat pelepasan histamin pada saluran cerna, sehingga diare dapat diatasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui senyawa fitokimia, total kadar senyawa flavonoid, tanin, dan saponin serta mengetahui dosis EEHSL yang signifikan memberi pengaruh antidiare pada mencit jantan BALB/c (*Mus musculus*) yang diinduksi minyak jarak. EEHSL diperoleh menggunakan metode sokletasi. Senyawa fitokimia yang teridentifikasi adalah flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid, dan alkaloid. Kelompok perlakuan meliputi Kelompok I kontrol normal (Aquadest), Kelompok II kontrol negatif (0,75 mL minyak jarak), Kelompok III kontrol positif (0,0078 mg/kgBB), Kelompok IV-VI merupakan perlakuan EEHSL (200, 400, 600 mg/kgBB). Perlakuan obat dan ekstrak diberikan satu kali setelah 1 jam diberikan induksi minyak jarak dan aktivitas antidiare pada mencit diamati selama 7 jam. Nilai rendemen EEHSL sebesar 13,07%. Total kadar flavonoid, tanin, dan saponin berturut – turut sebesar 125,09 mgQE/g, 417 mgTAE/g, dan 24,45 mgSE/g. Hasil menunjukkan bahwa EEHSL berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap penurunan diare ditinjau dari berat feses, konsistensi feses, frekuensi diare, durasi diare dan evaluasi *Diarrhea Index* pada mencit dan dosis EEHSL 200 mg/kgBB merupakan dosis optimal. Mengacu pada hasil yang didapat maka EEHSL berpotensi sebagai obat herbal antidiare.

Kata Kunci : Antidiare, Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit/EEHSL (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.), Minyak Jarak

ABSTRACT

Potential of Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) Herb Ethanol Extract as an Antidiarrheal in Male Mice (*Mus musculus*)

PRIMADIAN HARMASTUTI

Diarrhea is a symptom of digestive tract disorders that cause inflammation, and cases occur every year. If not treated immediately, it can cause chronic diarrhea such as bowel syndrome, inflammatory bowel disease, and celiac disease. One of the treatments for diarrhea is herbal medicine, which is easily accessible to the public. Ethanol Extract of Sawi Langit Herb (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) or EEHSL contains flavonoids, tannins, and saponins that are known to be able to synthesize prostaglandins, increase the immunity of the mucous layer, and inhibit the release of histamine in the gastrointestinal tract, so that diarrhea can be overcome. This study aims to determine the phytochemical compounds, the total levels of flavonoids, tannins, and saponins, and the significant dose of EEHSL to have an antidiarrheal effect on male BALB/c (*Mus musculus*) mice induced by castor oil. EEHSL was obtained using the soxhletation method. The identified phytochemical compounds are flavonoids, tannins, saponins, phenols, steroids, and alkaloids. The treatment groups included Group I, a normal control (Aquadest), Group II, a negative control (0.75 mL of castor oil), Group III, a positive control (0.0078 mg/kg BW), and Groups IV–VI, EEHSL treatments (200, 400, and 600 mg/kg BB). Drug and extract treatment was given once after 1 hour of castor oil induction, and antidiarrheal activity in mice was observed for 7 hours. The EEHSL yield value is 13.07%. Total levels of flavonoids, tannins, and saponins were 125.09 mg QE/g, 417 mg TAE/g, and 24.45 mg SE/g, respectively. The results showed that EEHSL had an effect ($p > 0.05$) on decreasing diarrhea in terms of stool weight, stool consistency, frequency of diarrhea, duration of diarrhea, and evaluation of the Diarrhea Index in mice, and an EEHSL dose of 200 mg/kg BB was the optimal dose. Referring to the results obtained, EEHSL has the potential to be an anti-diarrhea herbal medicine.

**Keywords : Antidiarrheal, Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.)
Herb Ethanol Extract/EEHSL, Castor oil**

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Diare merupakan gejala gangguan saluran pencernaan akibat konsumsi makanan dan minuman yang tercemar bakteri, parasit, virus, dan benda asing, sehingga ketika masuk ke saluran pencernaan menimbulkan masalah pencernaan seperti peradangan pada lapisan mukosa usus hingga diare akut bahkan kronis (Barr *et al.*, 2014). Gejala klinis ditandai dengan frekuensi buang air besar encer yang lebih dari 3 kali dalam sehari, sakit perut disertai nyeri, mual, dan kembung. Peradangan terjadi pada lapisan mukosa usus halus maupun kolon pada usus besar akibat infeksi, mekanis, dan agen iritan sehingga daya serap air di usus terhambat (Putra *et al.*, 2020). Peradangan yang tidak segera ditangani dapat menimbulkan diare kronis hingga timbulnya penyakit bowel sindrom, penyakit radang usus, penyakit seliak, dan kolitis mikroskopis (Burgers *et al.*, 2020).

Secara mekanis, penyebab peradangan pada lapisan mukosa saluran pencernaan adalah kualitas sumber air minum, sanitasi lingkungan, dan penggunaan obat – obatan. Diare juga terjadi pada kejadian intoleran terhadap laktosa susu sehingga menimbulkan malabsorpsi (Musdja dan Azrifitria, 2007). Di Indonesia, berdasarkan data Ditjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Kemenkes RI, 2022, jumlah kasus penyakit diare pada tahun 2020 sebanyak 7.318.417 jiwa kemudian pada tahun 2021 mengalami peningkatan sebesar 7.350.708 jiwa. Kasus tersebut tidak hanya terjadi pada orang dewasa saja tetapi juga pada balita hingga anak-anak yang kasus kematiannya tinggi sebesar 201 kasus pada tahun 2020 dan 239 kasus pada tahun 2021. Pemicu lain kasus diare setiap tahunnya adalah kurangnya pengetahuan yang tepat terhadap penyakit diare dan penyebabnya serta beban ekonomi biaya perawatan di puskesmas maupun rumah sakit terhadap penyakit diare akut mengakibatkan terhambatnya

perawatan diare pada golongan masyarakat tertentu (Syahrani *et al.*, 2020; Thobari *et al.*, 2022).

Loperamide adalah salah satu obat diare dari kelompok opiat. Obat ini efektif dalam penghambatan gerak peristaltik usus sehingga penyerapan di saluran pencernaan dapat berjalan dengan baik serta konsistensi dan frekuensi feses kembali normal (Eggleston *et al.*, 2019). Namun, penggunaan loperamide yang terus menerus memberikan efek samping negatif bagi jantung seperti gangguan ritme jantung dan gangguan konduksi jantung (Eggleston *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pengembangan obat alternatif menggunakan tanaman herbal perlu dilakukan untuk mengurangi penggunaan obat diare komersial dan mengurangi efek samping yang ditimbulkan. Tanaman sebagai obat herbal telah dikenal oleh masyarakat karena ketersediaan yang melimpah di alam, sehingga mudah diperoleh.

Tanaman yang mengandung senyawa fitokimia dan telah diketahui memiliki aktivitas antidiare adalah herba sawi langit *Vernonia cinerea* (sinonim *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) yang menggunakan tikus albino betina mampu meminimalisir gerak peristaltik usus pada dosis 100 dan 200 mg/kgBB yang ditunjukkan melalui parameter penghambatan waktu pertama kali diare (*Onset* diare) dan penurunan jumlah feses berair (Ganesh *et al.*, 2011). Menurut Astuti *et al.* (2019), ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina*) menggunakan mencit jantan pada dosis 400 mg/kgBB yang mengandung senyawa fitokimia flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid mampu mengurangi frekuensi diare, konsistensi feses berair, dan berat feses. Fraksi karbon tetraklorida dari ekstrak metanol batang, kulit batang, dan daun *Vernonia cinerea* pada dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB tidak menunjukkan aktivitas antidiare pada mencit swiss albino (Haque *et al.*, 2013). Ketersediaan tanaman sawi langit yang melimpah di alam karena mudah tumbuh di iklim tropis. Oleh sebab itu, tanaman ini mudah dijumpai di pekarangan rumah maupun tepi jalan apabila digunakan sebagai alternatif pengobatan diare. Tanaman sawi langit juga memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, tanin, dan

saponin yang berpotensi sebagai antidiare (Anas *et al.*, 2012; Setyawati *et al.*, 2015; Sulaiman *et al.*, 2021).

Di Indonesia, pemanfaatan tanaman sawi langit sebagai alternatif obat diare masih jarang dilakukan, meskipun beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan aktivitas antidiare herba famili Asteraceae khususnya sawi langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.). Penelitian – penelitian tersebut berfokus pada evaluasi diare berdasarkan parameter konsistensi feses, jumlah feses berair, berat feses, dan onset diare serta metode ekstraksi menggunakan maserasi dan fraksinasi ekstrak. Parameter – parameter lain yang perlu dilakukan dan belum ada pada penelitian sebelumnya untuk melihat aktivitas antidiare sawi langit pada mencit jantan yakni berat feses, frekuensi diare dan persen inhibisi defekasi feses, konsistensi feses, onset diare, durasi diare, dan evaluasi tingkat kejadian diare menggunakan *Diarrhea Index* serta metode ekstraksi menggunakan sokletasi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang senyawa fitokimia dan total kadar senyawa fitokimia yang memberikan aktivitas antidiare dan variasi dosis EEHSL secara signifikan mampu memberikan pengaruh antidiare pada mencit jantan.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Senyawa fitokimia apa saja yang terdapat pada EEHSL?
- 1.2.2 Berapa kandungan flavonoid, tanin, dan saponin total EEHSL?
- 1.2.3 Berapakah dosis EEHSL yang signifikan memberi pengaruh antidiare pada mencit jantan (*Mus musculus*)?

1.3 Hipotesis Penelitian

Variasi dosis EEHSL memberikan efek antidiare pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang berbeda.

1.4 Tujuan Penelitian

- 1.4.1 Mengetahui senyawa fitokimia yang terdapat pada EEHSL.

- 1.4.2 Mengetahui kandungan flavonoid, tanin, dan saponin total pada EEHSL.
- 1.4.3 Mengetahui dosis EEHSL yang signifikan memberi pengaruh antidiare pada mencit jantan (*Mus musculus*).

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Dunia Kesehatan

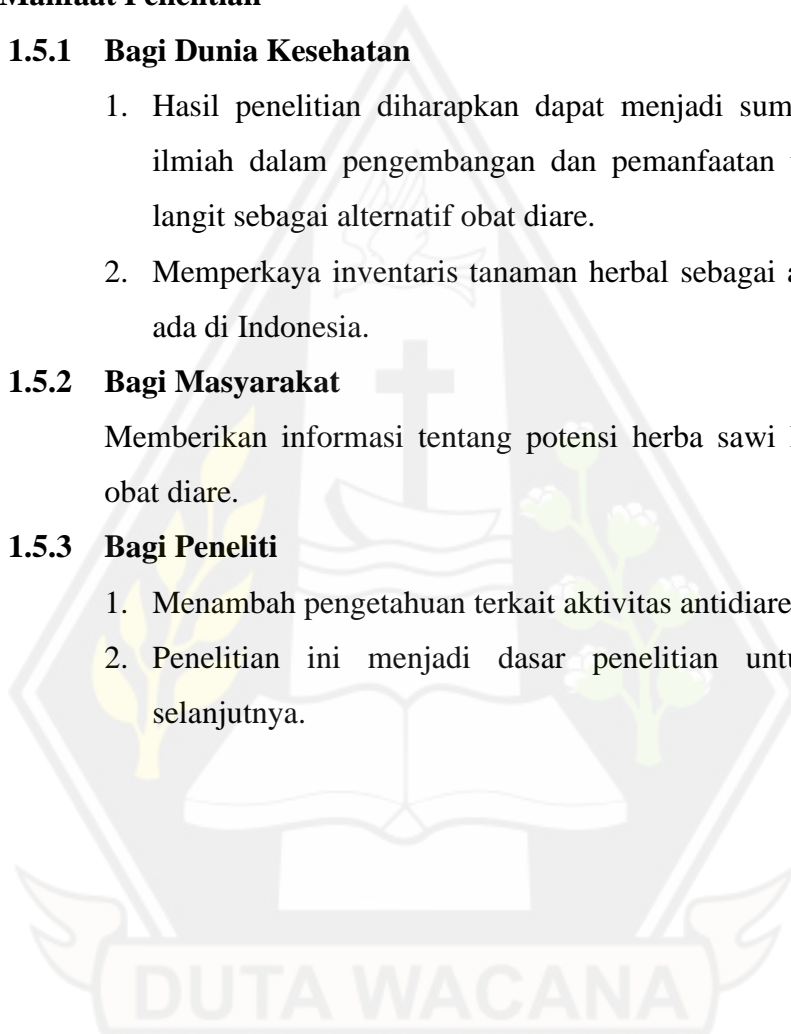
1. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah dalam pengembangan dan pemanfaatan tanaman sawi langit sebagai alternatif obat diare.
2. Memperkaya inventaris tanaman herbal sebagai antidiare yang ada di Indonesia.

1.5.2 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi tentang potensi herba sawi langit sebagai obat diare.

1.5.3 Bagi Peneliti

1. Menambah pengetahuan terkait aktivitas antidiare.
2. Penelitian ini menjadi dasar penelitian untuk penelitian selanjutnya.



BAB II

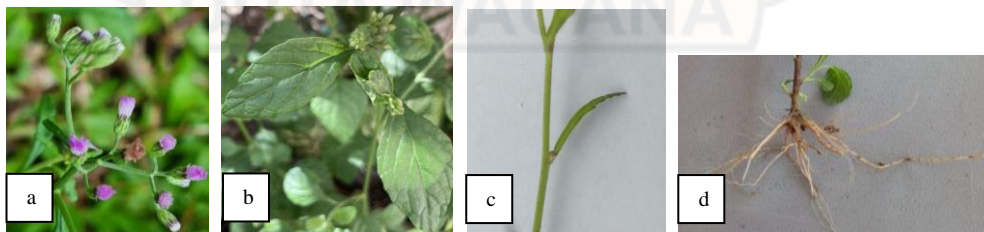
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.)

Cyanthillium cinereum (L.) H. Rob merupakan tanaman jenis herba tahunan yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti benua Asia dan sebagian benua Afrika serta Amerika (Dogra dan Kumar, 2015). Pada masing-masing daerah di Indonesia penyebutan atau nama lokal tumbuhan *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. ini beraneka ragam, seperti buyung, pidak bangkong (Jawa), sasawi langit, capeu tuhur (Sunda), gofu mutiara (Ternate), digo (Halmahera Barat) (Setyawati *et al.*, 2015; Wakhidah dan Pradana, 2017) dan lain sebagainya. Klasifikasi dari tumbuhan *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. adalah sebagai berikut (ITIS, 2022):

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Cyanthillium*
Spesies : *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.

Morfologi dari masing – masing bagian tanaman sawi langit ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bagian tanaman sawi langit. Bunga sawi langit (Lavendulan, 2022)^a, Daun sawi langit (Collantes, 2022)^b, Batang sawi langit (Atmaja, 2022)^c, Akar sawi langit (Dass, 2022)^d.

Tanaman sawi langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) memiliki batang yang tegak agak berserat, ramping, memiliki bulu-bulu halus, percabangannya banyak, mempunyai kelenjar dengan tinggi mencapai 30 – 130 cm (Nwaogaranya dan Mbaekwe, 2015). Bentuk daunnya oval, bagian tepi daunnya bergelombang/bergerigi, berselang-seling, memiliki panjang 2 – 6 cm, lebar 0,5 – 3,5 cm tidak terlalu lebat dan pada permukaan daunnya terdapat bulu halus. Tanaman sawi langit memiliki sistem perakaran tunggang. Bunga sawi langit ada yang berwarna ungu, merah muda, dan putih, berbentuk seperti tabung, dalam satu tangkai tanaman ada \pm 20 kepala bunga, dengan diameter 2,5 mm, dan panjang kepala bunga 6 – 7 mm. Pada saat mekar, bunganya menyerupai rambut-rambut halus dengan panjang 4 – 5 mm (Setyawati *et al.*, 2015).

2.1.1 Habitat dan Distribusi

Tanaman sawi langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) merupakan tanaman jenis herba tahunan yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti benua Asia dan sebagian benua Afrika serta Amerika (Dogra dan Kumar, 2015). Tanaman sawi langit biasanya ditemukan di pinggir jalan, pekarangan, dan kebun. Tanaman sawi langit dapat ditemukan di beberapa wilayah seperti Afrika, Arab, Baluchistan, Sri Lanka, Bombay, Himalaya, Sikkim, Assam, Madras, Bangladesh, Burma, Kepulauan Andaman, Ceylon, Thailand, Kamboja, Laos, Vietnam, Cina (Hainan), Taiwan, Jepang, Filipina (Luzon, Mindanao), Australia, Indonesia (Jawa, Kalimantan, Maluku, Sumatera, Sulawesi, dll (Setyawati *et al.*, 2015).

2.1.2 Manfaat

Pemanfaatan tumbuhan *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. sebagai pengobatan tradisional telah banyak dikembangkan di Negara India dan China karena mempunyai khasiat terapi seperti antiviral, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antiyeast, antidiuretik, dan antibakteri (Haque *et al.*, 2013; Dogra dan Kumar, 2015; Alara *et al.*, 2018). Penelitian Chandra *et al.* (2019) melaporkan

bahwa ekstrak *Vernonia cinerea* memberikan efek kemoterapi pada dosis 200 mg/kg pada tikus yang diinduksi neuropatik. Penelitian Haque *et al.* (2013) melaporkan bahwa dosis 500 mg/kg ekstrak kulit batang, batang, dan daun *Vernonia cinerea* mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah mencit. Penelitian Sonibare *et al.* (2016) melaporkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat daun *Vernonia cinerea* menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 6,50 µg/mL dan menunjukkan kerentanan tinggi terhadap *Candida albicans* (aktivitas antibakteri) dengan nilai MIC sebesar 1,56 mg/mL serta MBC sebesar 3,31 mg/mL . Pada pengobatan Aryuveda di Negara India, ekstrak tumbuhan *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. digunakan untuk mengobati penyakit seperti keputihan, bisul, filariasis, gangguan hematologi, gangguan pencernaan, pityriasis versicolor (Dogra dan Kumar, 2015). Air rebusan seluruh bagian tanaman sawi langit dipercaya dapat mengobati diare, sakit perut, dan batuk (Sulaiman *et al.*, 2021). Di Indonesia khususnya Desa Tuada, Halmahera Barat, tanaman ini dimanfaatkan sebagai obat untuk mengatasi bengkak dengan cara daunnya diremas atau ditumbuk kemudian ditempelkan pada bagian yang bengkak (Wakhidah dan Pradana, 2017).

