



**UJI ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL HERBA BANDOTAN  
(*Ageratum conyzoides* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG  
DIINDUKSI DENGAN RAGI**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Junita Haulani**

**NIM 162210101089**

**BAGIAN LABORATORIUM BIOMEDIK**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



**UJI ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL HERBA BANDOTAN (*Ageratum  
conyzoides* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI  
DENGAN RAGI**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Junita Haulani**

**NIM 162210101089**

**BAGIAN LABORATORIUM BIOMEDIK**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW.
2. Kedua orang tua saya, Ibunda Wiwik dan Alm. ayahanda Mashudi yang selama ini senantiasa memberikan dukungan moril dan materiil serta mendoakan saya dengan sepenuh hati.
3. Keluarga dirumah, Adik Lintang dan Om Dodo yang saya banggakan.
4. Guru-guru saya mulai dari Taman Kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang tidak segan memberikan ilmunya kepada saya.
5. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

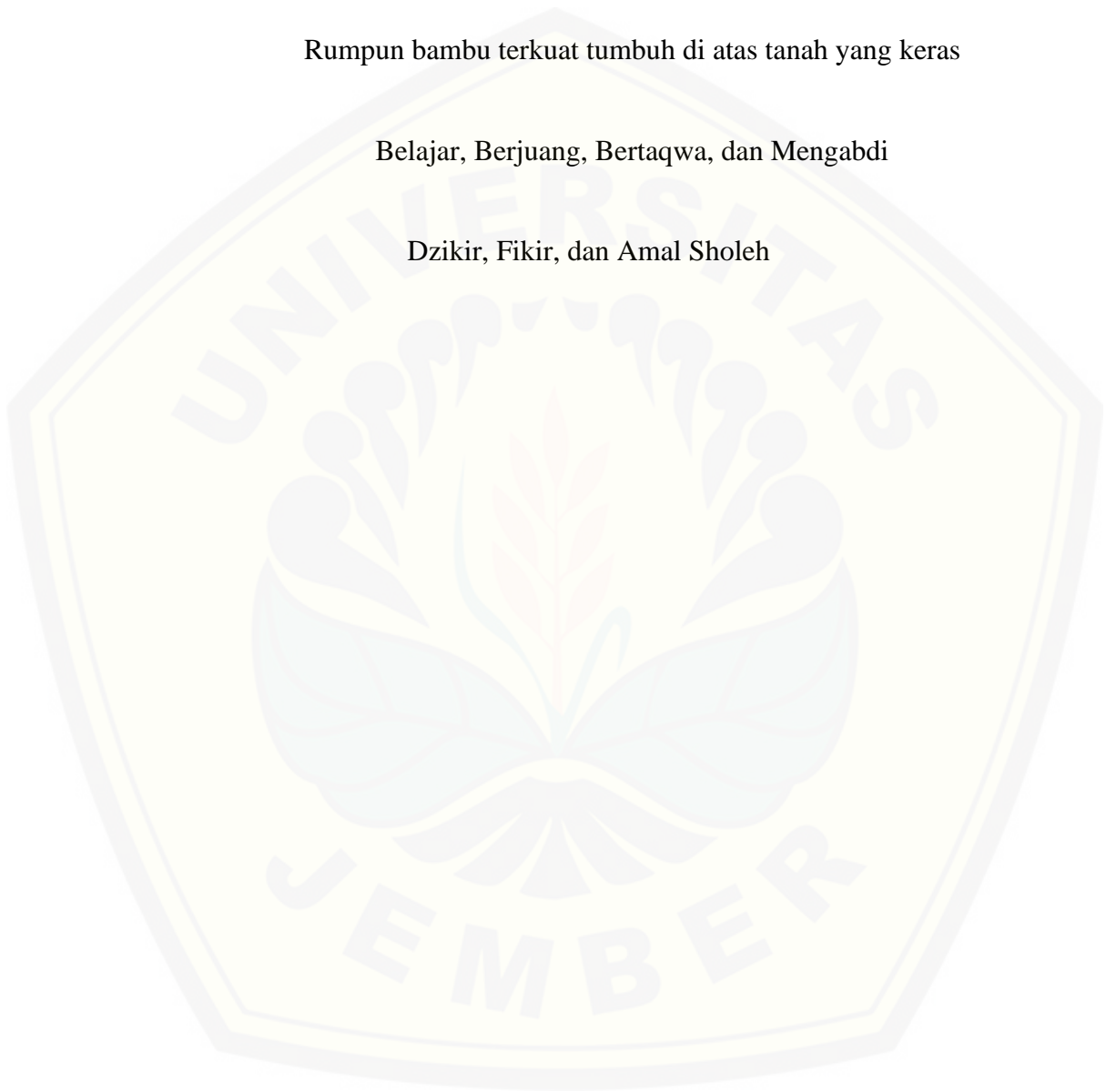
**MOTO**

Tidak ada yang tidak bisa selama kamu mau belajar dan berusaha

Rumpun bambu terkuat tumbuh di atas tanah yang keras

Belajar, Berjuang, Bertaqwa, dan Mengabdikan

Dzikir, Fikir, dan Amal Sholeh



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Junita Haulani

NIM : 162210101089

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Antipiretik Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi dengan Ragi” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, November 2020

Yang menyatakan,



Junita Haulani

162210101089

**SKRIPSI**

**UJI ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL HERBA BANDOTAN  
(*Ageratum conyzoides* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG  
DIINDUKSI DENGAN RAGI**