2.1.3 Kandungan Senyawa Fitokimia

Tanaman sawi langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) mengandung senyawa fitokimia antosianin, flavonoid, glikosida fenolik, asam fenolik, *sesquiterpene laktone*, alkaloid, terpenenoid, saponin, dan senyawa fenolik seperti tanin serta vernolide-A, vernolide-B (Kuo *et al.*, 2003; Youn *et al.*, 2012; Konaté *et al.*, 2015; Alara *et al.*, 2018; Sulaiman *et al.*, 2021). Bagian bunga memiliki kandungan senyawa *sesquiterpene laktone* (Youn *et al.*, 2012). Bagian daun tanaman sawi langit memiliki kandungan senyawa fitokimia urticifolene, lutein salah satu jenis carotenoid, triterpenoid jenis sitosterol, stigmasterol, lupeol, dan β- sitosterol, 12- oleanen-3- ol-3β- acetate (Kuo *et al.*, 2003; Haque *et al.*, 2012). Bagian batang maupun

kulit batang memiliki kandungan senyawa fitokimia stigmasterol, lupeol, dan β -sitosterol, 12-oleanen-3-ol-3 β -acetate (Haque *et al.*, 2012). Pada bagian akar, tanaman sawi langit memiliki kandungan senyawa fitokimia β -amyirin acetate, β -amyirin dan α -amyirin, δ -amyirin acetate dan α -amyirin acetate (Misra *et al.*, 1984).

Pada penelitian Alara *et al.* (2018), sampel ekstrak daun *Vernonia cinerea* yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etanol 60% menghasilkan nilai rendemen terbaik sebesar $10,01 \pm 0,85\%$ b/b dengan total kadar fenol dan flavonoid berturut – turut sebesar $53,96 \pm 1,45$ mgGAE/g dan $30,09 \pm 0,44$ mgQE/g. Penelitian Alara *et al.* (2019), ekstrak daun *Vernonia amygdalina* yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut 60% mengandung flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, tanin, fenol, steroid, dan glikosida dengan total kadar fenol dan flavonoid berturut – turut sebesar $70,33 \pm 2,11$ mgGAE/g dan $63,82 \pm 0,99$ mgQE/g. Penelitian lainnya, ekstrak seluruh bagian tanaman *Vernonia cinerea* diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut metanol dan dianalisis menggunakan metode HPTLC menghasilkan ekstrak polar (alkaloid kuartar dan N-oksida) sebesar 9,67% (Sapale *et al.*, 2020).

Penelitian Mahbubah *et al.* (2020) dan Anas *et al.* (2012) menyatakan bahwa senyawa fitokimia yang berperan penting dalam aktivitas antidiare adalah flavonoid dan tanin. Hal tersebut dikarenakan flavonoid dan tanin memberi efek antibakteri, meminimalisir motilitas usus, dan meminimalisir sekresi atau elektrolit pada usus (Konaté *et al.*, 2015). Peradangan juga dapat diminimalisir sehingga pori-pori pada lapisan mukosa usus mengecil dan pengeluaran air serta elektrolit yang berlebihan dapat terhambat. Dengan begitu daya serap cairan di sistem pencernaan dapat berlangsung dengan baik dan diare dapat diatasi. Selain kedua jenis senyawa fitokimia di atas, senyawa fitokimia saponin juga berperan dalam mekanisme antidiare dengan mencegah

lepasnya histamin yang menyebabkan daya serap cairan pada saluran pencernaan berlangsung secara optimal (Astuti *et al.*, 2019).

2.2 Diare

Diare adalah salah satu gejala gangguan pencernaan yang berpotensi menjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) karena adanya kasus kematian di berbagai usia terutama pada balita hingga anak – anak. Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2011, kasus penyakit diare dengan kematian tertinggi di Indonesia pada golongan balita hingga anak-anak, sehingga penyakit ini dianggap penyakit yang tidak dapat dianggap ringan/sepele meskipun telah ditetapkan tata penanganan dan pencegahan penyakit diare. Menurut Amin (2015), umumnya diare terjadi karena virus, bakteri, protozoa, dan cacing (helminthes). Jenis diare dibedakan menjadi dua yaitu diare akut dan diare kronis. Diare akut merupakan salah satu jenis diare dengan jumlah/frekuensi buang air besar encer yang terjadi lebih dari 3 kali dalam sehari dan berlangsung kurang dari 2 minggu. Diare kronis terjadi ketika frekuensi buang air besar encer berlangsung lebih dari 4 minggu (Amin, 2015; Burgers *et al.*, 2020).

Diare akut umumnya dapat terjadi karena disebabkan oleh agen infeksi atau non-infeksi. Agen infeksi adalah patogen seperti bakteri, virus, dan parasit sementara agen non-infeksi adalah alergi, cacat anatomis, malabsorpsi, keracunan makanan, dan neoplasma. Kedua jenis agen penyebab diare tersebut meminimalisir daya serap air pada saluran pencernaan, sehingga terjadi ketidakseimbangan elektrolit. Perbedaan dari kedua jenis agen tersebut adalah agen infeksi seperti bakteri akan menyerang sel mukosa usus hingga terjadi peradangan kemudian timbul darah dalam feses. Gejala klinis ditandai dengan konsistensi feses encer, frekuensi buang air lebih dari 4 kali dalam sehari, disertai muntah, badan lemas, dan nafsu makan berkurang. Diare akut biasanya akan sembuh dengan sendirinya karena hanya berlangsung 3 – 4 hari. Penyebab diare kronis adalah sindrom iritasi usus besar atau bowel sindrom, penyakit radang usus, penyakit seliak, dan kolitis mikroskopis. Penyebab

lainnya adalah iskemia usus, infeksi, efek terapi radiasi, dan kanker usus besar atau polip. Gejala klinis ditandai dengan konsistensi feses encer, frekuensi buang air lebih dari 4 kali dalam sehari, disertai kram atau nyeri perut, keluar feses yang disertai lendir dan darah, penurunan berat badan drastis, kembung, pada kasus iskemia dapat menyebabkan bisul, dan lain sebagainya. Gejala klinis dapat ditentukan lebih lanjut melalui diagnosis (Imanadhia *et al.*, 2019; Burgers *et al.*, 2020).

Pencegahan dan penanggulangan diare dapat dilakukan dengan meminum oralit, obat diare seperti loperamide, dan antibiotik seperti ciprofloxacin untuk kasus diare yang disebabkan bakteri seperti *Escherichia coli*. Penggunaan obat diare dan antibiotik memiliki efek samping seperti konstipasi, nyeri, mual, muntah dan resistensi antibiotik yang membahayakan kesehatan sehingga diperlukan alternatif obat lain sebagai antidiare (tanpa efek samping) yang relatif mudah dijangkau dan ekonomis. Salah satunya adalah dengan tanaman herbal (Amin, 2015; Egglestone *et al.*, 2019; Puspitasari *et al.*, 2019;).

2.3 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan coba yang sering digunakan pada bidang kesehatan khususnya pengembangan suatu obat. Menurut Liu dan Fan (2018), dalam sejarah urutan genom yang telah dilakukan pada bulan Desember tahun 2002, mencit digunakan sebagai hewan coba karena memiliki sekitar 27.000 – 30.500 gen yang mampu mengkode protein dan urutan gennya memiliki kecocokan 99% dengan urutan gen manusia. Klasifikasi mencit yang digunakan sebagai hewan coba adalah sebagai berikut (Linnaeus, 2022):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>

Spesies : *Mus musculus*

Mencit jantan sebagai pengganti subjek manusia bertujuan untuk memudahkan pengambilan data. Data yang dihasilkan akan lebih homogen dengan menggunakan mencit jantan daripada mencit betina. Selain itu, secara hormonal mencit jantan lebih stabil daripada mencit betina, sehingga pemberian perlakuan ekstrak akan lebih berpengaruh pada metabolisme mencit (Ariyanti *et al.*, 2007; Legorreta *et al.*, 2018 dalam Yusuf *et al.*, 2022).

2.4 Loperamide atau Obat Diare

Loperamide adalah obat kelompok opiate golongan kodein fosfat (Amin, 2015). Loperamide efektif dalam meminimalisir diare dengan menghambat propulsi dan meningkatkan daya serap cairan di usus. Jika dikonsumsi dalam takaran/dosis yang besar, loperamide memberi efek samping yang dapat menimbulkan penyakit seperti gangguan ritme jantung (disritmia), gangguan opioid seperti fisik dan mental serta gangguan konduksi jantung (Eggleston *et al.*, 2019). Efek samping ditimbulkan oleh efek proaritmia loperamide karena penghambatan ion Na^+ atau K^+ pada saluran ion transmembran dalam sel jantung (Akel dan Bekheit, 2018). Struktur kimia dari loperamide ditunjukkan pada Gambar 2.2.

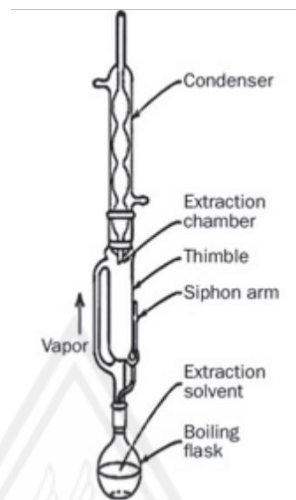
Takaran pemberian loperamide yang dapat menekan laju diare yaitu 2 – 16 mg per harinya. Mekanisme antidiare loperamide yaitu adanya penghambatan gerak peristaltik usus melalui reseptor agonis, menutup kalmodulin, kemudian penghambatan permeabilitas paraseluler dan penyumbatan saluran kalsium (Eggleston *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, peradangan pada lapisan mukosa saluran pencernaan dapat diminimalisir dan penyerapan air di usus dapat berlangsung dengan normal (Schiller *et al.*, 1983).

risinoleatnya. Asam risinoleat pada minyak jarak dapat terhidrolisis pada saluran pencernaan sehingga menimbulkan peradangan atau kerusakan pada lapisan mukosa saluran cerna dengan mengurangi ion natrium dan permeabilitas ion klorida serta adanya peningkatan motilitas usus hingga terjadi diare (Zavala *et al.*, 1998). Minyak jarak dosis 2 mL pada tikus memberikan efek diare setelah 1, 3, dan 5 jam serta pada 7 – 9 jam kembali normal tanpa perlakuan ekstrak atau obat (Capasso *et al.*, 1994). Asam risinoleat inilah yang berperan dalam mekanisme diare pada mencit (Ahmad *et al.*, 2020).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan prosedur pemisahan senyawa aktif atau fitokimia yang ada pada tanaman menggunakan pelarut tertentu sesuai standar yang telah ditetapkan (Handa *et al.*, 2008). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah sokletasi. Sokletasi merupakan salah satu metode ekstraksi konvensional pemisahan senyawa bioaktif tanaman dengan menggunakan panas atau *Hot Continuous Extraction*. Kelebihan metode ini adalah kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat dapat banyak dihasilkan dengan kuantitas pelarut yang sedikit (prinsip daur ulang *solvent*), serta tidak memerlukan filtrasi ekstrak (Handa *et al.*, 2008). Selain itu, senyawa dengan tingkat kelarutan rendah hingga rata – rata sedang dapat diekstraksi dengan metode ini tergantung jenis pelarut yang digunakan untuk mencegah senyawa bioaktif yang sifatnya menguap (*volatile*).

Pada metode sokletasi, simplisia serbuk sampel ditempatkan dalam bidal (*Thimble*) yang dibungkus dengan kertas saring. Pelarut ditempatkan dalam labu *Extraction solvent* yang kemudian dipanaskan dan uap yang dihasilkan akan naik melewati *Extraction chamber* ke kondensor, sehingga terjadi pengembunan. Ekstraktan yang terkondensasi (embunnya) kemudian menetes ke bagian labu *Boiling flask* dan menguap kembali ke labu *Extraction chamber* secara terus menerus hingga senyawa bioaktif terekstraksi (Handa *et al.*, 2008).



Gambar 2.3 Skema ekstraksi menggunakan metode sokletasi (Handa *et al.*, 2008)

Secara umum, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol. Berdasarkan penelitian Alara *et al.* (2018), metode ekstraksi sokletasi menggunakan sampel daun *V. cinerea* dengan perbandingan 10 g ekstrak dan pelarut etanol 60% (1 : 20 (g/mL)) menghasilkan total senyawa flavonoid dan fenol berturut – turut sebesar $53,96 \pm 1,45$ mgGAE/g dan $30,09 \pm 0,44$ mgQE/g selama 2 jam. Pada penelitian Alara *et al.* (2019), metode ekstraksi sokletasi menggunakan sampel daun *V. amygdalina* dengan perbandingan 100 g ekstrak dan pelarut etanol 60% ((1:10 (g/mL))) menghasilkan senyawa aktif flavonoid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai antidiare. Penggunaan etanol dinilai relatif aman dibandingkan metanol, biaya relatif lebih murah, fleksibel untuk metode ekstraksi, aman untuk ekstrak yang digunakan sebagai obat, ramah lingkungan, dan tingkat ekstraksi yang tinggi. Oleh sebab itu, etanol 60% dipilih sebagai pelarut dalam metode ekstraksi sokletasi EEHSL (Jimenez-Moreno *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020; dan Fan *et al.*, 2020 dalam Hakim dan Saputri, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari Maret hingga April 2023. Tempat penelitian uji *in vivo* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Kesehatan UKDW. Pengujian total flavonoid, tanin, dan saponin dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar UKDW. Determinasi tanaman sawi langit dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi UGM.

3.2 Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian meliputi, pengambilan sampel dan pembuatan simplisia herba sawi langit menggunakan nampan, saringan simplisia, blender, pisau, oven (Memmet), timbangan, *rotary evaporator* IKA, alat sokletasi (labu alas Pyrex Iwaki 250 mL dan 100 mL) untuk ekstraksi tanaman sawi langit, klem, statis, selang air, kompor listrik. Skrining fitokimia dan penetapan kadar total flavonoid, tanin dan saponin menggunakan tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, labu ukur, corong kaca, erlenmeyer, pipet ukur 5 mL dan 10 mL mikropipet dan tip, spektrofotometer (Genesys 10S UV-Vis), *magnetic stirrer* (Labinco L32), *waterbath*, dan sendok. Uji pada hewan coba menggunakan sonde oral untuk induksi pada mencit jantan galur BALB/c kandang mencit, wadah pakan dan minum mencit, *stopwatch*, penggaris, spuit ukuran 1 mL, mortar dan alu.

3.3 Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan – bahan yang meliputi ekstrak herba sawi langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.), *silica gel*, 0,2 g bubuk magnesium (Merck®), gelatin 1%, larutan FeCl₃ 2%, klorofom, NaCl 10%, asam asetat anhidrat, reagen mayer dan wagner, etanol 60%,

kertas saring, aquadest, larutan H_2SO_4 pekat, larutan H_2SO_4 72%, vanilin bubuk (Merck®), saponin bubuk (Merck®), *tannic acid* (Merck®), *Quercetin* (Sigma-Aldrich®), $AlCl_3$ 10%, natrium asetat 1M, Na_2CO_3 10%, reagen folin-ciocalteu, etanol 96%, etanol 80%, metanol 80%, dan aluminium foil. Uji *invivo* menggunakan mencit jantan galur BALB/c sebanyak 24 ekor yang berumur 1 sampai 1,5 bulan dengan rata – rata berat kurang lebih 20 sampai 30 g, 2 mg/kg BB Loperamide (Imodium™), minyak jarak dan aquadest steril.

3.4 Metode Kerja

3.4.1 Preparasi simplisia

Sampel tanaman diambil dari sekitar pekarangan di Desa Pucanganom, Giritontro, Wonogiri. Tanaman dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dan dideterminasi. Setelah panen, tanaman sawi langit dipisahkan serta disortasi antara daun, bunga, batang, dan akarnya yang baik dan masih segar. Masing – masing bagian tanaman dicuci pada air mengalir. Proses selanjutnya yaitu perajangan. Perajangan berfungsi untuk mengubah bentuk simplisia menjadi lebih kecil agar memudahkan pada saat proses pengeringan dan penghalusan (Sudrajad, 2004). Setelah proses perajangan, simplisia basah dicuci pada air mengalir kembali dan dilakukan proses penjemuran. Tahap penjemuran dilakukan menggunakan cahaya matahari secara langsung selama 2 – 5 hari. Simplisia yang telah kering kemudian disortasi serta dihaluskan menggunakan *blender* dan disaring hingga diperoleh simplisia serbuk. Penyimpanan serbuk simplisia sawi langit menggunakan wadah berupa plastik dan diberi *silica gel* untuk meminimalisir kelembapan yang berlebihan pada simplisia yang dapat memicu tumbuhnya jamur (Meriatna *et al.*, 2015).

3.4.2 Ekstraksi simplisia

Prosedur kerja ekstraksi simplisia herba sawi langit dilakukan mengikuti metode sokletasi sesuai prosedur Alara *et al.* (2019). Sebanyak 17 g simplisia bubuk herba sawi langit dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung sokletasi kemudian diberi pelarut etanol 60% dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:10 g/mL. Proses ekstraksi ini berlangsung 2 – 3 siklus selama 2 – 4 jam pada suhu 50 – 60 °C. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.4.3 Skrining senyawa fitokimia

Penapisan fitokimia merupakan tahap uji pendahuluan untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekunder. Pengujian ini menggunakan analisis kualitatif dengan metode reagen sesuai prosedur Farnsworth (1966) dan Harborne (1987) yaitu uji tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, triterpenoid dan steroid. Tahap ini dimulai dengan menyediakan bahan yang digunakan sebagai berikut.

1) Pembuatan Larutan NaCl 10%

Sebanyak 10 g NaCl dilarutkan dalam aquadest 100 mL. Larutan dimasukkan dalam botol gelap.

2) Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

Bubuk FeCl₃ diambil dan ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dalam aquadest 100 mL kemudian dihomogenkan serta dimasukkan dalam botol gelap.

3) Pembuatan Gelatin 1%

Bubuk gelatin diambil dan ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dalam aquadest 100 mL kemudian dihomogenkan serta dimasukkan dalam botol gelap.

a) Skrining Senyawa Fitokimia Tanin

Ekstrak kental sawi langit diambil sebanyak 0,3 g kemudian dimasukkan ke tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 5 mL

aquadest yang telah dipanaskan. Larutan tersebut ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan 2 – 3 tetes larutan Besi (III) klorida (FeCl_3) 1%. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna biru tua atau hijau kehitaman maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung senyawa tanin.

b) Skrining Senyawa Fitokimia Alkaloid

Simplisia bubuk sawi langit sebanyak 0,3 g dimasukkan ke tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1 mL aquadest. Larutan tersebut ditambahkan sebanyak 3-5 tetes pereaksi mayer dan wagner. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna putih keruh atau terdapat endapan berwarna coklat maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung senyawa alkaloid.

c) Skrining Senyawa Fitokimia Flavonoid

Ekstrak kental sawi langit ditimbang sebanyak 0,3 g dan dimasukkan ke tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 1 mL aquadest. Larutan tersebut ditambahkan 0,2 g bubuk magnesium dan ditambahkan 2 – 3 tetes H_2SO_4 pekat lalu dihomogenkan atau digojog perlahan. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna orange menjadi merah bata maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid.

d) Skrining Senyawa Fitokimia Saponin

Ekstrak kental sawi langit sebanyak 0,3 g dimasukkan ke tabung reaksi. Sebanyak 2 mL aquades ditambahkan dan dihomogenkan atau digojog selama 10 detik sampai muncul busa. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut menimbulkan busa yang konsisten selama 10 menit dengan ketinggian 1 – 3 cm maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung saponin.

e) Skrining Senyawa Fitokimia Fenolik

Ekstrak kental sawi langit diambil sebanyak 0,3 g kemudian dimasukkan ke tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 5 mL aquadest yang telah dipanaskan. Larutan tersebut ditambahkan 5 tetes NaCl 10%, 2 – 3 tetes larutan Besi (III) klorida (FeCl_3) 1% dan 2 – 3 tetes gelatin 1%. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna hitam kebiruan maka dapat dipastikan bahwa larutan ekstrak tersebut positif mengandung senyawa fenol.

f) Skrining Senyawa Fitokimia Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak kental sawi langit diambil sebanyak 0,3 g kemudian dimasukkan ke tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 1 mL klorofom. Larutan tersebut ditambahkan sebanyak 10 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes H_2SO_4 pekat. Larutan kemudian dihomogenkan selama beberapa menit. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna merah keunguan (violet) atau coklat atau terbentuk cincin violet atau kecoklatan maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung triterpenoid. Apabila larutan yang dihasilkan dari proses tersebut berwarna biru kehijauan atau terbentuk cincin biru kehijauan, maka larutan ekstrak tersebut positif mengandung steroid.

3.4.4 Penetapan Total Kadar Flavonoid

Tahapan penetapan total kadar flavonoid pada EEHSL sesuai prosedur dari Haresmita dan Pradani (2022).

1) Pembuatan Reagen Aluminium klorida (AlCl_3) 10%

Sebanyak 2,5 g bubuk AlCl_3 dilarutkan menggunakan aquadest dalam labu ukur 25 mL hingga batas labu ukur.

2) Pembuatan larutan Natrium asetat 0,0487 M

Natrium asetat bubuk ditimbang sebanyak 0,2 g kemudian dilarutkan menggunakan aquadest 50 mL.

3) Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 1000 ppm

Bubuk Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dilarutkan menggunakan etanol 80% hingga batas labu ukur.

4) Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko terdiri dari 1,5 mL etanol 80%, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan.

5) Pembuatan Kurva Standar

Larutan kuersetin konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm dibuat dari larutan induk dengan menambahkan etanol 80% hingga batas labu ukur 10 mL. Konsentrasi masing – masing diambil sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol 80%, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Selanjutnya, larutan tersebut dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 416,5 nm.

6) Pengujian Total Kadar Flavonoid Sampel Ekstrak

Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit yang berbentuk pasta diambil dan ditimbang sebanyak 50 mg ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan 25 mL etanol 80% dan 25 mL aquadest. Selanjutnya, larutan dilarutkan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 50°C selama 30 menit. Larutan disaring menggunakan kertas saring dan diambil sebanyak 0,1 mL. Kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol 80%, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang lalu diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 416,5 nm. Konsentrasi total kadar flavonoid dalam EEHSL dihitung pada persamaan kurva

standar *quercetin* yang diperoleh dimana y merupakan nilai absorbansi 416,5 nm dan x merupakan konsentrasi total kadar flavonoid dari kurva standar. Hasil konsentrasi dihitung menggunakan rumus berikut dan dinyatakan dalam mg QE/g.

$$\text{Kadar total flavonoid} = \frac{c \times V}{m}$$

c (mg/mL) merupakan konsentrasi total kadar flavonoid yang diperoleh dari perhitungan persamaan kurva standar *quercetin*, V (mL) merupakan volume dari pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi ekstrak kental, dan m (g) merupakan berat sampel ekstrak kental yang digunakan penetapan total kadar flavonoid.

3.4.5 Penetapan Total Kadar Tanin

Tahapan penetapan total kadar tanin pada EEHSL sesuai prosedur dari Khairunnisa (2021).

1) Pembuatan Larutan Induk Asam Tanin 1000 ppm

Asam tanin bubuk diambil dan ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan menggunakan metanol 80% hingga batas labu ukur 10 mL.

2) Pembuatan Reagen Folin Ciocalteu 10%

Sebanyak 1 mL reagen folin pekat diencerkan dalam 10 mL aquadest. Larutan reagen dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang dilapisi aluminium foil dan dimasukkan lemari pendingin sebelum digunakan untuk mencegah reagen rusak.

3) Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko terdiri dari 1 mL metanol 80%, 0,1 mL reagen folin ciocalteu, 2 mL Na_2CO_3 10%, dan 2 mL aquadest dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan.

4) Pembuatan Kurva Standar

Larutan induk masing – masing dipipet 2,5, 2,7, 3, 4, dan 5 mL konsentrasi 250 ppm, 270 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm. Larutan ditambahkan metanol 80% hingga batas labu ukur 10

mL. Larutan masing – masing dpipet sebanyak 0,5 mL yang kemudian ditambahkan 0,1 mL reagen folin-ciocalteu, 2 mL Na_2CO_3 10%, dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya, larutan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm.

5) Pengujian Total Kadar Tanin Sampel Ekstrak

Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit diambil dan ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol 80%. Larutan disaring dan dipipet 0,1 mL. Larutan ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 2 mL Na_2CO_3 10% kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Konsentrasi total kadar tanin dalam EEHSL dihitung pada persamaan kurva standar asam tanin yang diperoleh dimana y merupakan nilai absorbansi 760 nm dan x merupakan konsentrasi total kadar tanin dari kurva standar. Hasil konsentrasi dihitung menggunakan rumus berikut dan dinyatakan dalam mg TAE/g.

$$\text{Kadar total tanin} = \frac{c \times V \times fp}{m}$$

c (mg/mL) merupakan konsentrasi total kadar tanin yang diperoleh dari perhitungan persamaan kurva standar tanin, V (mL) merupakan volume dari pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi ekstrak kental, fp merupakan faktor pengenceran dan m (g) merupakan berat sampel ekstrak kental yang digunakan penetapan total kadar tanin.

3.4.6 Penetapan Total Kadar Saponin

Tahapan penetapan total kadar flavonoid pada EEHSL sesuai prosedur yang dilakukan oleh Makkar *et al.* (2007).

1) Pembuatan Reagen Vanilin 8%

Sebanyak 800 mg vanilin dilarutkan dalam etanol 96% hingga batas labu ukur 10 mL.

2) Pembuatan Larutan Asam Sulfat 72%

Asam sulfat pekat diambil sebanyak 72 mL dan ditambahkan 28 mL aquadest, sehingga diperoleh konsentrasi asam sulfat 72%.

3) Pembuatan Larutan Induk Saponin 1000 ppm

Saponin diambil dan ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan 10 mL metanol 80%.

4) Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko terdiri dari 0,25 mL metanol 80%, 0,25 mL reagen vanillin 8%, 3 mL aquadest dan 2,5 mL asam sulfat 72% ke dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan.

5) Pembuatan Kurva Standar

Larutan induk saponin dipipet masing – masing 0,1, 0,15, 0,2, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, dan 0,40 mL sesuai konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm, dan 40 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan ditambahkan metanol hingga volumenya 0,25 mL, ditambahkan 0,25 mL reagen vanillin 8%, 3 mL aquadest dan 2,5 mL asam sulfat 72% didinding tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C selama 10 menit serta langsung dimasukkan ke dalam air es selama 3 menit. Pengukuran nilai absorbansi larutan tersebut menggunakan Spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 544 nm.

6) Pengujian Total Kadar Saponin Sampel Ekstrak

Ekstrak diambil dan ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam metanol 80% hingga batas labu ukur 10 mL dan dihomogenkan. Larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring kemudian dipipet sebanyak 0,25 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,25 mL reagen vanillin 8% serta

2,5 mL asam sulfat 72% didinding tabung reaksi. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C selama 10 menit serta langsung dimasukkan ke dalam air es selama 3 menit. Pengukuran nilai absorbansi larutan tersebut menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 544 nm. Konsentrasi total kadar saponin dalam EEHSL dihitung pada persamaan kurva standar saponin yang diperoleh dimana y merupakan nilai absorbansi 544 nm dan x merupakan konsentrasi total kadar saponin dari kurva standar. Hasil konsentrasi dihitung menggunakan rumus berikut dan dinyatakan dalam mg SE/g.

$$\text{Kadar total saponin} = \frac{c \times V \times fp}{m}$$

c (mg/mL) merupakan konsentrasi total kadar saponin yang diperoleh dari perhitungan persamaan kurva standar saponin, V (mL) merupakan volume dari pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi ekstrak kental, fp merupakan faktor pengenceran dan m (g) merupakan berat sampel ekstrak kental yang digunakan penetapan total kadar saponin.

3.4.7 Uji Pre-Klinis Perlakuan Hewan Coba

Uji pre-klinis menggunakan hewan coba telah mendapatkan persetujuan Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta Nomor 1500/C.16/FK/2023.

a) Uji Pendahuluan Dosis Induksi Minyak Jarak

Uji pendahuluan dilakukan untuk memastikan dosis minyak jarak yang diberikan pada mencit dapat memberikan efek diare. Penentuan volume pemberian minyak jarak pada mencit sesuai dengan penelitian Astuti *et al.* (2019) yaitu 0,75 mL. Setelah 1 jam induksi, minyak jarak mampu membuat

mencit diare dengan konsistensi feses lembek hingga berair yang berlangsung selama 6 jam. Oleh karena itu, volume minyak jarak yang digunakan untuk induksi mencit adalah 0,75 mL dengan waktu pengamatan hingga 7 jam.

b) Aklimatisasi Hewan Coba

Sebelum penelitian berlangsung, sebanyak 24 ekor mencit jantan galur BALB/c usia 1 sampai 1,5 bulan dengan rata-rata berat 20 – 30 g diadaptasikan selama 7 hari dengan tetap memperhatikan kebersihan kandang. Mencit diletakkan pada kandang individu ukuran 23,5 x 17,5 x 20 cm. Mencit dipuaskan 8 jam sebelum diberi perlakuan tetapi tetap diberikan minum (Sasongko *et al.*, 2016). Perhitungan mencit sebagai sampel hewan coba penelitian mengikuti rumus Federer (1991) berikut:

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

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

c) Penentuan Dosis Perlakuan

Formulasi dosis kelompok perlakuan ekstrak dikembangkan dari hasil terbaik penelitian Astuti *et al.* (2019) yaitu 400 mg/kgBB menjadi dosis untuk kelompok perlakuan ekstrak V, setengah dari dosis tersebut (200 mg/kgBB) menjadi dosis untuk perlakuan ekstrak IV, dan dosis untuk perlakuan ekstrak VI dinaikkan $\frac{1}{2} \times$ dosis (600 mg/kgBB). Formulasi dosis ditunjukkan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Formulasi dosis perlakuan Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Kelompok perlakuan	Dosis (mg/kgBB)	Volume Aquadest (mL)
IV	200	
V	400	2
VI	600	

Keterangan: volume aquadest diberikan untuk 4 ekor mencit.

d) Induksi Minyak jarak Pada Mencit

Tahap induksi dilakukan mengikuti prosedur Astuti *et al.* (2019) dan Puspitarini *et al.* (2019) berdasarkan masing-masing kelompok perlakuan kecuali kelompok I yang ditetapkan sebagai kontrol normal. Sebanyak 0,75 mL minyak jarak diinduksikan secara oral pada mencit agar mencit mengalami diare. Setelah 1 jam induksi, masing – masing diberikan perlakuan ekstrak dan loperamide sesuai kelompok perlakuannya kecuali kontrol negatif. Setiap 1 jam sekali dalam 7 jam, konsistensi feses, frekuensi diare, berat feses, *onset* diare, dan durasi diare diamati dan dicatat.

e) Pembuatan Suspensi Loperamide

Dosis obat loperamide yang lazim untuk manusia adalah 2 – 16 mg. Dosis yang dipilih untuk penelitian adalah 2 mg. Dosis loperamide yang diberikan ke manusia kemudian dikalikan faktor konversi 0,0026 untuk diberikan pada hewan coba mencit dengan berat badan 20 g, sehingga diperoleh hasil konversi 0,0052 mg (Stevani, 2016). Dosis untuk 30 g/BB mencit dihitung berdasarkan rumus berikut.

$$\text{Dosis konversi mencit } 20\text{g} = 2 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0052$$

$$\text{Dosis loperamide mencit } 30\text{g} = \frac{0,0052 \times 30}{20} = 0,0078 \text{ mg}$$

Dosis loperamide yang diberikan per 1 ekor mencit adalah 0,0078 mg dilarutkan menggunakan aquadest steril 0,5 mL (setengah volume maksimal pemberian peroral mencit).

f) Perlakuan Pada Mencit

Mencit dibagi secara acak menjadi 6 kelompok dan sebelum diberi perlakuan mencit ditimbang terlebih dahulu agar dosis yang diberikan tepat. Rata – rata berat mencit ditimbang setelah proses aklimatisasi adalah 30 g. Pembagian kelompok perlakuan ditunjukkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Kelompok Perlakuan Pada Mencit

Kelompok	Dosis	Keterangan
I kontrol normal	0,5 mL	Mencit tidak diinduksi dan diberi aquadest steril
II kontrol negatif	0,75 mL	Mencit diinduksi minyak jarak
III kontrol positif	2 mg/kgBB	Mencit diinduksi 0,75 mL minyak jarak dan diberi obat loperamide
IV EEHSL	200 mg/kgBB	Mencit diinduksi 0,75 mL minyak jarak dan diberi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit
V EEHSL	400 mg/kgBB	Mencit diinduksi 0,75 mL minyak jarak dan diberi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit
VI EEHSL	600 mg/kgBB	Mencit diinduksi 0,75 mL minyak jarak dan diberi Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Perhitungan dosis perlakuan menggunakan EEHSL sesuai berat mencit 30 g sebagai berikut.

- 1) Dosis 200 mg/kgBB

$$\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g} = 6 \text{ mg}$$

Setiap 1 ekor mencit dengan berat badan 30 g memerlukan 6 mg ekstrak herba sawi langit yang dilarutkan menggunakan aquadest steril 0,5 mL.

- 2) Dosis 400 mg/kgBB

$$\frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g} = 12 \text{ mg}$$

Setiap 1 ekor mencit dengan berat badan 30 g memerlukan 12 mg ekstrak herba sawi langit yang dilarutkan menggunakan aquadest steril 0,5 mL.

- 3) Dosis 600 mg/kgBB

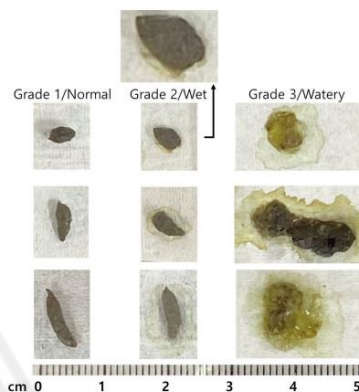
$$\frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 30 \text{ g} = 18 \text{ mg}$$

Setiap 1 ekor mencit dengan berat badan 30 g memerlukan 18 mg ekstrak herba sawi langit yang dilarutkan menggunakan aquadest steril 0,5 mL.