Oleh:

**Junita Haulani**

**NIM 162210101089**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Fransiska Maria C., S. Farm., M. Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Diana Holidah, S.F., M. Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Antipiretik Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi dengan Ragi” karya Junita Haulani telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 17 November 2020

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



apt. Fransiska Maria C., M. Farm.  
NIP. 198404062009122008

Dosen Pembimbing Anggota,



apt. Diana Holiday, S.F., M. Farm.  
NIP. 197812212005012002

Tim Penguji

Dosen Penguji I,



Dr. apt. Fifteen Aprila F., M. Farm.  
NIP. 198204152006042002

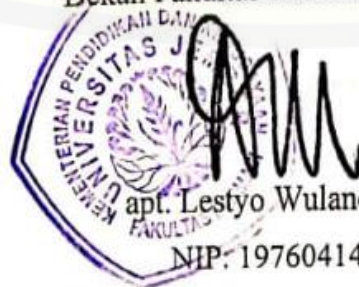
Dosen Penguji II,



apt. Ika Puspita D., M. Biomed.  
NIP. 198406132008122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



apt. Lestyo Wulandari, S.Si., M.Si.

NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Uji Antipiretik Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi dengan Ragi;** Junita Haulani; 162210101089; 2020; 95 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Demam adalah respon alami tubuh, dimana terjadi peningkatan suhu tubuh diatas nilai normal. Infeksi mikroba (virus, bakteri, dan jamur) merupakan salah satu penyebab demam. Infeksi membuat sitokin pirogenik teraktivasi yang kemudian menstimulus produksi prostaglandin E2 sehingga menaikkan termoregulasi *set point* pada hipotalamus. Demam menjadi sumber ketidaknyamanan karena biasanya disertai dengan kondisi menggigil, berkeringat, dan rasa kedinginan. Demam dapat diobati dengan obat antipiretik. Namun, beberapa obat antipiretik seperti parasetamol dapat menimbulkan efek samping. Salah satu alternatif antipiretik yang dapat digunakan yaitu menggunakan herba bandotan (*Ageratum conyzoides*). Selain itu, herba bandotan diduga memiliki aktivitas antipiretik karena memiliki senyawa flavonoid. Tujuan dari penelitian untuk mengetahui kadar flavonoid total dan mengetahui aktivitas antipiretik ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dan dilanjutkan penetapan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri  $AlCl_3$ . Sementara, uji aktivitas antipiretik dilakukan dengan membagi 24 mencit menjadi 6 kelompok diantaranya: kelompok normal (CMC-Na), kelompok kontrol negatif (CMC-Na), kelompok kontrol positif (parasetamol 100 mg/kgBB), kelompok dosis ekstrak 100 mg/kgBB, kelompok dosis ekstrak 200 mg/kgBB, dan kelompok dosis ekstrak 400 mg/kgBB. Semua mencit diukur suhu rektalnya dan diinduksi dengan ragi roti 10 ml/kgBB 20% dalam normal salin 0,9 % kecuali kelompok normal diinjeksi dengan normal salin 0,9 %. Kemudian, suhu rektal mencit diukur 4 jam setelah diinduksi dan setiap jam selama 4 jam setelah diberi perlakuan. Data pengukuran suhu rektal mencit yang didapatkan selanjutnya dihitung kenaikan suhu dan persen inhibisi pireksia untuk dianalisis *independent t test* dan *post hoc* LSD.

Ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan triterpenoid serta mengandung kadar flavonoid total sebesar 67,52 mg QE/g ekstrak. Hasil analisis *independent t test* kenaikan suhu rektal mencit memperlihatkan bahwa ragi roti 10 ml/kgBB 20% dapat menyebabkan demam secara signifikan. Persen hambat pireksia kelompok kontrol positif yaitu 110,2% sedangkan kelompok dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB yaitu 89,0%, 100,5%, dan 105,7% secara berurutan. Hasil analisis persen inhibisi pireksia menggunakan *post hoc* LSD menunjukkan kelompok kontrol positif dengan ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) tiga tingkatan dosis memiliki perbedaan yang tidak signifikan tetapi pada jam ke-3 kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB memiliki perbedaan yang signifikan. Sementara, hasil analisis persen inhibisi pireksia ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB memiliki perbedaan yang tidak



signifikan. Berdasarkan hasil yang didapatkan tersebut, ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) tiga tingkatan dosis memiliki aktivitas antipiretik dengan menurunkan suhu rektal mencit yang diinduksi ragi. Aktivitas antipiretik pada ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L) diduga karena adanya senyawa golongan flavonoid (nobiletin, kaempferol, dan kuersetin) dan alkaloid.



## PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat-Nya dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Antipiretik Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Ragi”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih karena telah meluangkan waktu untuk membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Ibu Lestyo Wulandari atas kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Fransiska Maria C. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Diana Holiday selaku Dosen Pembimbing Anggota karena telah membimbing saya untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Fifteen Aprilia F. dan Ibu Ika Puspita D. selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberi saran dan kritikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Teknisi dari Laboratorium Biomedik, Biologi dan Kimia;
5. Teman-teman saya farmasi angkatan 2016 “Morfin” serta keluarga MPA Pring Kuning, terutama angkatan XI Kepel dan Dilap;
6. Teman-teman saya satu organisasi dan komunitas;
7. Sahabat saya MAN Mimin, Mega, Amel, Itto, Ifa, dan Puput. Serta sahabat sekelas saya Ira, Anis dan Nanda;
8. Teman-teman terkasih Zaqi, Ben, Putri, Ilul, dan Ingus. Serta partner skripsi saya Lady dan semua pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini.