3.4.8 Pengumpulan dan Analisis Data

- 1) Pengumpulan data

Penentuan konsistensi feses ini diukur dari awal setelah diberi induksi hingga terjadinya diare yang setiap 1 jam sekali diamati dengan melihat bentuk feses mencit dari masing-masing kelompok perlakuan dan dilakukan penilaian. Penilaian ini mengacu pada nilai konsistensi feses (1 = normal, 2 = lembek, 3 = encer/berair) yang diukur berdasarkan diameter noda feses mencit pada kertas saring (Yim *et al.*, 2021). Kertas saring diganti setiap 1 jam sekali untuk memudahkan dalam melakukan penilaian (Haque *et al.*, 2013). Konsistensi feses mencit berdasarkan masing-masing nilainya ditunjukkan pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Nilai Konsistensi Feses (Yim *et al.*, 2021)

Kelompok nilai 1 adalah bentuk feses normal yang memiliki ukuran feses dengan diameter < 1 cm, Kelompok nilai 2 adalah bentuk feses basah yang memiliki ukuran feses dengan diameter 1 – 1,9 cm, Kelompok nilai 3 adalah bentuk feses berair yang memiliki ukuran feses diameter > 2 – 3 cm (Yim *et al.*, 2021). Pengumpulan data frekuensi, konsistensi, dan berat feses kemudian dihitung jumlah dan rata – rata \pm SD. Pengukuran % inhibisi defekasi feses dilihat dari frekuensi feses menggunakan rumus sebagai berikut (Tadesse *et al.*, 2017):

$$\% \text{ inhibisi defekasi feses} = \frac{M_0 - M}{M_0} \times 100\%$$

M_0 = rata – rata frekuensi defekasi feses perlakuan kontrol negatif

M = rata – rata frekuensi defekasi feses perlakuan obat

Nilai jumlah dan rata – rata konsistensi, frekuensi, *onset* diare dan durasi diare dihitung menggunakan rumus *Loose Stool Incidence Rate* (LSIR), *Average Loose Stool Grade* (ALSG), dan *Diarrhea Index* (DI) untuk mengetahui efek pencegahan ekstrak etanol seluruh bagian tanaman sawi langit terhadap diare pada mencit jantan. Hasil penilaian konsistensi feses dan frekuensi diare dimasukkan dalam penghitungan dengan rumus *Loose Stool Incidence Rate* (LSIR), atau *Average Loose Stool Grade* (ALSG). Nilai yang diperoleh dari rumus LSIR dan

ALSG digunakan untuk menghitung *Diarrhea Index* (DI). Berikut merupakan rumus perhitungan parameter LSIR, ALSG, dan DI (Hui *et al.*, 2013):

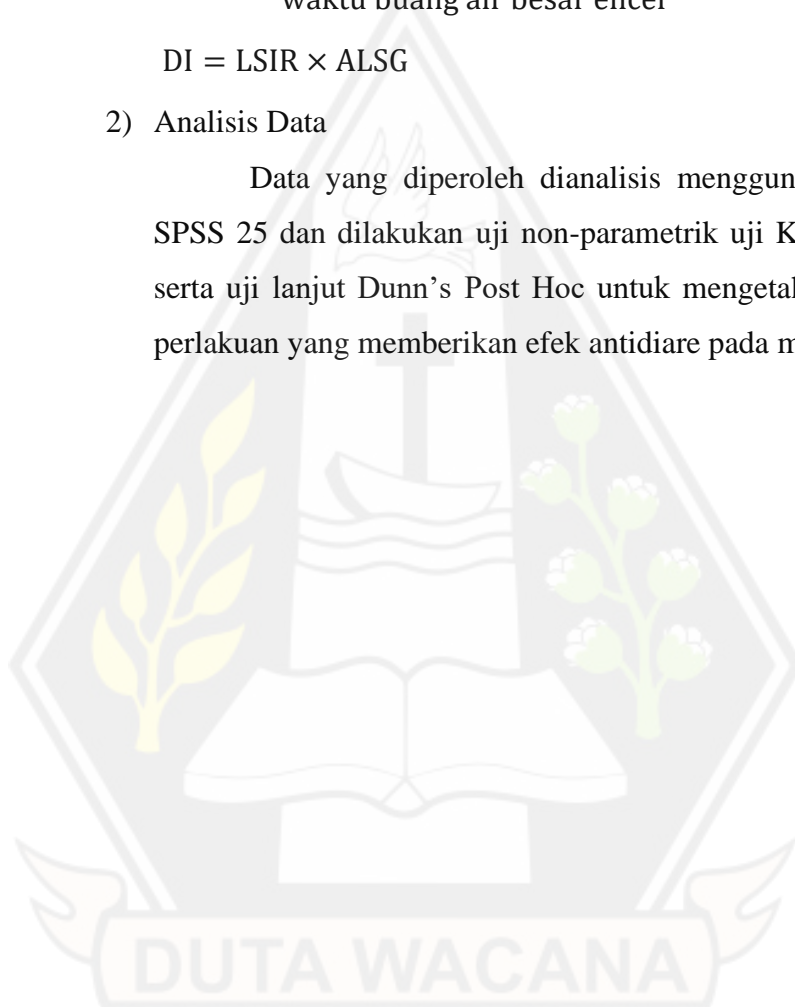
$$\text{LSIR} = \frac{\text{waktu buang air besar encer}}{\text{total waktu buang air besar}} \times 100\%$$

$$\text{ALSG} = \frac{\text{jumlah nilai grade feses encer}}{\text{waktu buang air besar encer}}$$

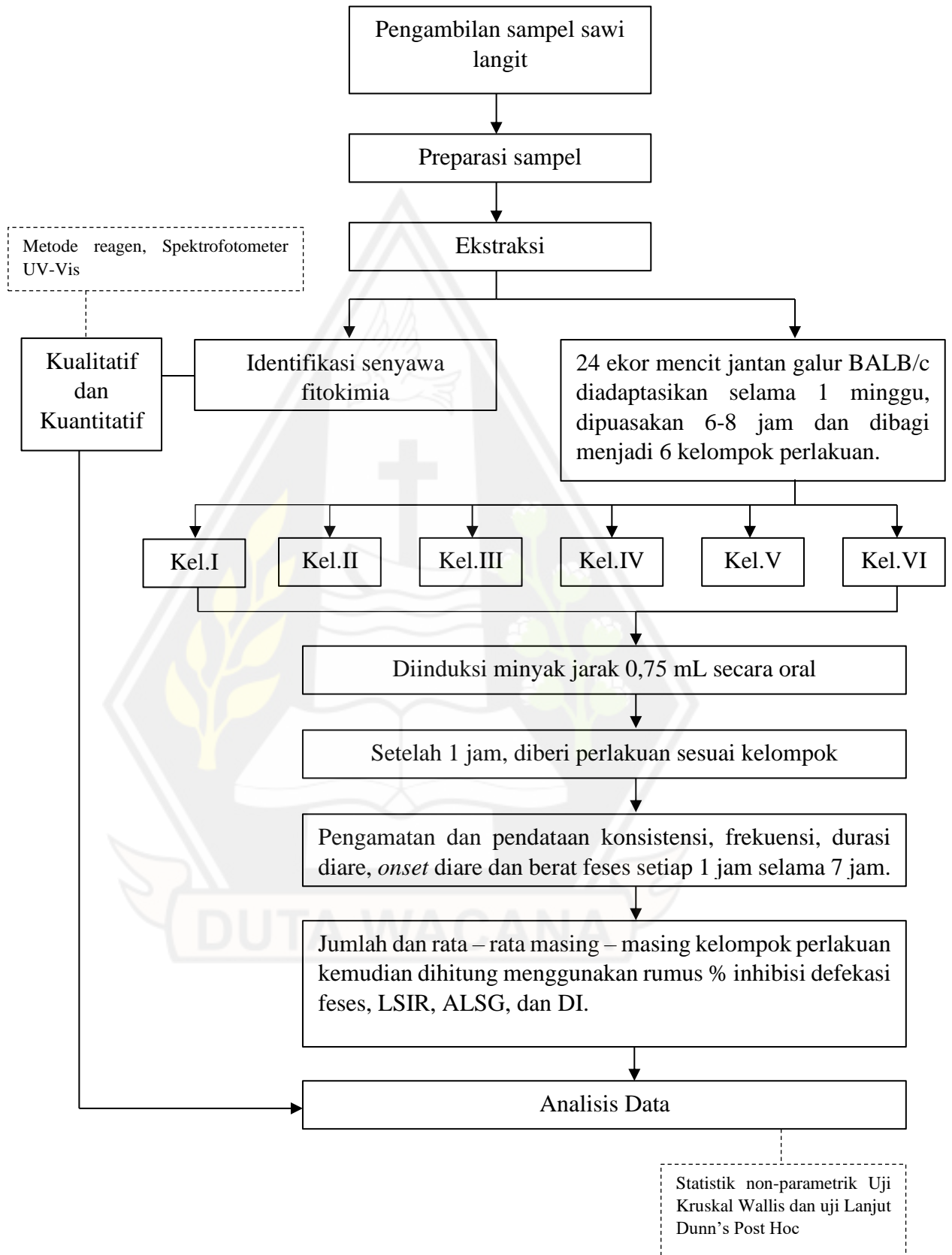
$$\text{DI} = \text{LSIR} \times \text{ALSG}$$

2) Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi SPSS 25 dan dilakukan uji non-parametrik uji Kruskal Wallis serta uji lanjut Dunn's Post Hoc untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memberikan efek antidiare pada mencit jantan.



3.4.9 Alur Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.)

Tanaman sawi langit mudah dijumpai di sekitar pekarangan rumah, pinggir jalan, maupun perkebunan. Tanaman sawi langit yang digunakan untuk penelitian diperoleh di sekitar pekarangan di Desa Pucanganom, Kecamatan Giritontro, Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah. Setelah dipanen, dilakukan determinasi pada sampel. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk memeriksa dan memastikan ciri – ciri morfologi tanaman sawi langit sebagai sampel penelitian, benar sesuai literatur sebelumnya (Mustariani, 2023). Hasil determinasi berdasarkan Surat Keterangan Nomor 0189/S.Tb./XII/2022 menunjukkan bahwa sampel tanaman merupakan tanaman Sawi Langit famili Asteraceae, genus *Cyanthillium*, jenis spesies *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. sinonim dari *Vernonia cinerea* (L.) Less.



Gambar 4.1 Bunga, daun, dan batang Sawi Langit (Dokumen pribadi, 27 Desember 2022)

Bagian tanaman sawi langit yang digunakan adalah seluruh bagian tanamannya. Daun, bunga, batang, dan akar pada tanaman memiliki senyawa fitokimia yang bermanfaat bagi internal tanaman dan bagi manusia. Seluruh bagian tanaman sawi langit meliputi daun, bunga, batang, dan akar digunakan

dalam penelitian dikarenakan bentuk tanaman sawi langit yang ramping dan sulit ditemukan dalam satu wilayah yang sama.



Gambar 4.2 Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (Dokumentasi pribadi, 5 April 2023)

Ekstraksi herba sawi langit menggunakan metode sokletasi. Sokletasi adalah pemisahan senyawa fitokimia tanaman menggunakan metode pemanasan yang memiliki prinsip kerja daur ulang solven atau penyaringan secara terus menerus tanpa mengganti atau menambah pelarut. Pada penelitian ini digunakan serbuk simplisia herba sawi langit sebanyak 625 g dan menghasilkan 81,7 g ekstrak kasar, sehingga diperoleh nilai rendemen 13,07% (Lampiran 12.). Pada penelitian Alara *et al.* (2018), hasil nilai rendemen ekstrak daun *Vernonia cinerea* adalah sebesar 10,01%. Nilai rendemen yang didapatkan tergolong tinggi jika dibandingkan hasil penelitian sebelumnya. Hasil penelitian berbeda dengan penelitian Roy *et al.* (2019) bahwa ekstrak seluruh bagian tanaman *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. yang diekstraksi secara sokletasi menggunakan etanol memberikan hasil nilai rendemen ekstrak sebesar 15,08%. Perbedaan tersebut dikarenakan faktor – faktor seperti bagian tanaman yang digunakan, suhu pemanasan, waktu pemanasan, siklus sokletasi, dan pelarut. Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit memberikan hasil nilai rendemen tertinggi dibandingkan ekstrak yang menggunakan daun *Vernonia cinerea* selaras pada penelitian sebelumnya. Adanya perbedaan penggunaan bagian tanaman mempengaruhi banyaknya senyawa fitokimia yang didapat karena pada penelitian ini menggunakan keseluruhan bagian sawi langit sehingga senyawa fitokimia yang dimungkinkan lebih kompleks. Suhu 40 – 50 °C yang digunakan

pada saat sokletasi mampu memfiltrasi senyawa fitokimia tanaman sawi langit dengan baik. Pemanasan pelarut pada proses ekstraksi memaksimalkan perpindahan senyawa fitokimia tanaman dan penyaringan yang dilakukan secara berulang yakni 2 – 3 siklus, sehingga diperoleh ekstrak yang banyak (Wijaya *et al.*, 2022). Faktor lainnya yaitu pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan adalah etanol konsentrasi 60% dengan perbandingan simplisia : pelarut 1 : 10 g/mL. Selaras dengan penelitian Alara *et al.* (2018) bahwa etanol 60% dengan lamanya waktu sokletasi 2 – 4 jam memberikan hasil nilai rendemen tertinggi, semakin banyak volume pelarut yang digunakan dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Simplisia yang dibungkus kertas saring terbasahi secara keseluruhan oleh pelarut sehingga proses penyarian dapat maksimal dan didapatkan ekstrak yang mengandung banyak senyawa fitokimia. Hal tersebut dikarenakan aquadest dan etanol menimbulkan proses difusi ke dalam sel simplisia sawi langit, sehingga pemanasan dapat berlangsung secara efektif dan memudahkan perpindahan senyawa fitokimia ke dalam pelarut (Sadeghi *et al.*, 2017).

4.2 Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Skrining fitokimia adalah tahap untuk mengidentifikasi kandungan senyawa fitokimia yang ada pada tanaman. Senyawa fitokimia pada tanaman berfungsi untuk perlindungan diri dan adaptasi tanaman sebagai suatu respon terhadap lingkungan sekitarnya serta memiliki efek farmakologi yang memiliki khasiat terapeutik (Julianto, 2019). Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif sampel ekstrak diuji menggunakan reagen, sehingga terjadi reaksi dan terbentuknya perubahan warna pada sampel ekstrak. Berdasarkan identifikasi fitokimia yang telah dilakukan, senyawa fitokimia yang teridentifikasi ditunjukkan pada Tabel 4.1. Tabel 4.1 menunjukkan bahwa Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit positif mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid. Perubahan warna menjadi merah bata pada uji flavonoid diduga karena dalam kondisi asam saat penambahan asam sulfat pekat, senyawa yang terkandung

pada ekstrak etanol herba sawi langit yaitu flavonol dan isoflavon tereduksi serta penambahan bubuk magnesium mampu mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid ekstrak herba sawi langit, sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah bata (Asih, 2009; Sangi *et al.*, 2008).

Tabel 4.1 Hasil Identifikasi Senyawa Fitokimia Secara Kualitatif EEHSL

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Reaksi	Kesimpulan
Flavonoid	H ₂ SO ₄ pekat, magnesium	Merah bata	+
Fenol	FeCl ₃ 2%, NaCl 10%	Hitam kebiruan	+
Tanin	FeCl ₃ 2%, NaCl 10%	Biru tua kehitaman	+
Saponin	Aquadest panas	Busa 1,5 cm dan stabil	+
Alkaloid	Reagen Wagner	Endapan kecoklatan	+
Triterpenoid	Klorofom, Asam	Biru kehijauan	-
Steroid	Asetat anhidrat, H ₂ SO ₄ pekat	Biru kehijauan	+

Keterangan: + terdapat senyawa fitokimia

- tidak terdapat senyawa fitokimia

Pada uji fenol dan tanin, perubahan warna yang terbentuk menjadi hitam kebiruan dan biru tua kehitaman diduga setelah penambahan FeCl₃ 2% memberikan reaksi pada salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol maupun tanin, sehingga terjadi perubahan warna tersebut (Sangi *et al.*, 2008). Pada uji saponin ditemukan busa setinggi 1,5 cm setelah direaksikan menggunakan aquadest panas. Hal tersebut dikarenakan saponin memiliki gugus hidrofilik yang dapat bereaksi dengan aquadest dan gugus hidrofobik yang bereaksi dengan udara hingga terbentuk busa. Sampel EEHSL bereaksi dengan aquadest panas sehingga timbulnya busa tersebut karena adanya

kandungan glikosida (Marliana *et al.*, 2005; Sari *et al.*, 2019). Pada uji alkaloid, hasil menunjukkan timbulnya endapan kecoklatan setelah ditambahkan pereaksi Wagner. Hal tersebut dikarenakan iodine pada kalium iodida pereaksi Wagner akan membentuk reaksi dengan I^- hingga menghasilkan I_3^- dan memberikan perubahan warna menjadi warna coklat. Ikatan kovalen koordinat akan terbentuk karena reaksi ion K^+ dengan nitrogen hingga terbentuk senyawa kompleks kalium alkaloid dan terbentuk endapan (Marliana *et al.*, 2005). Pada uji triterpenoid dan steroid, penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat memberikan perubahan warna pada steroid menjadi biru kehijauan. Pada uji triterpenoid tidak memberikan perubahan warna merah keunguan. Perubahan warna menjadi biru kehijauan dikarenakan terjadinya reaksi asetilasi gugus -OH pada senyawa steroid yang terdapat pada ekstrak etanol herba sawi langit (Robinson, 1995 dalam (Sulistyarini *et al.*, 2020).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya pada penelitian Latha *et al.* (1998) bahwa ekstrak herba *Vernonia cinerea* memiliki senyawa fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, steroid, protein, karbohidrat dan tanin. Berbeda dengan hasil penelitian, Haque *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak kulit batang dan daun *Vernonia cinerea* positif mengandung steroid, glikosida, ester dan triterpenoid. Senyawa fitokimia yang teridentifikasi tersebut berbeda dengan hasil penelitian. Kandungan senyawa fitokimia yang berbeda pada penelitian sebelumnya dipengaruhi faktor internal dan eksternal. Faktor internal dipengaruhi oleh faktor genetik tanaman, faktor eksternal dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang meliputi suhu, pH, kelembapan, ketinggian tanah, cahaya matahari dan lokasi tanaman. Selain kondisi lingkungan, beberapa faktor seperti metode ekstraksi, bagian sampel tanaman yang digunakan, pelarut, waktu dan suhu ekstraksi juga dapat memberikan pengaruh terhadap senyawa fitokimia pada ekstrak tanaman (Laily *et al.*, 2012; Sadeghi *et al.*, 2017). Selanjutnya, senyawa fitokimia flavonoid, tanin, dan saponin yang berperan penting dalam aktivitas antidiare diidentifikasi secara kuantitatif.

4.3 Total Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Senyawa yang diduga berperan sebagai antidiare adalah flavonoid, tanin, dan saponin. Skrining fitokimia secara kuantitatif perlu dilakukan untuk dapat mengetahui total kadar masing – masing senyawa. Flavonoid adalah salah satu senyawa fenolik terbanyak yang terdapat pada tanaman. Struktur flavonoid meliputi kalkon, flavon, flavonol, flavanon, antosianin, isoflavone dan lain sebagainya. Manfaat terapeutik flavonoid pada industri kosmetik berfungsi sebagai *antiaging*, pada kesehatan sebagai antikanker, antibakteri, antivirus, antimalaria, antioksidan, antitumor, dan antidiare (Danihelova *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2019; Zheng *et al.*, 2019 Kumar *et al.*, 2010).

Metode yang digunakan yaitu metode aluminium klorida 10% dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 416,5 nm. Standar pada penetapan total flavonoid menggunakan *quercetin*. *Quercetin* dipilih sebagai standar karena merupakan flavonoid alami yang berfungsi sebagai antioksidan dan banyak dijumpai pada tanaman seperti sayuran dan buah – buahan (Jaffe dan Mani, 2018). Konsentrasi kurva standar *quercetin* adalah 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm. Persamaan kurva standar *quercetin* yang diperoleh yaitu $y = 0,0057x + 0,1893$ dengan nilai korelasi $R^2 = 0,9829$. Hasil penetapan total kadar flavonoid ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Total Kadar Flavonoid EEHSL

Berat Sampel Ekstrak (g)	A416,5 nm	Total Kadar Flavonoid (mg QE/g)	Rata – Rata Total Kadar Flavonoid (mg QE/g) ± SD
0,05	0,884	121,877193	125,09 ± 6,983
	0,875	120,298246	
	0,948	133,105263	

Keterangan: QE = *Quercetin Equivalent*, SD = Standar Deviasi.

Prinsip metode ini yaitu terjadi reaksi aluminium klorida dan flavonoid yang ada pada EEHSL membentuk asam kompleks yang stabil dengan gugus keton C-4, gugus hidrosil C-3 atau C-5 flavon dan flavonoid. Aluminium klorida juga akan membentuk asam kompleks yang stabil dengan gugus

ortodihidroksil di cincin A dan cincin B senyawa flavonoid (Makuasa dan Ningsih, 2020). Hasil analisis total kadar flavonoid EEHSL menunjukkan bahwa kadar rata - rata 3 kali pengulangan sebesar $125,09 \pm 6,983$ mg QE/g ekstrak, artinya setiap 0,05 g EEHSL mengandung 125,09 mg senyawa flavonoid yang setara dengan pembanding *quercetin*. Total kadar flavonoid yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan penelitian Alara *et al.* (2018) total kadar flavonoid ekstrak daun *Vernonia cinerea* yang diekstraksi secara sokletasi sebesar $30,09 \pm 0,44$ mg QE/g. Perbedaan total kadar flavonoid tersebut dikarenakan adanya perbedaan bagian sampel tanaman yang digunakan, lokasi pengambilan sampel, faktor lingkungan seperti suhu dan kondisi tanah yang mempengaruhi produksi senyawa fitokimia pada tanaman sawi langit (Utomo *et al.*, 2020). Total flavonoid pada tanaman sawi langit dapat dijadikan sebagai kandidat antioksidan dan antidiare. Sumber antioksidan diperoleh dari senyawa polifenol yang ditemukan pada seluruh bagian tanaman seperti flavonoid (Sonibare *et al.*, 2016). Terjadinya reaksi gugus hidroksil dan cincin aromatik pada flavonoid ini dapat mengikat dan menangkal radikal bebas (Habiburrohmah dan Sukohar, 2018). Aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid dapat dimanfaatkan untuk mencegah diare. Flavonoid sebagai antidiare bekerja dengan menghambat terlepasnya asetilkolin dan saluran kalsium serta komponen enzim dalam sintesis prostaglandin pada saluran cerna, sehingga otot – otot lapisan mukosa saluran cerna tidak berkontraksi dan tidak terjadi peradangan (Lutterodt, 1989 dalam Anas *et al.*, 2012).

4.4 Total Kadar Tanin Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa polifenol sebagai bahan astrigen alami yang ditemukan di tanaman. Senyawa tanin biasanya digunakan oleh tanaman untuk pertahanan diri dari serangga, hama, bakteri, dan jamur (Pizzi, 2008; Julianto, 2019). Manfaat terapeutik tanin pada bidang kesehatan yaitu sebagai antibakteri, antivirus, antidiare (Kumar *et al.*, 2010). Senyawa tanin positif terdapat pada ekstrak etanol sawi langit, sehingga dilanjutkan penetapan total tanin ekstrak etanol herba sawi langit menggunakan metode

reagen Folin-Ciocalteu dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 760 nm. Standar pada penetapan total tanin menggunakan *tannic acid*. *Tannic acid* digunakan sebagai standar dalam penentuakadar tanin dikarenakan banyak ditemukan pada tanaman sebagai senyawa polifenol alami yang memiliki gugus hidroksi fenol dan gugus karboksil (Irianty dan Yenti, 2014). Konsentrasi kurva standar *tannic acid* adalah 250 ppm, 270 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm. Persamaan kurva standar *tannic acid* yang diperoleh adalah $y = 0,0006x + 0,0988$ dengan nilai korelasi $R^2 = 0,9951$. Mekanisme reaksi yang terbentuk antara senyawa tanin yang terdapat pada EEHSL dengan reagen Folin-Ciocalteu yaitu terjadinya reduksi oksidasi. Senyawa polifenol dapat bereaksi dengan reagen folin dalam keadaan basa sehingga terjadi reaksi gugus hidroksil senyawa polifenol dan ion fenolat akan mereduksi fosfomolibdat-fosfotungstat hingga membentuk senyawa kompleks molibdenumtungsten yang menimbulkan warna biru serta dapat dideteksi pada spektrofotometer UV-Vis (Ryanata, 2015).

Tabel 4.3 Total Kadar Tanin EEHSL

Berat Sampel Ekstrak (g)	A760 nm	Total Kadar Tanin (mg TAE/g)	Rata – Rata Total Kadar Tanin (mg TAE/g) \pm SD
0,01	0,329	383,666667	417 \pm 38,188
	0,344	408,666667	
	0,374	458,666667	

Keterangan: TAE = *Tannic Acid Equivalent*, SD = Standar Deviasi.

Hasil total tanin ditunjukkan pada Tabel 4.3 sebesar 417 mg TAE/g ekstrak yang artinya bahwa setiap 0,01 g EEHSL setara dengan 417 mg dengan pembanding *tannic acid*. Penelitian Nurhalimah *et al.* (2015) menggunakan ekstrak daun beluntas memperoleh kadar tanin sebesar 80329.58 ppm atau setara 80,329 mg TAE/g memberikan efek antidiare pada mencit jantan dengan dosis 600 mg/kgBB yang ditinjau dari kemampuan menurunkan konsistensi feses berair dan lembek serta mempercepat durasi diare. Hasil total kadar tanin herba sawi langit dimungkinkan memberikan aktivitas antidiare yang sama dengan pemberian ekstrak daun beluntas. Perbedaan banyaknya total kadar

tanin dipengaruhi ketersediaan kandungan senyawa fitokimia yang terbatas pada tanaman tertentu yang juga dipengaruhi oleh faktor bagian sampel yang digunakan, suhu pemanasan sokletasi, pelarut, dan kondisi geografis pengambilan sampel (Sadeghi *et al.*, 2017). Kadar total tanin sebagai salah satu senyawa polifenol dapat dikembangkan sebagai kandidat antioksidan dan antidiare (Sonibare *et al.*, 2016). Tanin termasuk senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Reaksi adanya gugus hidroksi fenolik pada struktur molekulnya dengan radikal bebas akan membentuk radikal baru yang terstabilisasi, sehingga potensi antioksidan ini dapat dimanfaatkan untuk mencegah diare (Tonahi *et al.*, 2014). Tanin memiliki sifat astrigen yang berperan dalam aktivitas antidiare yakni dengan melapisi lapisan mukosa saluran cerna sehingga meminimalisir terjadinya sekresi cairan dan elektrolit (Galves *et al.*, 1991; Ren *et al.*, 2012).

4.5 Total Kadar Saponin Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit

Saponin adalah senyawa glikosida alami yang bersifat non-*volatile* dan identik dengan busa yang banyak ditemukan pada tanaman. Saponin berperan sebagai bahan pengemulsi alami, penstabil, dan bahan detergen alami. Manfaat terapeutik saponin yaitu sebagai antikanker, antioksidan, memiliki aktivitas hepatoprotektif, antidiare serta terlibat dalam pengobatan penyakit seperti obesitas, osteoporosis, dan diabetes (Hierro *et al.*, 2018). Sebelumnya senyawa saponin telah teridentifikasi pada uji kualitatif, sehingga perlu ditentukan banyak senyawa saponin yang terdapat pada ekstrak etanol herba sawi langit dengan melakukan uji penetapan total kadar saponin. Penetapan total saponin ekstrak etanol herba sawi langit menggunakan metode reagen vanilin dan pengukuran nilai absorbansi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 544 nm. Standar penetapan total saponin menggunakan saponin. Konsentrasi kurva standar saponin adalah 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm, dan 40 ppm. Persamaan kurva standar saponin yang diperoleh adalah $y = 0,0022x + 0,1055$ dengan nilai korelasi $R^2 = 0,9829$.

Tabel 4.4 Total Kadar Saponin EEHSL

Berat Sampel Ekstrak (g)	A416,5 nm	Total Kadar Saponin (mg SE/g)	Rata – Rata Total Kadar Saponin (mg SE/g) \pm SD
0,01	0,152	21,1363636	24,45 \pm 3,674
	0,158	23,8636364	
	0,168	28,4090909	

Keterangan: SE = Saponin *Equivalent*, SD = Standar Deviasi.

Prinsip penetapan kadar saponin menggunakan reagen vanillin dan asam sulfat yaitu terjadinya reaksi oksidasi saponin triterpen yang ada pada ekstrak etanol herba sawi langit dan menimbulkan warna merah hingga ungu (Le *et al.*, 2018). Hasil total saponin ditunjukkan pada Tabel 4.4 sebesar 24,45 mg SE/g ekstrak yang artinya bahwa setiap 0,01 g ekstrak etanol herba sawi langit setara dengan 24,45 mg dengan pembanding saponin. Saponin berpotensi sebagai kandidat antibakteri, karena membentuk senyawa kompleks pada reaksi ikatan hidrogen dengan membran sel sehingga terjadi kerusakan struktur protein dan timbul kematian sel mikroba (Daffodil *et al.*, 2014; Haryati *et al.*, 2015). Aktivitas antibakteri ini dapat berpotensi untuk pencegahan diare yang disebabkan oleh bakteri contohnya *Escherichia coli*. Penelitian Handayani *et al.* (2020) melaporkan hasil kadar saponin ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebesar 6,367%. Perbedaan dengan hasil penelitian sebelumnya dimungkinkan karena keterbatasan kandungan senyawa fitokimia yang spesifik pada tanaman dengan famili atau genus tertentu, banyaknya kandungan senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak tanaman dipengaruhi oleh bagian sampel yang digunakan, metode ekstraksi, pelarut, dan faktor lingkungan seperti letak geografis, suhu, dan cahaya matahari (Hanani, 2014 dalam Handayani *et al.*, 2020).

4.6 Aktivitas Antidiare Pada Mencit

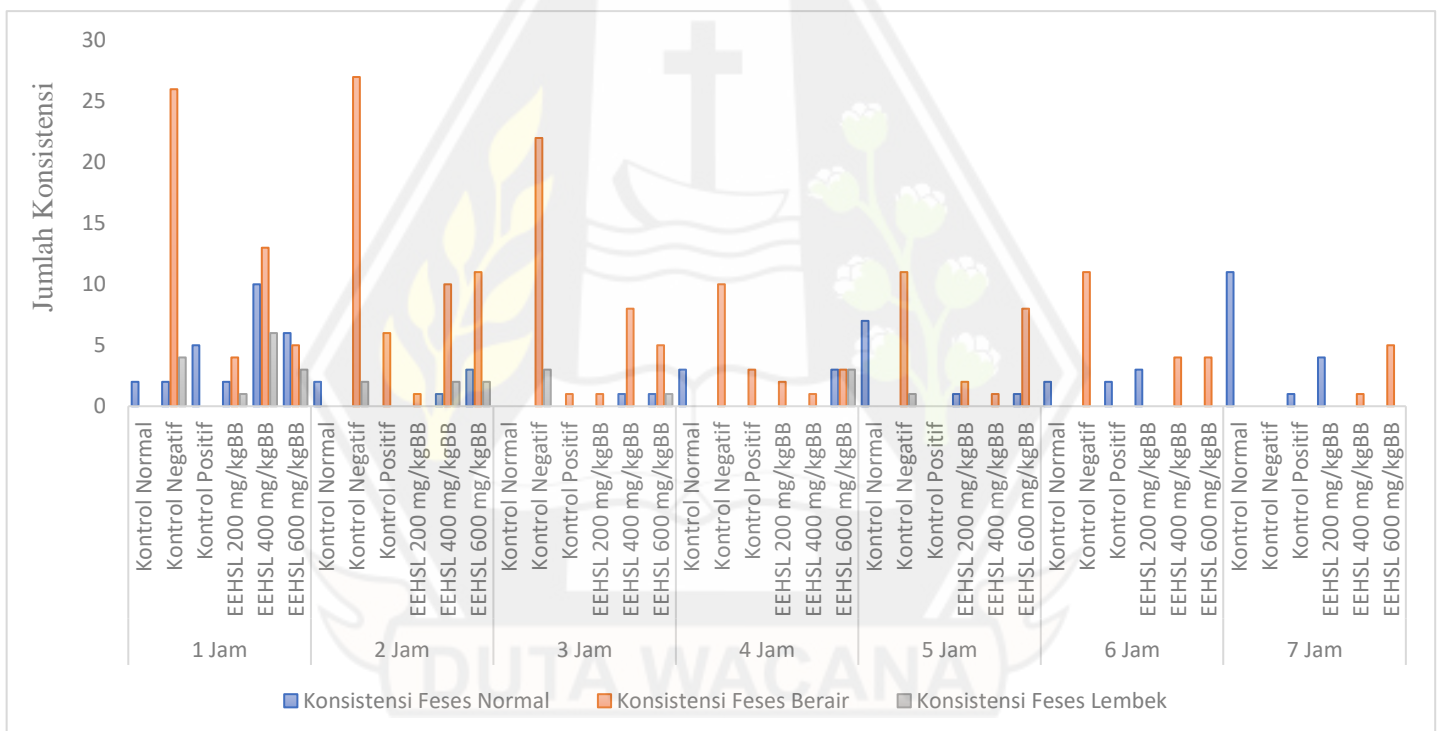
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antidiare dari penggunaan EEHSL. Hewan uji coba yang digunakan yaitu mencit jantan galur BALB/c. Kelebihan mencit sebagai hewan coba yaitu siklus

hidupnya pendek, penanganannya mudah, dan sifat serta karakteristik sistem reproduksi, pernapasan, dan peredaran darah mirip dengan manusia (Yusuf *et al.*, 2022). Penggunaan mencit jantan BALB/c pada penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta Nomor 1500/C.16/FK/2023. Evaluasi aktivitas antidiare EEHSL menggunakan mencit jantan diare yang diinduksi minyak jarak secara oral. Induksi minyak jarak merupakan metode proteksi yang mampu menimbulkan diare pada aktivitas antidiare. Asam risinoleat sebagai agen penyebab diare terhidrolisis dan melepaskan oksida nitrat serta terjadi sintesis prostaglandin, sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran gastrointestinal dan peningkatan motilitas usus (Zavala *et al.*, 1998). Pengadaptasian mencit dilakukan selama 2 minggu untuk mencegah mencit stress karena berada pada lingkungan baru agar menghasilkan data yang baik dan tidak bias. Selama masa aklimatisasi berat mencit ditimbang, penggantian alas dan pembersihan kandang dilakukan 2 hari sekali, suhu disesuaikan 22 – 27 °C dengan kelembapan sekitar 55% ± 15%, dan pemberian makan sebanyak 3-5g/hari/ekor mencit dan minum sebanyak 5-8 mL/hari/ekor mencit sesuai dengan Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian (2016).

Sebelum diberi induksi dan perlakuan, mencit dipuaskan selama 8 jam namun tetap diberi minum untuk memberikan ruang pada lambung mencit saat pemberian perlakuan (Dharmayanti *et al.*, 2020). Berat mencit ditimbang untuk dapat memberikan dosis yang tepat. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok masing – masing kelompok sebanyak 4 mencit, kemudian diinduksi menggunakan minyak jarak sebanyak 0,75 mL/ekor. Setelah 1 jam induksi, mencit diberi perlakuan sesuai pembagian kelompok. Penggunaan obat loperamide sebagai kontrol positif dikarenakan mampu meminimalisir motilitas pada saluran pencernaan dan meningkatkan daya serap cairan dan elektrolit saluran pencernaan yang diakibatkan oleh induksi minyak jarak (Amanda *et al.*, 2019). Aktivitas antidiare dari EEHSL ditentukan menggunakan parameter berat feses, frekuensi diare, onset diare, durasi diare, dan dievaluasi menggunakan *diarrhea*

index sesuai prosedur Astuti *et al.* (2019) dan Puspitasari *et al.* (2019) yang diamati setiap 1 jam sekali selama 7 jam.

Diare merupakan penyakit gangguan saluran pencernaan yang terjadi karena benda asing, agen iritan, bakteri, virus, dan parasit. Gejala diare ditandai dengan konsistensi feses berair, disertai nyeri, kembung, frekuensi buang air encer lebih dari 3 kali dalam sehari (Imanadhia *et al.*, 2019). Efek pencegahan diare oleh EEHSL akan meminimalisir iritasi dan peradangan pada lapisan mukosa saluran pencernaan akibat dari pemberian iritan minyak jarak. Asam risinoleat yang ada pada minyak jarak hanya akan memberikan tingkat keparahan peradangan yang rendah pada saluran pencernaan mencit (Anas *et al.*, 2016).



Gambar 4.3 Konsistensi Feses Pada Mencit

Keterangan : K.Normal (aquadest steril), K. negatif (0,75 mL minyak jarak), EEHSL 200 mg/kgBB (Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit 200 mg/kgBB), EEHSL 400 mg/kgBB (Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit 400 mg/kgBB), EEHSL 600 mg/kgBB (Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit)

Potensi antidiare EEHSL dilihat dari konsistensi feses mencit sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.3. Konsistensi feses berair dan lembek pada mencit muncul akibat induksi iritan minyak jarak pada mencit yang memberikan efek peradangan pada lapisan mukosa saluran pencernaan, sehingga penyerapan air dan elektrolit pada saluran pencernaan tidak optimal dan terjadi diare yang ditandai konsistensi feses berair dan lembek (Saranani dan Pusmarani, 2018). Konsistensi feses mencit (Gambar 4.3) pada pemberian EEHSL dosis 200 mg/kgBB dibandingkan dengan kontrol negatif memberikan efek penurunan diare yang ditandai dengan konsistensi feses yang dihasilkan normal dari jam ke 5 hingga jam ke 7. Hasil tersebut serupa dengan pemberian loperamide pada mencit yang ditandai penurunan konsistensi feses menjadi normal dari jam ke 5 hingga ke 7.

Tabel 4.5 Hasil Efek EEHSL terhadap Konsistensi Feses Mencit

Perlakuan	Konsistensi Feses Normal (skor)	Konsistensi Feses Lembek (skor)	Konsistensi Feses Berair (skor)
Kontrol Normal (tidak diare + 0,5 mL aquadest)	6,3 ± 3,304	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
Kontrol Negatif (0,75mL minyak jarak)	0,5 ± 0,577	1 ± 0,8 ^b	26,8 ± 4,787 ^b
Kontrol Positif (0,0078 mg/kgBB loperamide)	3,5 ± 5,196	0 ± 0 ^a	1,75 ± 2,362 ^a
EEHSL 200 mg/kgBB	2,5 ± 1,732*	0,3 ± 0,5 ^a	2,5 ± 3,785 ^a
EEHSL 400 mg/kgBB	3,5 ± 1,732*	2 ± 1,4 ^b	9,5 ± 5,446 ^b
EEHSL 600 mg/kgBB	3 ± 1,825*	2,3 ± 2,1 ^b	10,25 ± 5,678 ^b

Keterangan: * uji Kruskal Wallis, $p > 0,05$ terhadap konsistensi feses normal

^a uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol normal dan positif

^b uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol negatif

Konsistensi feses mencit pada pemberian dosis 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB konsistensi berair dari jam ke 1 hingga jam ke 7. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, perlakuan dosis 400 mg/kgBB tidak memberikan efek penurunan konsistensi feses yang sama dengan kontrol obat loperamide.