Jember, November 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

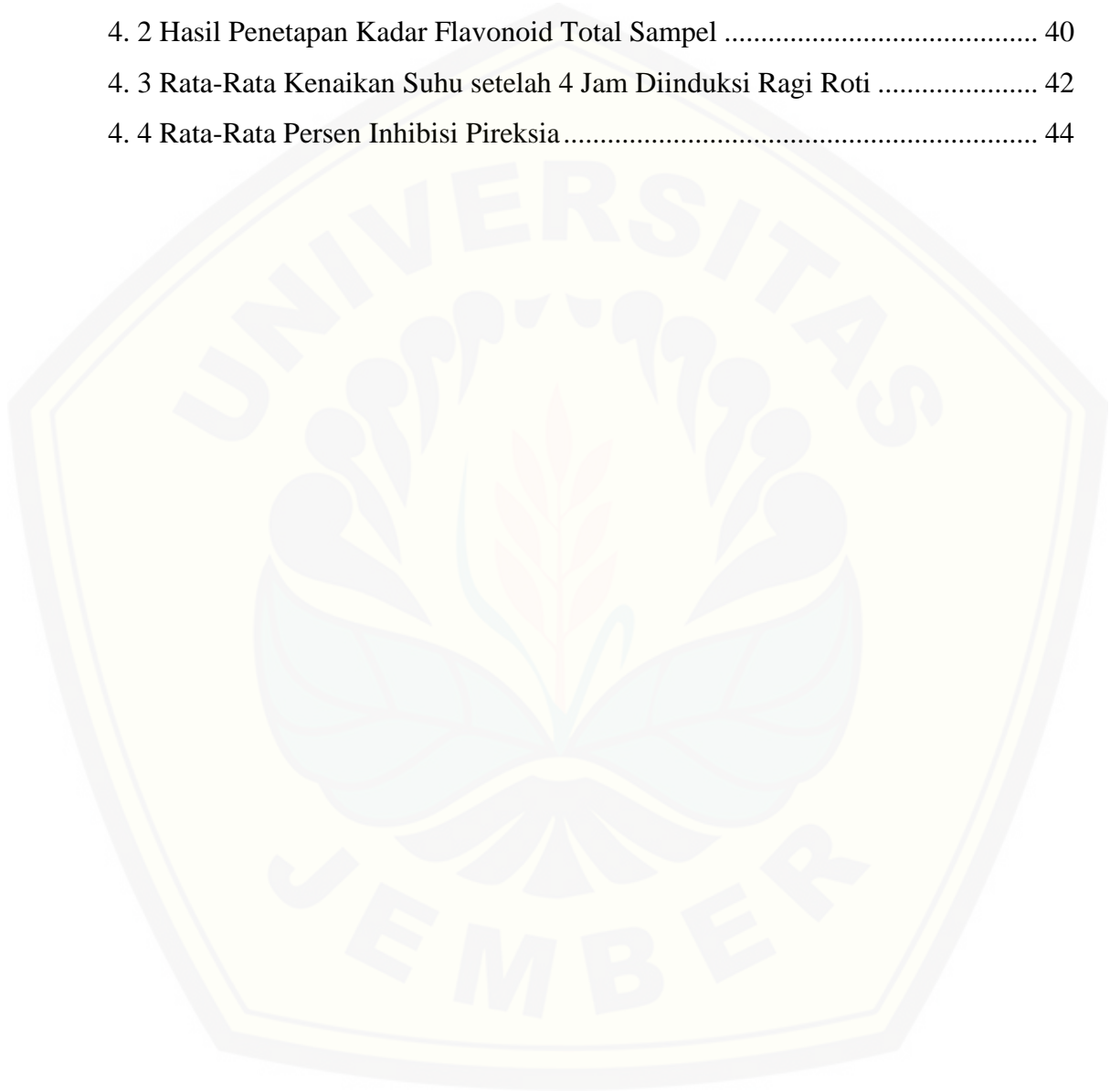
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Bandotan</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	5
2.1.2 Khasiat Bandotan dan Kandungan Senyawa Kimia .....	6
<b>2.2 Tinjauan tentang Obat Tradisional</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3 Tinjauan tentang Ekstraksi</b> .....	<b>8</b>
2.3.1 Ekstraksi.....	8
2.3.2 Metode Ekstraksi .....	9
<b>2.4 Tinjauan tentang Flavonoid</b> .....	<b>11</b>
2.4.1 Flavonoid .....	11
2.4.2 Metode Penetapan Kadar Flavonoid Total .....	11