Kontrol negatif berhenti memberikan efek diare pada jam ke 6 diduga karena pengaruh metabolisme mencit, sehingga mencit mampu beradaptasi dengan iritan dan menimbulkan mekanisme penyembuhan. Selaras dengan penelitian Cappasso *et al.* (1998) menyatakan bahwa pemberian induksi pada tikus menggunakan minyak jarak tanpa perlakuan obat memberikan efek diare pada 1 jam hingga 6 jam dan kondisi dapat kembali normal 7 – 9 jam. Konsistensi feses perlakuan pemberian EEHSL dosis 600 mg/kgBB dibandingkan kontrol negatif menunjukkan konsistensi feses berair atau diare pada mencit yang terjadi dari 1 jam setelah induksi dan perlakuan ekstrak hingga jam ke 7. Apabila ditinjau berdasarkan nilai rata – rata kategori konsistensi feses normal pemberian EEHSL dosis 200, 400, dan 600 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif obat loperamide, sedangkan jika ditinjau dari nilai rata – rata pada kategori konsistensi feses berair pemberian EEHSL 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Selaras dengan penelitian Puspitaningrum *et al.* (2013) bahwa pada dosis terendah yakni 200 mg/kgBB mampu memberikan efek antidiare yang sebanding dengan loperamide. Hal tersebut dikarenakan mekanisme yang terjadi ketika pemberian loperamide menimbulkan penghambatan gerak peristaltik usus dan peningkatan viskositas, sehingga daya penyerapan cairan pada saluran pencernaan dapat berlangsung normal kembali dan ditandai dengan hasil konsistensi feses normal yang lebih tinggi dibandingkan berair dan lembek.

Nilai rata – rata konsistensi feses (Tabel 4.5) masing – masing kategori tiap – tiap kelompok perlakuan dianalisis menggunakan SPSS guna memperkuat hasil penurunan konsistensi feses yang telah ditinjau pada grafik (Gambar 4.7) menggunakan analisis non-parametrik yakni uji Kruskal Wallis. Lampiran 18. menunjukkan bahwa nilai konsistensi feses lembek dan berair (Asymp.Sig < 0,05) artinya terdapat pengaruh pemberian EEHSL terhadap konsistensi feses mencit yang signifikan, sehingga dilanjutkan uji lanjutan Dunn's Post Hoc untuk mengetahui perbedaan tiap – tiap dosis perlakuan EEHSL. Ditinjau dari konsistensi feses lembek hasil uji lanjut (Lampiran 19.), pemberian EEHSL dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan

kontrol normal, kontrol positif, dan kontrol negatif, sedangkan pemberian EEHSL dosis 400 dan 600 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol negatif dan berbeda nyata ($p<0,05$) dengan kontrol positif dan normal. Pada hasil kategori konsistensi feses berair, pemberian EEHSL dosis 200, 400, dan 600 mg/kgBB menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol positif, artinya ketiga dosis tersebut memberikan efek antidiare yang sama dan sebanding dengan loperamide. Akan tetapi, EEHSL dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol normal dan berbeda nyata ($p<0,05$) dengan kontrol negatif. Berbeda dengan hasil kategori konsistensi feses normal (Asymp.Sig. $> 0,05$) artinya terdapat pengaruh pemberian EEHSL terhadap konsistensi feses menciit namun tidak signifikan. Penyerapan optimal EEHSL dosis 200 mg/kgBB yang ditandai dengan konsistensi feses dari berair berangsur normal. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ganesh *et al.* (2011) bahwa dosis ekstrak *Vernonia cinerea* 100 dan 200 mg/kgBB secara signifikan mengurangi konsistensi feses lembek dan berair pada tikus betina. Pemberian dosis tinggi EEHSL memberikan konsistensi feses berair yang tinggi, sehingga dapat dinyatakan bahwa dosis tinggi EEHSL belum mampu mengembalikan konsistensi feses menjadi normal. Hal itu juga dimungkinkan pemberian ekstrak dalam dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efek sinergisme yang maksimal pada metabolisme menciit. Hasil konsistensi feses menciit berkaitan dengan berat feses yang dihasilkan. Berat feses pada menciit ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Efek EEHSL terhadap Rata – Rata Berat Feses Menciit

Perlakuan	Dosis (mL) (mg/kgBB)	Berat (g) \pm SD
Kontrol Normal (Aquadest)	0,5	0,065 \pm 0,076 ^a
Kontrol Negatif (Minyak Jarak)	0,75	1,335 \pm 0,794 ^b
Kontrol Positif (Loperamide)	0,0078	0,098 \pm 0,128 ^a
Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	200	0,115 \pm 0,145 ^a
	400	0,993 \pm 0,235 ^b
	600	0,518 \pm 0,225 ^{ab}

Keterangan: ^a uji Dunn's Post Hoc, $p>0,05$ terhadap kontrol normal dan positif

^b uji Dunn's Post Hoc, $p>0,05$ terhadap kontrol negatif

^{ab} terletak pada kelompok ^a dan ^b

Hasil penelitian menunjukkan nilai rata – rata berat feses pada perlakuan pemberian EEHSL 200 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan pemberian obat loperamide, sementara pada perlakuan EEHSL 400 mg/kgBB dan EEHSL 600 mg/kgBB rata – rata nilai berat fesesnya berbeda signifikan dengan kontrol positif serta tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif. Kemampuan EEHSL dalam mengurangi berat feses berair dan lembek pada mencit diperkuat dengan hasil analisis statistik. Berdasarkan hasil analisis statistik uji Kruskal-Wallis nilai Asymp.Sig. < 0,05 (Lampiran 22.) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian EEHSL terhadap berat feses mencit, sehingga dilanjutkan uji lanjutan Dunn's Post Hoc untuk mengetahui dosis perlakuan EEHSL yang optimal sebagai antidiare pada mencit. Hasil analisa uji Dunn's Post Hoc (Lampiran 23.) menunjukkan bahwa perlakuan EEHSL dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif serta tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol positif dan kontrol normal. Pada pemberian EEHSL dosis 400 mg/kgBB tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol negatif dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kontrol normal dan kontrol positif. Sementara pemberian EEHSL dosis 600 mg/kgBB tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol positif dan kontrol normal, tetapi juga tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol negatif. Konsistensi feses mencit berangsur normal setelah diberi EEHSL dosis 200 mg/kgBB, sehingga berat feses yang diperoleh semakin ringan (Sugipratiwi *et al.*, 2016). Pemberian dosis 400 dan 600 mg/kgBB belum mampu membuktikan dalam mengurangi berat feses berair dan lembek pada mencit karena tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

Onset diare menggambarkan waktu pertama terjadinya diare yang ditandai dengan munculnya feses dengan konsistensi berair dan lembek yang dihitung setelah diberi induksi minyak jarak dan setelah 1 jam diberi perlakuan obat serta EEHSL. Aktivitas antidiare oleh EEHSL dimungkinkan akan memberikan penghambatan *onset* diare. Semakin lama *onset* diare maka semakin memberikan penghambatan gejala buang air besar berair pada mencit. Tabel 4.7 menunjukkan rata – rata *onset* diare pemberian EEHSL 400 dan 600

mg/kgBB memberikan waktu pertama kali diare berturut – turut 41,75 dan 37,5 menit, munculnya diare lebih lama dibandingkan kontrol negatif dan rata – rata *onset* mendekati kontrol positif.

Tabel 4.7 Hasil Efek EEHSL terhadap Rata – Rata *Onset* Diare Mencit

Perlakuan	Dosis (mL) (mg/kgBB)	Rata-rata (menit) ± SD
Kontrol Normal (Aquadest)	0,5	0 ± 0
Kontrol Negatif (Minyak Jarak)	0,75	41,3 ± 9,9
Kontrol Positif (Loperamide)	0,0078	42,5 ± 49,2
Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit	200	11,3 ± 22,5*
(<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	400	41,8 ± 7,1*
	600	37,5 ± 26,4*

Keterangan: * uji Kruskal Wallis, $p > 0,05$ terhadap *onset* diare

Pemberian EEHSL dosis 200 mg/kgBB memberikan *onset* diare yakni 11,25 menit yang berbeda signifikan dengan kontrol positif. Kemampuan dalam memperlambat terjadinya diare pada mencit pemberian EEHSL dosis 400 mg/kgBB dibandingkan dosis 600 mg/kgBB berbeda tetapi tidak signifikan. Hasil tersebut berbeda dengan hasil penelitian Manek *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa dosis 400 mg/kgBB ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) memberikan efek penghambatan diare yang optimal dengan dosis tertinggi tersebut, sehingga semakin tinggi dosis ekstrak maka semakin tinggi pula efek penghambatan diare. Kemampuan memperlambat *onset* diare EEHSL diperkuat dengan hasil analisis menggunakan aplikasi SPSS uji Kruskal Wallis. Pada hasil (Lampiran 30.) analisis statistik menunjukkan bahwa EEHSL berpengaruh terhadap *onset* diare mencit jantan tetapi tidak signifikan (Asymp.Sig. > 0,05), sehingga tidak dilanjutkan uji Dunn's Post Hoc. Hal tersebut diperkuat dengan uji Independent-Sampel Kruskal Wallis (Lampiran 31.) yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pemberian EEHSL dosis 200, 400, 600 mg/kgBB dengan kontrol normal, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kemampuan penghambatan terjadinya diare yang ditinjau dari hasil nilai rata – rata dan analisis statistik *onset* diare menyatakan bahwa pemberian EEHSL dosis 200, 400, dan 600 mg/kgBB belum mampu menghambat terjadinya diare. Berbeda dengan penelitian Ganesh *et al.* (2011)

yang melaporkan bahwa dosis 200 mg/kgBB ekstrak seluruh bagian *Vernonia cinerea* (sinonim dari *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) memberikan efek penghambatan diare pada mencit betina yang optimal sebagai dosis ekstrak tertinggi onset diare yang dihasilkan yakni $230,6 \pm 6,89$ menit. Efek penghambatan diare EEHSL pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dikarenakan lokasi geografis pengambilan sampel yang berbeda. Oleh karena itu, perlu ditinjau hasil data durasi diare, frekuensi, dan *Diarrhea Index* pada mencit untuk melihat efek antidiare pada mencit.

Durasi terjadinya diare mengindikasikan kemampuan EEHSL dalam menghentikan efek diare pada mencit. Menurut Tabel 4.8 hasil durasi diare ini menunjukkan bahwa EEHSL dosis 200 mg/kgBB menunjukkan durasi diare yang berbeda nyata tetapi tidak signifikan dengan kontrol positif, sedangkan durasi diare pada pemberian EEHSL dosis 400 dan 600 mg/kgBB berlangsung lebih lama dari pada kontrol positif obat loperamide dan tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif. Kemampuan mempersingkat durasi diare pada mencit diperkuat dengan hasil analisis statistik menggunakan aplikasi SPSS.

Tabel 4.8 Hasil Efek EEHSL terhadap Rata – Rata Durasi Diare Mencit

Perlakuan	Dosis (mL) (mg/kgBB)	Rata-rata (menit) \pm SD
Kontrol Normal (Aquadest)	0,5	0 ± 0^a
Kontrol Negatif (Minyak Jarak)	0,75	$327 \pm 27,2^b$
Kontrol Positif (Loperamide)	0,0078	$77,5 \pm 104,0^a$
Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	200	$63,8 \pm 127,5^a$
	400	$183,3 \pm 59,3^{ab}$
	600	$233,5 \pm 51,5^a$

Keterangan: ^a uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol normal dan positif

^b uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol negatif

^{ab} terletak pada kelompok ^a dan ^b

Durasi terjadinya diare mengindikasikan kemampuan EEHSL dalam menghentikan efek diare pada mencit. Menurut Tabel 4.8 hasil durasi diare ini menunjukkan bahwa EEHSL dosis 200 mg/kgBB menunjukkan durasi diare yang berbeda nyata tetapi tidak signifikan dengan kontrol positif, sedangkan durasi diare pada pemberian EEHSL dosis 400 dan 600 mg/kgBB berlangsung

lebih lama dari pada kontrol positif obat loperamide dan tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif. Kemampuan mempersingkat durasi diare pada mencit diperkuat dengan hasil analisis statistik menggunakan aplikasi SPSS. Analisis statistik yakni uji Kruskal Wallis yang telah dilakukan (Lampiran 34.) menunjukkan bahwa EEHSL berpengaruh terhadap durasi diare pada mencit (Asymp.Sig.< 0,05), sehingga dilakukan uji lanjutan menggunakan Uji Dunn's Post Hoc Test (Lampiran 35.) yang memperlihatkan bahwa EEHSL 200 mg/kgBB berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif dan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kontrol positif dan kontrol normal, sehingga artinya EEHSL 200 mg/kgBB memiliki kemampuan mempercepat waktu berhentinya diare serupa dengan obat loperamide. Hal tersebut berbeda dengan pemberian EEHSL 400 mg/kgBB yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kontrol negatif dan kontrol positif dan kontrol normal, sedangkan pemberian dosis 600 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kontrol negatif serta berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol normal dan kontrol positif sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian dosis 400 dan 600 mg/kgBB memiliki efek yang belum mampu mempersingkat durasi diare pada mencit. Berbeda dengan hasil yang dilaporkan pada penelitian Puspitaningrum *et al.* (2013) bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun mimba semakin mempersingkat durasi diare pada mencit (*Azadirachta indica* Juss). Hasil tersebut sama dengan hasil pada parameter konsistensi feses sebelumnya bahwa dosis 200 mg/kgBB dibandingkan dosis 400 dan 600 mg/kgBB memberikan efek antidiare yang ditinjau dari kemampuan mempersingkat durasi diare. Parameter frekuensi diare pada mencit akan memperlihatkan kemampuan dari EEHSL sebagai antidiare berdasarkan pada rata – rata frekuensi diare mencit yang diamati setiap 1 jam sekali selama 7 jam. Hasil data rata – rata frekuensi diare pada mencit ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 4.9 rata – rata frekuensi diare pada mencit menunjukkan bahwa EEHSL dosis 200 mg/kgBB memberikan hasil rata – rata frekuensi diare dan % inhibisi defekasi feses sebesar 87,5% yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif yakni 90,27%, sedangkan pemberian EEHSL 400 dan 600

mg/kgBB rata – rata frekuensi diarenya mendekati kontrol negatif dan persentase inhibisi defekasi feses berturut – turut sebesar 58,33% dan 44,44%.

Efek antidiare dengan pemberian EEHSL dalam meminimalisir frekuensi diare diperkuat dengan hasil analisis statistik menggunakan uji Kruskal Wallis (Lampiran 26.) yang menyatakan bahwa (Asymp.Sig. < 0,05) pemberian EEHSL berpengaruh terhadap frekuensi diare mencingit. Berdasarkan hasil uji lanjut Dunn's Post Hoc Test (Lampiran 27.), EEHSL dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol normal dan kontrol positif serta berbeda nyata ($p<0,05$) dengan kontrol negatif. Sementara, pada pemberian EEHSL dosis 400 dan 600 mg/kgBB saling tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dan tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan kontrol negatif serta berbeda nyata ($p<0,05$) dengan kontrol positif.

Tabel 4.9 Hasil Efek EEHSL terhadap Rata – Rata Frekuensi Diare Mencingit

Perlakuan	Dosis (mg/kgBB)	Frekuensi (kali) \pm SD	% Inhibisi Defekasi Feses
Kontrol Normal (Aquadest)	-	0 \pm 0 ^a	0
Kontrol Negatif (Minyak Jarak)		18 \pm 7,8 ^b	0
Kontrol Positif (Loperamide)	2	1,8 \pm 3,5 ^a	90,3
Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	200	2,3 \pm 4,5 ^a	87,5
	400	7,5 \pm 2,1 ^{ab}	58,3
	600	10 \pm 5,4 ^a	44,4

Keterangan: ^a uji Dunn's Post Hoc, $p>0,05$ terhadap kontrol normal dan positif

^b uji Dunn's Post Hoc, $p>0,05$ terhadap kontrol negatif

^{ab} terletak pada kelompok ^a dan ^b

Melalui hasil rata – rata frekuensi diare pada mencingit, % inhibisi defekasi feses, dan diperkuat dengan hasil analisis statistik uji lanjut Dunn's Post Hoc dinyatakan bahwa pemberian EEHSL 200 mg/kgBB merupakan dosis yang optimal memberikan efek antidiare dengan mekanisme meminimalisir frekuensi diare yang sama dengan loperamide sedangkan pemberian EEHSL 400 dan 600 mg/kgBB belum mampu menghambat diare pada mencingit. Menurut Amanda *et al.* (2019) apabila diperoleh hasil frekuensi defekasi yang lebih besar maka efek

penghambatan diare akan semakin rendah. Selaras dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa EEHSL dosis 400 dan 600 mg/kgBB efek penghambatan diare yang rendah. Hal tersebut diduga efek sinergisme EEHSL yang maksimal dan mampu diserap optimal pada metabolisme mencit adalah dosis terendah yakni 200 mg/kgBB. Hasil data onset dan durasi diare, konsistensi feses, dan frekuensi diare dievaluasi menggunakan *Diarrhea Index* untuk memperkuat dalam menentukan pemberian dosis EEHSL yang optimal memberikan pengaruh antidiare pada mencit jantan.

Hasil evaluasi efek antidiare EEHSL pada mencit ditunjukkan pada Tabel 4.10. Efek antidiare EEHSL yang dievaluasi menggunakan indeks diare ini memberikan hasil yang dinilai objektif dan komprehensif karena menilai dari parameter frekuensi, *onset* diare, durasi diare, dan konsistensi feses (Hui *et al.*, 2013). Dilihat dari hasil perhitungan DI dosis terendah EEHSL yaitu 200 mg/kgBB mampu mengurangi tingkat kejadian diare dan indeks diare akibat diinduksi 0,75 mL minyak jarak karena nilai DI mendekati kontrol positif.

Tabel 4.10 Hasil Efek EEHSL untuk Pencegahan Diare Pada Mencit

Perlakuan	Dosis (mg/kg BB)	LSIR (<i>Loose Stool Incidence Rate</i>)	ALSG (<i>Average Loose Stool Grade</i>)	DI (<i>Diarrhea Index</i>)
Kontrol normal (Aquadest)	0,5 mL	0	0	0 ^a
Kontrol negatif (minyak jarak)	0,75 mL	12,61	0,50	6,31 ^b
Kontrol positif (Loperamide)	0,0078	54,84	0,04	2,19 ^a
Ekstrak Etanol	200	4,41	0,05	3,53 ^a
Herba Sawi Langit (<i>Cyanthillium cinereum</i> (L.) H. Rob.)	400	22,78	0,23	5,24 ^b
	600	11,71	0,35	4,10 ^b

Keterangan: ^a uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol normal dan positif

^b uji Dunn's Post Hoc, $p > 0,05$ terhadap kontrol negatif

Mekanisme ekstrak dan obat loperamide menimbulkan reaksi pada otot – otot saluran pencernaan, meminimalisir peristaltik, melindungi lapisan

mukosa saluran pencernaan sehingga penyerapan air dan elektrolit dapat berlangsung normal, dan meminimalisir kehilangan cairan dan elektrolit pada saluran pencernaan (Tjay dan Rahardja, 2007 dalam Puspitaningrum et al., 2013). Hal tersebut juga dipengaruhi oleh senyawa fitokimia EEHSL yang memberikan efek antidiare merupakan senyawa yang telah teridentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif. Hal tersebut diperkuat dengan analisis statistik menggunakan Kruskal Wallis (Lampiran 38.) bahwa terdapat pengaruh (Asymp.Sig. < 0,05) pemberian EEHSL terhadap indeks diare (*Diarrhea Index* "DI). Hasil tersebut diperjelas kembali menggunakan uji lanjut yaitu uji Dunn's Post Hoc Test (Lampiran 39.) yang menunjukkan bahwa dosis terendah (EEHSL 200 mg/kgBB) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kontrol normal dan kontrol positif serta berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif. Berbeda dengan pemberian EEHSL dosis 400 mg/kgBB menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol normal dan kontrol positif, sedangkan pemberian dosis 600 mg/kgBB tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) kontrol negatif dan kontrol positif serta berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol normal.

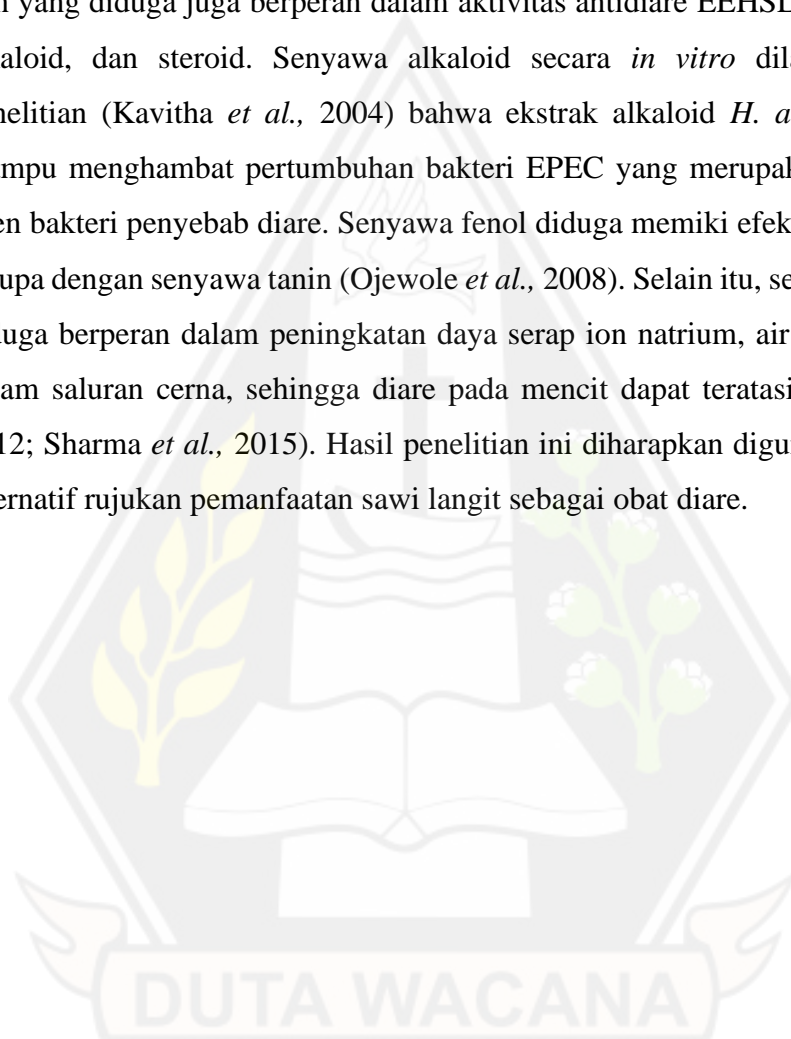
Diare pada mencit yang disebabkan oleh induksi 0,75 mL minyak jarak terjadi karena senyawa aktif minyak jarak yaitu asam risinoleat yang memberikan rangsangan pada aktivitas peristaltik usus kecil sehingga menimbulkan perubahan permeabilitas elektrolit lapisan mukosa. Pelepasan asam risinoleat oleh enzim lipase pada saluran cerna akan mengiritasi lapisan mukosa, sehingga menimbulkan peradangan dan terjadi pelepasan prostaglandin yang menimbulkan sekresi gastrointestinal, motilitas usus, permeabilitas epitel dan edema (Galvez *et al.*, 1991; Abubakar *et al.*, 2015). Interaksi komponen senyawa aktif yang kompleks pada obat komersial maupun obat herbal memberikan efek sinergis atau efek antagonis (Syahrir *et al.*, 2016). Pemberian dosis terendah (200 mg/kgBB) EEHSL memberikan nilai *Diarrhea Index* (DI) yang lebih rendah dibandingkan variasi dosis 400 dan 600 mg/kgBB dalam mengurangi tingkat kejadian diare. Hal tersebut dikarenakan sinergisme komposisi senyawa fitokimia yang kompleks bagian daun, bunga, batang, dan

akar pada EEHSL dosis 200 mg/kgBB mencapai efek antidiare yang maksimal pada mencit daripada variasi dosis tinggi (400 dan 600 mg/kgBB).

Senyawa fitokimia pada EEHSL memberikan efek klinis pencegahan diare pada mencit. Tanin diduga menjadi senyawa utama pada aktivitas antidiare EEHSL yang setara dengan pembanding *tannic acid* ditunjukkan melalui hasil total kadar tanin. Kadar total tanin yang diperoleh lebih tinggi daripada kandungan total kadar flavonoid dan saponin pada ekstrak. Tanin memiliki sifat astrigent pada mekanisme antidiare. Pada saluran pencernaan, tanin akan menjaga dan melindungi lapisan permeabilitas usus dengan meningkatkan kekebalan lapisan mukosa saluran cerna, sehingga meminimalisir terjadinya sekresi cairan atau elektrolit yang dikeluarkan dalam saluran pencernaan (Galvez *et al.*, 1991; Ren *et al.*, 2012). Pada penelitian Yu *et al.* (2020) melaporkan bahwa *tannic acid* mencegah diare pasca penyapihan anak babi yang ditinjau dari integritas dan fungsi *barrier* usus. *Tannic acid* mampu mencegah bakteri patogen, toksin, dan benda asing yang berbahaya masuk melalui jaringan lapisan mukosa saluran cerna sehingga peradangan dapat diminimalisir.

Flavonoid merupakan senyawa yang banyak ditemukan di setiap tanaman. Pada EEHSL memiliki kadar total flavonoid yang dihasilkan lebih tinggi dari penelitian lain sebagaimana telah dijelaskan sebelumnya. Tingginya kadar flavonoid sebagai kandidat antioksidan inilah yang memberikan kontribusi efek antidiare. Golongan flavonoid yang diduga berperan dalam mekanisme antidiare yaitu *quercetin*. *Quercetin* memiliki khasiat terapeutik yang mampu menghambat pelepasan asetilkolin pada ileum serta menghambat saluran kalsium dan sistem komponen enzim dalam sintesis prostaglandin, sehingga diare dapat diatasi (Lutterodt, 1989 dalam Anas *et al.*, 2012). Mekanisme tersebut memiliki kemiripan dengan efek antidiare pada ekstrak *Psidium guajava* yang sampai saat ini dipercaya sebagai pengobatan herbal pada kasus penyakit diare (Fратиwi, 2015). Berbeda dengan hasil penelitian Aminu *et al.* (2012), total flavonoid ekstrak kulit batang *Psidium guajava* lebih rendah yaitu $0,43 \pm 0,05$ gQE/100g dibandingkan total kadar flavonoid EEHSL.

Saponin menjadi senyawa ketiga yang berkontribusi terhadap aktivitas antidiare pada EEHSL. Secara *in vitro* dan *in vivo* dilaporkan bahwa senyawa saponin berperan dalam penghambatan pelepasan histamin sebagai pemicu daya serap cairan pada saluran cerna menurun akibat pemberian induksi iritan minyak jarak (Rao dan Gurfinkel, 2000; Anas *et al.*, 2012). Senyawa fitokimia lain yang diduga juga berperan dalam aktivitas antidiare EEHSL adalah fenol, alkaloid, dan steroid. Senyawa alkaloid secara *in vitro* dilaporkan pada penelitian (Kavitha *et al.*, 2004) bahwa ekstrak alkaloid *H. antidysenterica* mampu menghambat pertumbuhan bakteri EPEC yang merupakan salah satu agen bakteri penyebab diare. Senyawa fenol diduga memiliki efek astrigen yang serupa dengan senyawa tanin (Ojewole *et al.*, 2008). Selain itu, senyawa steroid diduga berperan dalam peningkatan daya serap ion natrium, air dan elektrolit dalam saluran cerna, sehingga diare pada mencit dapat teratasi (Anas *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2015). Hasil penelitian ini diharapkan digunakan sebagai alternatif rujukan pemanfaatan sawi langit sebagai obat diare.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Mengacu pada hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1 Senyawa fitokimia pada EEHSL (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etanol 60% yang teridentifikasi adalah flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, fenol, dan steroid.
- 5.1.2 Kandungan total kadar flavonoid, tanin, dan saponin pada EEHSL (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) berturut – turut sebesar 125,09 mgQE/g, 417 mgTAE/g, dan 24,45 mgSE/g ekstrak kasar.
- 5.1.3 Ditinjau dari hasil parameter berat feses, konsistensi feses, durasi diare, frekuensi diare, dan *Diarrhea Index* bahwa Ekstrak Etanol Herba Sawi Langit (*Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob.) yang diberikan pada mencit jantan (*Mus musculus*) dengan waktu pengamatan 7 jam dapat memberikan pengaruh antidiare dengan dosis optimal yakni 200 mg/kg BB.

5.2 Saran

Mengacu pada hasil pembahasan dan kesimpulan, rekomendasi saran penelitian selanjutnya:

- 5.2.1 Dapat dilanjutkan analisis senyawa fitokimia flavonoid, tanin, dan saponin yang lebih spesifik berperan sebagai antidiare seperti GC-MS atau LC-MS.
- 5.2.2 Perlu dilakukan uji lanjutan seperti uji histopatologi usus untuk mengetahui tingkat keparahan diare dan efek pencegahan diare melalui preparat histopatologi lapisan mukosa usus.

- 5.2.3 Dapat melakukan penelitian lebih lanjut tentang studi toksisitas ekstrak.
- 5.2.4 Perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan metode evaluasi antidiare yang berbeda seperti uji transit intestinal.
- 5.2.5 Penggunaan metode induksi diare yang berbeda seperti induksi menggunakan bakteri *Escherichia coli*.



DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, K., Abubakar, M., Ugwah-Oguejiofor, J., Muhammad, A., Usman, M., & Mshelia, H. (2015). Antidiarrhoeal activity of the saponin and flavonoid fractions of *Anarcadium occidentale* leaves in albino rats. *Advancement in Medicinal Plant Research Vol. 3(1)*, 23-28.
- Ahmad, M., Ibrahim, W., Sazali, J., Izhah, I., & Hassan, Z. (2020). Thermal Process of Castor and Plant Based Oil. *Indones. J. Chem. 20 (1)*, 237-247 DOI: 10.22146/ijc.39711.
- Akel, T., & Bekheit, S. (2018). Loperamide cardiotoxicity: "A Brief Review". *Annals of Noninvasive Electrocardiology 23(2)*, 1-4.
- Alara, O., Abdurahman, N., & Ukaegbu, C. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 11*, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>
- Alara, O., Abdurahman, N., & Ukaegbu, C. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 11*, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>
- Alara, O., Abdurahman, N., Ukaegbu, C., Azhari, N., & Kabbashi, N. (2018). Metabolic profiling of flavonoids, saponins, alkaloids, and terpenoids in the extract from *Vernonia cinerea* leaf using LC-Q-TOF-MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 1-10. DOI:10.1080/10826076.2018.1511995.
- Alara, O., Abdurahman, N., Ukaegbu, C., & Kabbashi, N. (2019). Extraction and Characterization of Bioactive Compounds in *Vernonia amygdalina* Leaf Ethanolic Extract Comparing Soxhlet and Microwave-assisted Extraction Techniques. *Journal of Taibah University For Science Vol. 13, No. 1*, 414-422.
- Amin, L. Z. (2015). Tatalaksana Diare AKut. *Continuing Medical Education 230/Vol. 42, No. 7*, 504-508. <http://www.cdkjournal.com/index.php/CDK/article/viewFile/986/711>.
- Amanda, N., Mulqie, L., & Fitriainingsih, S. (2019). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terhadap Mencit Swiss Webster Jantan. *Prosiding Farmasi Vol. 5, No. 2*, 154-161.
- Anas, Y., Fithria, R., Purnamasari, Y., Ningsih, K., Noviantoro, A., & Suharjono. (2012). Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba petandra* L. Gaern.) Pada Mencit Jantan Galur Balb/C. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik Vol. 9, No. 2*, 16-22.

- Anas, Y., Hidayati, D., Kuriasih, A., & Sanjaya, L. (2016). Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Dan Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* Wild.) Pada Mencit Jantan Galur BALB/c. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik Vol.13, No. 1*, 33-41.
- Ariyanti, R., Wahyuningtyas, N., & Wahyuni, A. S. 2007. Pengaruh Pemeberian Infusa Daun Salam Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Mencit Putih Jantan Yang Di Induksi Dengan Potassium Oksanat. *Jurnal, pharmacon*, Vol. 8 (20).
- Asih, I. (2009). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia 3(1)*, 33-40.
- Astuti, K., Wulandari, L., & Susiani, E. (2019). Antidiarrheal Activity of Ethanolic Extract Of *Vernonia amygdalina* Del Leaves Againts Male Mice Induced By Oleum ricini. *Borneo Journal of Pharmacy, Volume 2 Issue 1*, 10-14.
- Atmaja, C. (2022, Maret 12). *Cyanthillium cinereum* (L.) H.Rob. Retrieved from GBIF-Global Biodiversity Information Facility: <https://www.gbif.org/occurrence/3743134483> diakses pada Jumat, 17 Februari 2023.
- Berry, P. E. (1996). *Ricinus communis* L. . Retrieved from ITIS: Integrated Taxonomic Information System-Report: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=28393#null diakses pada Selasa 21 Februari 2023.
- Burgers, K., Lindberg, B., & Bevis, Z. (2020). Chronic Diarrhea in Adults: Evaluation and Differential Diagnosis. *American Family Physician Vol. 101, No. 8*, 472-480.
- Capasso, F., Mascolo, N., Izzo, A., & Gaginella, T. (1994). Dissociation of castor oil-induced diarrhoea, and intestinal mucosal injury in rat: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester. *Br. J. Pharmacol. 113*, 1127-1130.
- Chea A, Hout S, Long C, Marcourt L, Faure R, Azas N, Elias R. 2006. Antimalarial activity of sesquiterpene lactones from *Vernonia cinerea*. *Chem Pharm Bull. 54*:1437– 1439
- Chen, H., Xiao, H., & Pang, J. (2020). Parameter Optimization and Potential Bioactivity Evaluation of a Betulin Extract from White Birch Bark. *Plants*, 9(3), 392.
- Chandra, S., Das, A., Samanta, J., Ray, T., & Mukherjee, L. (2019). Putative Role of Ethanolic Extract of *Vernonia cinerea* in the Amelioration of Chemotherapy Induced Neuropathic Pain in Mice. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics 9 (3-s)*, 621-628.
- Chassany, O., Michaux, A., & Bergmann, J. (2000). Drug-Induced Diarrhoea. *Drug Safety 22(1)*, 53-72.

- Collantes, L. J. (2022, Januari 14). *Cyanthillium cinereum (L.) H. Rob.* Retrieved from GBIF-Global Biodiversity Information Facility: <https://www.gbif.org/occurrence/3456289550> diakses pada Jumat, 17 Februari 2023.
- Danihelova, M., Viskupičová, J., & Šturdík, E. (2012). Lipophilization of flavonoids for their food, therapeutic and cosmetic applications. *Acta Chimica Slovaca, Vol. 5, No. 1*, 59-69.
- Dass, K. (2022, Januari 11). *Cyanthillium cinereum (L.) H. Rob.* Retrieved from Global Biodiversity Information Facility: <https://www.gbif.org/occurrence/3465943685> diakses pada Jumat, 17 Februari 2023.
- Daffodil, E., Lincy, P., & Mohan, V. (2014). Pharmacochemical Characterization, FT-IR and Antibacterial Activity of *Vernonia cinerea* Less. . *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 5(3), 239-249.
- Dharmayanti, L., Aji, N., & Handayani, S. (2020). Uji Efektivitas Antidiare Ekstrak Etanol Umbi Ganyong (*Canna edulis* Ker) Terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Pharmacy, Vol. 7, No. 1*, 89-98.
- Dogra, N., & Kumar, S. (2015). A review on ethno-medicinal uses and pharmacology of *Vernonia cinerea* Less. *Natural Product Research* Vol. 29, No. 12, 1102-1103. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.981814>.
- Eggleston, W., Palmer, R., Dubé, P.-A., Thornton, S., Stolbach, A., Calello, D., & Marraffa, J. (2019). Loperamide toxicity: recommendations for patient monitoring and management. *Clinical Toxicology*, 1-5. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1681443>.
- Etim, E., Udobre, A., Udoh, A., & Eduoku, E. (2015). Evaluation of the antioxidant property of *Vernonia cinerea* (L.) Less (Asteraceae) using 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazine (DPPH) Assay Method. *The Pharma Innovation Journal* 4(6), 10-14.
- Fan, S., Yang, G., Zhang, J., Li, J., & Bai, B. (2020). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Using Response Surface Methodology for Simultaneous Quantitation of Six Flavonoids in Flos Sophorae Immaturus and Antioxidant Activity. *Molecules*, 25(8), 1767.
- Fransworth, N. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. 55, No. 3, 225-276 DOI: 10.1002/jps.2600550302.
- Fратиwi, Y. (2015). The Potential of Guava Leaf (*Psidium guajava* L.) For Diarrhea. *Journal Majority* Vol. 4, No. 1, 113-118.