2.4.3 Potensi Flavonoid sebagai Antipiretik.....	14
<b>2.5 Tinjauan tentang Demam .....</b>	<b>15</b>
2.5.1 Pengertian Demam.....	15
2.5.2 Penyebab Demam .....	17
2.5.3 Mekanisme Demam .....	17
2.5.4 Jenis-Jenis Demam .....	19
<b>2.6 Tinjauan tentang Antipiretik .....</b>	<b>19</b>
2.6.1 Aspirin .....	20
2.6.2 Ibuprofen.....	21
2.6.3 Asetaminofen .....	22
<b>2.7 Tinjauan tentang Ragi .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis penelitian dan desain penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Waktu dan tempat penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Variabel penelitian .....</b>	<b>26</b>
3.3.1 Variabel bebas.....	26
3.3.2 Variabel terikat .....	26
3.3.3 Variabel terkendali.....	27
<b>3.4 Rancangan penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5 Populasi dan sampel penelitian .....</b>	<b>28</b>
<b>3.6 Definisi operasional .....</b>	<b>29</b>
<b>3.7 Alat dan bahan penelitian.....</b>	<b>29</b>
3.7.1 Alat.....	29
3.7.2 Bahan .....	30
<b>3.8 Prosedur penelitian .....</b>	<b>30</b>
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Bandotan .....	30
3.8.2 Skrining Fitokimia .....	30
3.8.3 Penentuan Kadar Flavonoid Total .....	32
3.8.4 Pembuatan Perlakuan pada Hewan Uji.....	32
3.8.5 Perlakuan pada Hewan coba .....	34
3.8.6 Analisis data.....	35

<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Ekstraksi Herba Bandotan .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2 Skrining Fitokimia .....</b>	<b>39</b>
<b>4.3 Penetapan Kadar Flavonoid Total.....</b>	<b>39</b>
<b>4.4 Uji Aktivitas Antipiretik .....</b>	<b>41</b>
4.4.1 Metode Uji Antipiretik.....	41
4.4.2 Perhitungan Persen Inhibisi Pireksia .....	44
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>47</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>58</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2. 1 Potensi Target dan Mekanisme Aksi Obat Antipiretik .....	20
4. 1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Bandotan .....	39
4. 2 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel .....	40
4. 3 Rata-Rata Kenaikan Suhu setelah 4 Jam Diinduksi Ragi Roti .....	42
4. 4 Rata-Rata Persen Inhibisi Pireksia .....	44



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tumbuhan Bandotan .....	5
2.2 Struktur Flavonoid .....	12
2.3 Reaksi Pembentukan Warna Kuning Flavonoid dengan $AlCl_3$ .....	13
2.4 Mekanisme Kerja Flavonoid sebagai Antiinflamasi .....	14
2.5 Istilah Pengukuran Suhu Oral Pada Kisaran <i>Celcius</i> .....	15
2.6 Mekanisme Demam .....	18
2.7 Struktur Aspirin .....	21
2.8 Struktur Ibuprofen .....	22
2.9 Struktur Parasetamol .....	23
3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	27
3.2 Alur Penelitian .....	37
4.1 Grafik Suhu Rata-Rata Rektal Sebelum dan Sesudah Perlakuan .....	43

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Surat Uji Etik .....	58
3.2 Surat Determinasi Bandotan .....	59
3.3 Perhitungan Pembuatan Reagen $AlCl_3$ dan Kalium Asetat .....	60
3.4 Perhitungan Pembuatan Larutan Standar dan Sampel .....	60
3.5 Perhitungan Dosis .....	61
4.1 Perhitungan % Rendemen Ekstrak .....	62
4.2 Hasil Skrining Fitokimia .....	62
4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	63
4.4 Optimasi Waktu Inkubasi .....	63
4.5 Kurva Baku Standar Kuersetin .....	64
4.6 Perhitungan Kadar Flavonoid Total pada Sampel .....	64
4.7 Hasil Perhitungan Kenaikan Suhu setelah 4 Jam Dinduksi Ragi Roti .....	66
4.8 Analisis Data Kenaikan Suhu setelah 4 Jam Dinduksi Ragi Roti .....	66
4.9 Hasil Pengukuran Suhu Rektal Mencit .....	68
4.10 Hasil Perhitungan Persen Inhibisi Pireksia .....	69
4.11 Analisis Data Persen Inhibisi Pireksia .....	70
4.12 Dokumentasi Penelitian .....	78



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Demam adalah respon alami tubuh, dimana terjadi peningkatan suhu tubuh diatas nilai normal yaitu 36-37,5°C. Tubuh dapat dikatakan demam jika suhunya telah mencapai  $\geq 38$  °C (Niven dan Laupland, 2016). Demam dapat disebabkan adanya cedera, racun, vaksin, penyakit endokrin dan metabolik, penyakit keganasan, dan alergi (Sandhar, 2003). Rangsangan patogen seperti virus, bakteri (gram positif dan gram negatif), *mycobacteria*, dan jamur (semua jenis ragi, protein dan polisakarida kapsuler) juga merupakan penyebab lain dari demam (Blatteis, 2010). Sitokin pirogenik seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , *interleukin* (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan *interferon* (IFN)- $\alpha$  akan teraktivasi pada kondisi demam (Blatteis, 2010; Dinarello, 1999). Sitokin tersebut menstimulus endotel vaskular untuk memproduksi prostaglandin E2 (PGE2). Prostaglandin E2 kemudian memberikan sinyal pada reseptor E-prostanoid spesifik untuk menaikkan termoregulasi *set point* pada hipotalamus (Aronof dan Neilson, 2001).

Demam yang terus-menerus menimbulkan rasa lemas dan menurunkan berat badan (Sandhar, 2003). Demam biasanya disertai juga dengan kondisi mengigil, berkeringat, dan kedinginan (Anochie dan Ifesinachi, 2013). Menurut Suwito (2016), demam secara umum dapat menimbulkan dehidrasi, kulit memerah, hangat pada sentuhan, frekuensi pernafasan meningkat, dan menurunkan nafsu makan. Selain itu, demam juga dapat menimbulkan kerusakan syaraf dan kematian pada kondisi suhu tubuh melebihi 40,5 °C (Silbernagl dan Lang, 2016). Oleh karena itu, demam menjadi sumber ketidaknyamanan dan biasanya dapat diobati dengan antipiretik (Aronof dan Neilson, 2001).

Antipiretik yang umum digunakan meliputi parasetamol, aspirin dan NSAIDs (*Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*) lainnya (Aronof dan Neilson, 2001). Namun, antipiretik seperti parasetamol memiliki efek samping yaitu kerusakan hati (hepatotoksik) apabila digunakan dalam jangka panjang dan overdosis (BPOM RI, 2015). Parasetamol yang digunakan dengan dosis terapeutik

juga dapat menyebabkan kerusakan hati bahkan kematian pada situasi tertentu seperti penyalahgunaan alkohol dan konsumsi obat-obatan lain seperti isoniazid (Jozwiak-Bebenista dan Nowak, 2014). Kondisi tersebut dapat menginduksi sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) untuk menghasilkan pembentukan metabolit toksik (NAPQI) yang lebih signifikan (Kalsi *et al.*, 2011).

Demam dapat diobati dengan pengobatan alternatif lainnya seperti menggunakan obat tradisional (Dalimartha, 2008). Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku dimasyarakat (Kemenkes RI, 2017). Obat tradisional yang selama ini digunakan masyarakat dinilai lebih aman karena memiliki efek samping relatif kecil jika digunakan dengan tepat. Beberapa aspek ketepatan tersebut diantaranya takaran, waktu dan cara penggunaan, pemilihan bahan dan menelaah informasi serta indikasi penyakit. Kelebihan penggunaan obat tradisional yaitu memiliki efek yang saling mendukung antar komponen dan memiliki efek farmakologi yang bermacam-macam pada satu tanaman (Katno, 2008). Salah satu tumbuhan yang diduga memiliki potensi sebagai antipiretik adalah bandotan (Abena *et al.*, 1997).

Bandotan (*Ageratum conyzoides*) termasuk ke dalam keluarga Asteraceae (Thorat *et al.*, 2018). Tumbuhan ini dianggap sebagai tumbuhan liar dan biasanya ditemukan di sekitar kebun, ladang, pekarangan rumah, tepi jalan, tanggul dan sekitar saluran air (Dalimartha, 2008). Bandotan memiliki bau yang khas dengan batang dan daun yang dipenuhi rambut putih halus. Daunnya memiliki bentuk bulat telur dan panjang tumbuhan ini mencapai 7,5 cm dengan bunga berwarna ungu atau putih. Selain itu, senyawa kimia yang terkandung pada bandotan diantaranya flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid (Effendi, 2017), steroid, dan minyak atsiri (Chauhan dan Rijhwani, 2015).

Herba bandotan secara tradisional berkhasiat untuk mengobati demam, malaria, diare, pegal linu, radang (*pneumonia dan otitis media*) dan lain-lainnya (Dalimartha, 2008). Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak daun bandotan

memiliki aktivitas antioksidan (Martinus dan Verawati, 2015), antibakteri terhadap beberapa bakteri seperti *Shalmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Proteus mirabilis* (Ajayi *et al.*, 2016; Ere *et al.*, 2014). Bandotan juga memiliki potensi untuk pengobatan infeksi akibat jamur (antifungal) karena dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus sp.* (Wuyep *et al.*, 2017). Tumbuhan ini juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, ansiolitik, antiinflamasi, dan analgesik (Melissa, 2017). Selain itu, kandungan kimia minyak atsiri dari bandotan diketahui memiliki aktivitas antipiretik (Abena *et al.*, 1997).

Ekstrak tanaman yang mengandung flavonoid diketahui memiliki aktivitas antipiretik dengan mekanisme menghambat PGE2 (Belangoy dan Mariano, 2016; Zulfa *et al.*, 2017). Ekstrak etanol herba bandotan diketahui mengandung senyawa kimia flavonoid (Wuyep *et al.*, 2017). Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol herba bandotan berpotensi memiliki aktivitas antipiretik. Namun, penelitian tentang potensi tersebut belum pernah dilakukan sebelumnya sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji antipiretik ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi. Selanjutnya, peneliti juga melakukan penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah ini sebagai berikut:

1. Berapa kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)?
2. Apakah ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antipiretik pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi?
3. Bagaimana pengaruh perbedaan dosis dari ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap penurunan suhu rektal mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini gunanya untuk menjawab rumusan masalah diatas yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui jumlah kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.).
2. Mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antipiretik pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi.
3. Mengetahui pengaruh perbedaan dosis dari ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap penurunan suhu rektal mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan berdasarkan tujuan penelitian adalah:

1. Bagi peneliti  
Penelitian ini dapat digunakan sebagai sarana menambah ilmu tentang uji antipiretik ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi.
2. Bagi institusi  
Penelitian ini diharapkan menjadi dasar penelitian selanjutnya mengenai uji antipiretik ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan ragi.
3. Bagi masyarakat  
Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi bagi masyarakat serta dapat digunakan untuk pengembangan obat baru.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Bandotan

#### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Bandotan (*Ageratum conyzoides*) merupakan tumbuhan yang termasuk kedalam keluarga Asteraceae yang memiliki baunya khas. Tumbuhan ini dapat tumbuh hingga mencapai 1 m. Batang dan daun bandotan dipenuhi dengan bulu putih halus. Daunnya berbentuk bulat telur dengan panjang mencapai 7,5 cm. Bunganya berwarna ungu hingga putih dengan lebar kurang dari 6 mm. Buahnya berwarna coklat dan mudah tersebar jika sudah tua sementara bijinya bersifat fotoblastik (Thorat *et al.*, 2018). Bandotan yang berusia  $\pm$  2 bulan memiliki bagian tumbuhan sudah lengkap atau dewasa (CABI, 2019). Tumbuhan bandotan dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut ini (Thorat *et al.*, 2018):



Gambar 2. 1 Tumbuhan Bandotan (Sumber: Thorat *et al.*, 2018)

Bandotan dapat ditemukan di daerah tropis maupun subtropis dan tersebar disekitar Afrika, Asia dan Amerika Selatan (Kamboj dan Saluja, 2008). Tumbuhan ini dianggap sebagai tumbuhan liar dan termasuk kedalam tumbuhan pengganggu (gulma). Bandotan biasanya ditemukan di sekitar kebun, ladang, pekarangan rumah, tepi jalan, tanggul dan sekitar saluran air. Tumbuhan ini memiliki beberapa nama lokal diantaranya bandotan, babandotan, wedusan, ki bau, lawet, daun

tombak, berokan dan lain-lainnya (Dalimartha, 2008). Taksonomi tumbuhan bandotan diuraikan sebagai berikut (United States Departement Agriculture, 2020):

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Superdivision : Spermatophyta  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Asteridae  
Ordo : Asterales  
Family : Asteraceae/Compositae  
Genus : *Ageratum* L.  
Spesies : *Ageratum conyzoides* L.  
Sinonim : *Ageratum ciliare* Lour. dan *Ageratum cordifolium* Roxb.

#### 2.1.2 Khasiat Bandotan dan Kandungan Senyawa Kimia

Herba bandotan berkhasiat untuk mengobati malaria, demam, diare, pegal linu, radang (*pneumonia dan otitis media*), muntah dan lain-lainnya sedangkan akar tanaman ini berkhasiat sebagai obat demam (Dalimartha, 2008). Daun tumbuhan ini secara tradisional digunakan sebagai obat penyembuh luka, antiinflamasi, antimikroba, antidiabetes, analgesik, antelmentik, antipiretik, antikanker, antiserangga dan lain-lainnya. Batang tumbuhan ini secara tradisional juga digunakan sebagai obat penyembuh luka, antiinflamasi, antimikroba, dan antitumor (Thorat *et al.*, 2018).

Ekstrak etanol daun bandotan (dosis 400 mg) diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi (Hassan *et al.*, 2012). Selain itu, ekstrak daun bandotan juga memiliki aktivitas antioksidan (Martinus dan Verawati, 2015), antibakteri terhadap *Shalmonella sp.* (Ajayi *et al.*, 2016), dan antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus mirabilis* (Ere *et al.*, 2014). Tumbuhan ini juga memiliki

aktivitas sebagai antidiabetes, ansiolitik, analgesik (Melissa, 2017) dan antifungal (Wuyep *et al.*, 2017).

Bandotan memiliki senyawa kimia khas yaitu nobiletin (Depkes RI, 2017). Kandungan senyawa kimia lain dari bandotan diantaranya monoterpen, *sesquiterpene*, benzofuran, *chromene*, *chromone*, kumarin, flavonoid (seperti kuersetin dan kaempferol), alkaloid, triterpen, steroid, minyak atsiri (Chauhan dan Rijhwani, 2015), kromena, tanin, dan terpenoid (Kamboj dan Saluja, 2008). Tumbuhan ini diketahui kaya flavonoid teroksigenasi dengan 21 macam senyawa flavonoid. Flavonoid dari bandotan memiliki berbagai aktivitas biologis diantaranya diuresis, *computer vision syndrome* (CVS), antivirus, spasmolitik, dan antiinflamasi (Kamboj dan Saluja, 2008). Kandungan kimia minyak atsiri dari bandotan juga diketahui memiliki aktivitas antipiretik (Abena *et al.*, 1997).

## 2.2 Tinjauan tentang Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku dimasyarakat (Kemenkes RI, 2017). Obat tradisional yang selama ini digunakan masyarakat dinilai lebih aman karena memiliki efek samping relatif kecil jika digunakan dengan tepat. Beberapa aspek ketepatan tersebut diantaranya takaran, waktu dan cara penggunaan, pemilihan bahan dan menelaah informasi serta indikasi penyakit. Obat tradisional mempunyai kelebihan yaitu memiliki efek yang saling mendukung antar komponen, memiliki efek farmakologi yang bermacam-macam pada satu tanaman, dan cocok digunakan untuk berbagai penyakit metabolik dan generatif. Obat tradisional juga memiliki kelemahan yaitu efek farmakologisnya kebanyakan lemah, bahan bakunya belum terstandar, dan belum dilakukan serangkaian pengujian untuk memastikan efektivitas dan keamanannya (Katno, 2008).