- Galvez, J., Zarzuelo, A., Crespo, M., Utrilla, M., & Jimenez, J. (1991). Antidiarrhoeic Activity of *Sclerocarya birrea* Bark Extract and its Active Tannin Constituent in Rats. *Phytotherapy Research Vol. 5*, 276-278.
- Ganesh, P., Kumar, K., & Kumar, H. (2011). Antidiarrhoeal Activity Of Methanolic Extract Of *Vernonia cinerea* (L.) Less On Female Albino Rats. *International Research Journal of Pharmacy 2(5)*, 211-213.
- Guha G, Rajkumar V, Kumar A, Mathew L. 2011. Therapeutic potential of polar and non-polar extracts of *Cyanthillium cinereum* in vitro. *Evid Based Complement Altern Med.* 2011:1–10.
- Habiburrohman, D., & Sukohar, A. (2018). Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia pada Polifenol Teh Hijau. *J Agromedicine Unila Vol. 5, No. 2*, 587-591.
- Hakim, A., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika Vol. 6, No. 1*, 177-180.
- Han, X., Pang, Y., Liu, S., Tan, Z., Tang, S., Zhou, C., . . . Xiao, W. (2014). Antidiarrhea and Antioxidant Activities of Honokiol Extract from *Magnoliae officinalis* cortex in Mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research 13 (10)*, 1643-1651.
- Handa, S., Khanuja, S., Longo, G., & Rakesh, D. (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: ICS UNIDO.
- Handayani, T., Yusuf, Y., & Tandi, J. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia, 6(3)*, 230-238.
- Haresmita, P., & Pradani, M. (2022). Penetapan Kadar Total Flavonoid Dalam Jamu "X" Dengan Metode Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Vol. 8, No. 2*, 155-161.
- Haque, M., Hassan, M., Das, A., Begum, B., Ali, M., & Morshed, H. (2012). Phytochemical investigation of *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (06)*, 79-83.
- Haryati, N., Saleh, C., & Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman Vol. 13, No. 1*, 35-40.
- Haque, M., Hassan, M., Das, A., Begum, B., Ali, M., & Morshed, H. (2012). Phytochemical investigation of *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (06)*, 79-83.
- Haque, M., Abdullah, C., Romana, B., Rafique, M., Zia-ul-Huda, G., Hossain, S., & Begum, B. (2013). Evaluation of anti-diarrheal and anti-diabetic activities

of the stem, barks and leaves of the plant *Vernonia cinerea* (Family: Asteraceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 3 (01)*, 69-72. DOI: 10.7324/JAPS.2013.30113.

- Harbone, J. B. (1996). *Metode fitokimia : penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hierro, J., Herrera, T., Fornari, T., Reglero, G., & Martin, D. (2018). The gastrointestinal behavior of saponins and its significance for their bioavailability and bioactivities. *Journal of Functional Foods* 40, 484-497.
- Hui, H., Chen, M., Li, G., Feng, H., Zang, L., Xi, Y., . . . Zhou, X. (2013). Andrographolide Attenuates Senna- and Castor Oil-Induced Diarrhea in Mice. *Latin American Journal of Pharmacy* 32(8), 1113-1117.
- Imanadhia, A., Ranuh, I., & Nuswantoro, D. (2019). Etiology Based on Clinical Manifestation of Acute Diarrhea Incidence of Children Hospitalized in Dr.oetomo General Hospital Surabaya Period 2011-2013. *Biomolecular And Health Science Journal Vol. 02 (01)*, 31-35.
- Irianty, R., & Yenti, S. (2014). Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Tanin Pada Sokletasi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *SAGU Vol. 13, No. 1*, 1-7.
- ITIS. (2022, Mei 9). *ITIS*. Retrieved from Integrated Taxonomic Information System-Report: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=565115#null diakses pada Senin, 13 Februari 2023.
- Jaffe, R., & Mani, J. (2018). Polyphenolics Evoke Healing Responses: Clinical Evidence and Role of Predictive Biomarkers. *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*, 403-413.
- Jiménez-Moreno, N., Volpe, F., Moler, J. A., Esparza, I., & Ancín-Azpilicueta, C. (2019). Impact of Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Grape Stem Extracts. *Antioxidants*, 8(12), 597.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Kavitha, D., Shilpa, P., & Devaraj, S. (2004). Antibacterial and Antidiarrhoeal Effect of Alkaloid of *Holarrhena antidysenterica* WALL. *Indian Journal of Experimental Biology Vol. 42* , 589-594.
- Khairunnisa. (2021). *Penetapan Kadar Fenolik dan Tanin Total dan Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Jamur Merang (Volvariella volvacea Bull.) Dengan Metode DPPH*. Makasar: UIN Alauddin Makassar.
- Khay M, Toeng P, Mahiou-Leddet V, Mabrouki F, Sothea K, Ollivier E, Elias R, Bun SS. 2012. HPLC analysis and cytotoxic activity of *Vernonia cinerea*. *Nat Prod Commun.* 7(10):1259–1262.

- Kirtikar KR, Basu BD. 1993. Indian medicinal plants. Allahabad: Lalit Mohan Basu.
- Konaté, K., Yomalan, K., Sytar, O., & Brestic, M. (2015). Antidiarrheal and antimicrobial profiles extracts of the leaves from *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5(3), 242-248. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30012-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30012-5).
- Kumar, R., Sharma, R., Bairwa, K., Roy, R., & Kumar, A. (2010). Pharmacological review on natural antidiarrhoeal agents. *Der Pharma Chemica* 2(2), 66-93.
- Kuo, Y.-H., Kuo, Y.-J., Yu, A.-S., Wu, M.-D., Ong, C.-W., Yang Kuo, L.-M., . . . Li, S.-Y. (2003). Two Novel Sesquiterpene Lactones, Cytotoxic Vernolide-A and -B, from *Vernonia cinerea*. *Chem. Pharm. Bull.* 51(4), 425-426.
- Laily, A., Suranto, & Sugiyarto. (2012). Characterization of *Carica pubescens* in Dieng Plateau, Central Java based on morphological characters, antioxidant capacity, and protein banding pattern. *Nusantara Bioscience Vol. 4, No. 1*, 16-21.
- Le, A., Parks, S., Nguyen, M., & Roach, P. (2018). Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. *Technologies* 6(3), 84, 1-12.
- Legorreta-Herrera, M. et al. 2018. 'Sex-Associated differential mRNA expression of cytokines and its regulation by sex steroids in different brain regions in a plasmodium berghei ANKA model of Cerebral Malaria', *Mediators of Inflammation*.
- Lin KW. 2005. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Jah Hut peoples in Malaysia. *Indian J Med Sci.* 59(4):156–161.
- Linnaeus. (2022, Mei 31). *ITIS*. Retrieved from ITIS : Integrated Taxonomic Information System - Report: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180366#null.
- Liu, E., & Fan, J. (2018). *Fundamentals of Laboratory Animal Science*. London: CRC Press.
- Lutterodt, G. D. (1989). Inhibition of Gastrointestinal Release of Acetylcholine by Quercetin as A Possible Mode of Action of *Psidium guajava* Leaf Extracts in The Treatment of Acute Diarrhoeal Disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 25 , 235-247.
- Mahbubah, Fitriainsih, S., & Choesrina, R. (2020). Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) terhadap Mencit Swiss Webster Jantan. *Prosiding Farmasi Vol. 6, No. 1*, 128-134.
- Makkar, H., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). *Plant Secondary Metabolites*. New Jersey: Humana Press.

- Makuasa, D., & Ningsih, P. (2020). Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Sepctrofotometry Methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education* Vol. 2, No. 1, 11-17.
- Manek, M., Klau, M., & Beama, C. (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* Vol. 3, No. 2, 147-151.
- Marliana, S., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3(1), 26-31.
- Marlinda, M., Sangi, M., & Wuntu, A. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) . *Jurnal MIPA Unsrat Online* 1(1), 24-28.
- Meriatna, Maulida, L., Khalil, M., & Zulmiardi. (2015). Pengaruh Temperatur Pengeringan Dan Konsentrasi Asam Sitrat Pada Pembuatan Silika Gel Dari Sekam Padi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 4:1, 78-88.
- Misra, T., Singh, R., Upadhyay, J., & Srivastava, R. (1984). Chemical Constituents Of *Vernonia cinerea*, Part I. Isolation And Spectral Studies Of Triterpenes . *Journal of Natural Products* Vol. 47. No. 2, 368-372.
- Musdja, Y., & Azrifitria. (2007). *Farmakoterapi Saluran Cerna*. Jakarta: UIN Jakarta Press.
- Mustariani, B. A. (2023). *Ragam Bioaktivitas Kombinasi Tanaman Kelor: Ekstraksi, Fitokimia, dan Antibakterinya*. Yogyakarta: Samudra Biru.
- Nadkarni KM. 1954. Indian materia medica with ayurvedic unani-tibbi, siddha, allopathic, homeopathic, naturopathic and home remedies, Popular Prakashan, Mumbai, India. Bombay: Popular Prakashan; p. 122.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 71420, Loperamide hydrochloride. Retrieved May 13, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Loperamide-hydrochloride>.
- Nurhalimah, H., Wijayanti, N., & Widyaningsih, T. (2015). Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No. 3., 1083-1094.
- Nwaogaranya, U., & Mbaekwe, E. (2015). Some Aspects of the Biology of *Vernonia cinerea* (Linn.) Less. in AwkaTown, Anambra State, Nigeria. *International Journal of Scientific and Research Publications* Volume 5, Issue 9, 1-5.

- Ojewole, J., Awe, E., & Chiwororo, W. (2008). Antidiarrhoeal activity of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rodents. *Journal of Smooth Muscle Research* 44(6), 195-207.
- Pertanian, B. P. (2016). *Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Pizzi, A. (2008). Tannins: Major Sources, Properties, and Applications. *Monomers, Polymers, and Composite from Renewable Resources*, 179-199.
- Puspitaningrum, I., Wahyu, A., & Suwarni. (2013). Uji Anti Diare Infusa Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss. *Media Farmasi Indonesia Vol 8 No 2*, 596-599.
- Puspitarini, P., Pratama, I., & Suryadi, B. (2019). Anti-Diarrheal Activity Of Aqueous Extract Of Nagasari Flowers (*Mesua ferrea* L.) In BALB/c Mice Induced By *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 50-55. <http://dx.doi.org/10.24071/jpsc.001814>.
- Putra, D., Oenzil, F., Darwin, E., Bachtiar, H., & Tofrizal. (2020). Glutamine Supplementation Effects on Reducing Inflammation in The Ileum of Acute and Chronic Diarrhea Rats Induced by Enteropathogenic *Escherichia coli*. *The Indonesian Biomedical Journal, Vol.12, No.3*, 276.
- Rao, A., & Gurfinkel, D. (2000). The Bioactivity of Saponins: Triterpenoid and Steroidal Glycosides. *Drug Metabolism and Drug Interactions* 17, 1-4.
- Ren, A., Zhang, W., Thomas, H., Barish, A., Berry, S., Kiel, J., & Naren, A. (2012). A Tannic Acid-based Medical Food, Cesinex®, Exhibits Broad spectrum Antidiarrheal Properties: a Mechanistic and Clinical Study. *Dig Dis Sci* 57(1), 99-108.
- RI, K. K. (2011). *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan Situasi Diare di Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Roy, S., Madhu, K., & Krishna, J. (2019). Pharmacognostical and Phytochemical Evaluation Of The Drug Sahadevi (*Cyanthillium Cinereum* (L.) H. Rob.). *International Journal of Ayurveda and Pharma Research Vol. 7, Issue 9*, 19-27.
- Ryanata, E. (2015). Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Kulit Buah Pisang Masak (*Musa paradisiaca* L.) Secara Spektrofotometri dan Permanganometri. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol.4 No.1*, 1-16.
- Sadeghi, A., Hakimzadeh, V., & Karimifar, B. (2017). Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Food: A Review. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 7(1), 19-27.

- Sangi, M., Runtuwene, M., Simbala, H., & Makang, V. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog. Vol. 1, No. 1*, 47-53.
- Sapale, S., Vaidya, V., Mangaonkar, M., & Shah, W. (2020). Phytochemical Screening of *Vernonia cinerea* Linn. Whole Plant Using HPTLC. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas In Education* 6(6), 273-278.
- Saranani, S., & Pusmarani, J. (2018). Aktivitas Antidiare Buah Okra (*Abelmoschus Esculentus* L.) Pada Mencit Yang Diinduksi Oleum Ricini. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, Vol 4.No.2*, 102-108.
- Sari, A., Fikri, M., & Febrianti, D. (2019). Pengukuran Rendemen dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun Terap (*Atocarpus odoratissimus* Blanco) Dengan Variasi Pelarut. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia* 2(2), 231-240.
- Sasongko, H., Sugiyarto, Farida, Y., Efendi, N., Pratiwi, D., Setyawan, A., & Widiyani, T. (2016). Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica pubescens*) Secara In Vivo. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 01, 83-89.
- Schiller, L., Ana, C., Morawski, S., & Fordtran, J. (1984). Mechanism of the Antidiarrheal Effect of Loperamide. *Gastroenterology Vol. 86. No. 6*, 1475-1480.
- Setyawati, T., Narulita, S., Bahri, I. P., & Raharjo, G. T. (2015). *A Guide Book to Invasive Alien Plant Species in Indonesia*. Bogor: Research, Development and Innovation Agency. Ministry of Environment and Forestry.
- Sharma, V., & Agarwal, A. (2015). Physicochemical and Antioxidant Assays of Methanol and Hydromethanol Extract of Ariel Parts of *Indigofera tinctoria* Linn. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 77(6), 729-734.
- Sonibare, M., Aremu, O., & Okorie, P. (2016). Antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions of *Vernonia cinerea* (L.) Less leaf extract. *African Health Sciences Vol 16 Issue 2*, 629-639.
- Statistik, B. P. (2022, Maret 23). *Jumlah Kasus Penyakit*. Retrieved from Badan Pusat Statistik: <https://www.bps.go.id/indicator/30/42/2/jumlah-kasus-penyakit.html>.
- Stevani, H. (2016). *Praktikum Farmakologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Sudrajad, H. (2004). Pengaruh Ketebalan Irisan dan Lama Perebusan (Blanching) Terhadap Gambaran Makroskopis dan Kadar Minyak Atsiri *Simplisia Dringo (Acorus calamus L.)*. *Media Litbang Kesehatan Volume XIV No. 4*, 41-44.

- Sulistiyarini, I., Sari, D., & Wicaksono, T. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta Vol. 5, No. 1*, 56-62.
- Sulaiman, C., Ramesh, P., Mahesh, K., Anandan, E., Praveen, M., & Balachandran, I. (2021). Metabolite profiling of *Cyanthillium cinereum* (L.) H. Rob. and its herbal formulation by tandem mass spectroscopic analysis. *Natural Product Research*, 2. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1869972>.
- Syahrir, N., Afendi, F., & Susetyo, B. (2016). Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring Dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia 1(1)*, 35-46.
- Tadesse, E., Engidawork, E., Nedi, T., & Mengistu, G. (2017). Evaluation of the anti-diarrheal activity of the aqueous stem extract of *Lantana camara* Linn (Verbenaceae) in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine (17)*:190, 1-8.
- Tariq A, Sadia S, Pan K, Ullah I, Mussarat S, Sun F, Abiodun OO, Batbaatar A, Li Z, Song D1, et al. 2017. A systematic review on ethnomedicines of anti-cancer plants. *Phytother Res*. 31(2): 202–264.
- Tonahi, J., Nuryanti, S., & Suherman. (2014). Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). *J. Akad. Kim.* 3(3), 158-164.
- Thobari, J., Sutarman, Mulyadi, A., Watts, E., Carvalho, N., Debellut, F., . . . Bines, J. (2022). Direct and indirect costs of acute diarrhea in children under five years of age in Indonesia: Health facilities and community survey. *The Lancet Regional Health - Western Pacific, Vol. 19*, 1-13.
- Utomo, D., Kristiani, E., & Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma Vol. 22, No. 2*, 143-149.
- Wakhidah, A., & Pradana, D. (2017). Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Oleh Masyarakat Desa Tuada, Kecamatan Jailolo, Halmahera Barat. *Jurnal Pro-Life Vol. 4, No. 1*, 275-286 <https://doi.org/10.33541/jpvol6Iss2pp102>.
- Wijaya, H., Jubaidah, S., & Rukayyah. (2022). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokhletasi Terhadap Rendemen Ekstrak Batang Turi (*Sesbania Grandiflora* L.). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 1-11.
- Yim, S., Kim, S., & Lee, S. (2021). Efficient Stool Collection Methods for Evaluating the Diarrhea Score in Mouse Diarrhea Models. *In Vivo 35*, 2115-2125. doi:10.21873/invivo.12481.
- Youn, U., Park, E.-J., Kondratyuk, T., Simmons, C., Borris, R., Tanamatayarat, P., . . . Chang, L. (2012). Anti-inflammatory sesquiterpene lactones from the flower of *Vernonia cinerea*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 22*, 5559. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.07.010>.

- Yu, J., Song, Y., Yu, B., He, J., Zheng, P., Mao, X., . . . Chen, D. (2020). Tannic Acid Prevents Post-Weaning Diarrhea by Improving Intestinal Barrier Integrity and Function in Weaned Piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 11:87, 1-11.
- Yusuf, M., Al-Gizar, M., Rorrong, Y., Badaring, D., Aswanti, H., Ayu, S., . . . Arisma, W. (2022). *Teknik Manajemen dan Pengelolaan Hewan Percobaan*. Makasar: Jurusan Biologi FMIPA UNM.
- Zavala MA, Perez S, Perez C, Vargas R, Perez RM. (1998). Antidiarrhoeal activity of *Waltheria americana*, *Commelina coelestis* and *Alternanthera repens*. *J. Ethnopharmacol*, 61 (1), 41–47.
- Zhao, L., Yuan, X., Wang, J., Feng, Y., Ji, F., Li, Z., & Bian, J. (2019). A review on flavones targeting serine/threonine protein kinases for potential anticancer drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 27, 677-685.
- Zheng, Y.-Z., Deng, G., Guo, R., Fu, Z.-M., & Chen, D.-F. (2019). The influence of the H5···O]C4 intramolecular hydrogen-bond (IHB) on the antioxidative activity of flavonoid. *Phytochemistry* 160, 19-24.