Obat tradisional sebagian besar berasal dari tanaman obat (Katno dan Pramono, 2002). Tanaman obat adalah suatu jenis tanaman yang beberapa bagian

atau seluruh tanaman, serta eksudat tanaman tersebut memiliki manfaat sebagai obat. Tanaman obat saat ini lebih mudah untuk didapatkan karena tumbuh secara liar dan masyarakat juga telah melakukan budidaya tanaman obat secara komersil (Utami, 2003). Menurut Utami (2003), tanaman obat terbagi menjadi 3 golongan, diantaranya:

- a. Tanaman obat tradisional yaitu golongan tanaman yang digunakan untuk bahan baku obat dan dipercaya oleh masyarakat memiliki khasiat obat.
- b. Tanaman obat modern yaitu golongan tanaman yang telah dibuktikan secara ilmiah mengandung senyawa aktif yang memiliki efek terapi (obat) dan secara medis penggunaan tanaman tersebut dapat dipertanggungjawabkan.
- c. Tanaman obat potensial yaitu golongan tanaman yang mengandung senyawa aktif yang memiliki efek terapi (obat) dan penggunaannya belum dapat dibuktikan secara medis.

## **2.3 Tinjauan tentang Ekstraksi**

### **2.3.1 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan pemisahan senyawa aktif tumbuhan atau jaringan hewan dari komponen tidak aktif atau inert dengan pelarut yang selektif dalam prosedur ekstraksi standar. Hasil ekstraksi yang didapat berupa cairan tidak murni, semipadat atau serbuk yang ditujukan untuk penggunaan oral atau eksternal (Handan *et al.*, 2008). Simplisia yang digunakan dalam ekstraksi mengandung senyawa aktif diantaranya senyawa kimia golongan minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan lain-lainnya. Selain senyawa aktif, simplisia yang diekstraksi juga mengandung senyawa yang tidak aktif diantaranya protein, karbohidrat, serat, dan lain-lainnya. Senyawa aktif pada masing-masing simplisia harus diketahui terlebih dahulu guna mempermudah dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang sesuai. Simplisia yang memiliki konsistensi lunak tidak perlu diserbuk hingga halus karena mudah diserap pelarut, contoh simplisia lunak adalah daun dan rimpang. Simplisia yang memiliki konsistensi keras perlu diserbuk hingga



halus karena sukar diserap pelarut, contoh simplisia keras adalah biji, kulit akar dan kulit kayu (Depkes RI, 2000).

Ekstrak merupakan sediaan kental dari hasil ekstraksi senyawa aktif suatu simplisia hewani atau nabati dengan pelarut yang tepat. Pelarut selanjutnya diuapkan semua atau hampir seluruhnya dan sisa massa (serbuk) dapat diperlakukan sama hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 2000). Ekstrak kental didapatkan dengan cara dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, dimana fungsinya untuk memisahkan ekstrak dari pelarut dengan pemanasan yang dipercepat pada labu (Nuraeni dan Sembiring, 2018).

### 2.3.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dibagi menjadi beberapa cara diantaranya:

- a. Ekstraksi dingin dengan menggunakan pelarut
  - 1) Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut dan dilakukan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang dengan waktu perendaman minimal selama 3 hari (Depkes RI, 2000; Handan *et al.*, 2008). Remaserasi yaitu penambahan pelarut baru secara berulang setelah penyaringan maserat (Depkes RI, 2000).
  - 2) Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut baru hingga sempurna (*exhaustive extraction*) yang dilakukan pada suhu ruang. Perkolasi terdiri dari beberapa proses diantaranya proses pengembangan, proses maserasi antara, proses perkolasi (penetesan/penampungan ekstrak), dan proses tersebut dilakukan berulang-ulang hingga didapatkan ekstrak (perkolat) dengan hasil 1-5 kali dari bahan (Depkes RI, 2000).
- b. Ekstraksi panas dengan menggunakan pelarut
  - 1) Refluks merupakan ekstraksi pada suhu didih pelarutnya. Pendingin balik pada proses ekstraksi ini membuat jumlah pelarut yang terbatas relatif konstan pada waktu tertentu. Biasanya dilakukan proses pengulangan pada residu pertama hingga 3-5 kali sampai proses sempurna (Depkes RI, 2000).

- 2) Soxhlet merupakan proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan menggunakan alat khusus. Pendingin balik pada proses ekstraksi ini membuat jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan dan ekstraksi dilakukan secara kontinu (Depkes RI, 2000). Metode ini dapat mengekstraksi simplisia dalam jumlah besar dengan pelarut dalam jumlah yang lebih kecil (Handan *et al.*, 2008).
  - 3) Digesti merupakan proses ekstraksi dengan cara maserasi kinetik pada suhu lebih tinggi (40-50 °C) dari suhu ruang (Depkes RI, 2000).
  - 4) Infus merupakan sediaan cair dari proses ekstraksi simplisia nabati dengan menggunakan air sebagai pelarutnya. Sediaan tersebut dibuat dengan cara diletakkan di atas penangas air dalam waktu 15 menit dengan suhu 90 °C dan sambil sesekali diaduk. Sediaan selanjutnya diserkai pada saat panas dengan kain flanel, kemudian ditambahkan air panas secukupnya pada ampas yang telah diserkai hingga memperoleh volume yang diinginkan (Depkes RI, 2000).
  - 5) Dekok merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan air sebagai pelarutnya. Sediaan tersebut dibuat dengan cara diletakkan di atas penangas air dalam waktu 30 menit dengan suhu 90 °C. Metode ini cocok digunakan untuk bahan larut air dan stabil terhadap panas. Rasio bahan dengan air tetap, kemudian volume diturunkan menjadi seperempat volume awal ketika mendidih pada saat proses ekstraksi berlangsung. Ekstrak pekat disaring dan bisa digunakan untuk proses selanjutnya (Handan *et al.*, 2008).
- c. Cara ekstraksi lainnya
- 1) Destilasi uap merupakan ekstraksi dari bahan segar ataupun simplisia dengan uap air untuk diambil minyak atsirinya. Prosedur pada destilasi uap yaitu bahan yang digunakan hanya dilewati uap air dan tidak dicelupkan pada air mendidih sehingga minyak atsiri menguap dan ikut terdestilasi. Sementara prosedur pada destilasi uap dan air yaitu sebagian bahkan seluruhnya bahan harus bercampur dengan air yang mendidih dan minyak atsiri akan tetap ikut terdestilasi (Depkes RI, 2000).

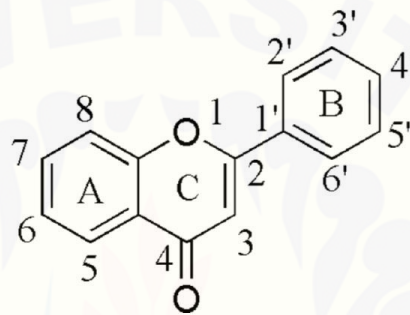
- 2) Ekstraksi ultrasonik (Sonikasi) merupakan ekstraksi menggunakan getaran ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz hingga 2000 kHz yang dimaksudkan untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel bahan dan menghasilkan gelembung spontan (kavitasi). Namun efek ultrasonik ( $\geq 20$  kHz) pada metode ini dapat merusak konstituen aktif dari bahan melalui pembentukan radikal bebas sehingga membuat terjadinya perubahan yang tidak diinginkan (Handan *et al.*, 2008). Hasil ekstrak yang didapatkan tergantung pada kapasitas alat, frekuensi getaran dan waktu ultrasonikasi (Depkes RI, 2000).
- 3) *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) merupakan metode ekstraksi yang bertujuan untuk mengurangi penggunaan pelarut organik dan meningkatkan jumlah sampel yang didapatkan. Faktor yang perlu diperhatikan dalam metode ini yaitu tekanan, suhu, pengumpulan analit, volume sampel, kontrol aliran dan tekanan, penambahan *cosolvent*, dan pembatas. Cairan yang dapat digunakan untuk ekstraksi ini adalah karbon dioksida (Handan *et al.*, 2008). Cairan tersebut mudah menguap sehingga hasil yang didapatkan hampir langsung diperoleh ekstrak (Depkes RI, 2000). Ekstraksi ini dilakukan secara kontinu pada suhu rendah sehingga menghindari rusaknya bahan akibat panas dan beberapa pelarut organik (Handan *et al.*, 2008).

## 2.4 Tinjauan tentang Flavonoid

### 2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang dapat larut dalam air. Senyawa ini tersusun dari 15 buah karbon (C) dengan konfigurasi C6-C3-C6 dimana kerangka C tersusun dari 2 gugus C6 dan disambungkan dengan rantai alifatik 3 karbon. Rangkaian substitusi tersebut dapat berbeda-beda guna menghasilkan bermacam-macam rangkaian subkelas flavonoid. Beberapa macam subkelas dari flavonoid yaitu flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, flavanol dan antosianidin (Wang *et al.*, 2018). Flavonol termasuk ke dalam flavonoid glikosida dengan contoh seperti isokuersetin, kuersetin, mirisetin, rutin, ramnazin, *pachipodol*, dan kaemferol. Senyawa flavanon merupakan senyawa tak berwarna

sehingga sukar dideteksi dengan kromatografi, kecuali jika disemprot kromogen. Senyawa ini mudah terbentuk dalam kondisi asam, beberapa contoh dari flavanon yaitu paretin, narigin, naringenin, fisetin, homeriodicitol, dan hesperidin. Sementara contoh flavon yang dapat dijumpai adalah luteolin, tangeritin, *chrisin* dan apigenin. Isoflavon telah dilaporkan memiliki kandungan seperti genistein, diadzein, *glycetein*, dan formononetin (Arifin dan Ibrahim, 2018). Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.2 berikut ini (Wang *et al.*, 2018):



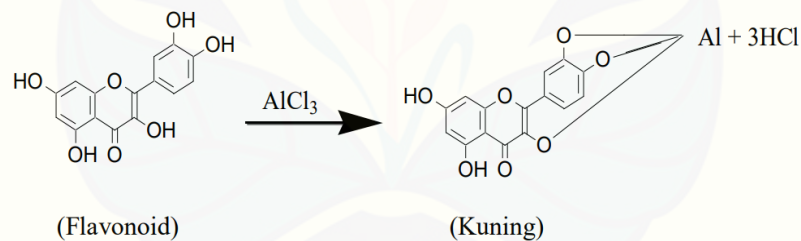
Gambar 2. 2 Struktur Flavonoid (Sumber: Wang *et al.*, 2018)

Flavonoid pada bentuk metilasi memiliki stabilitas metabolik yang cukup tinggi dari pada bentuk yang belum termetilasi. Flavonoid termetilasi tersebut juga meningkatkan sifat serta kemampuannya dalam mengobati penyakit (Arifin dan Ibrahim, 2018). Beberapa efek bioaktif dari flavonoid seperti antiinflamasi, antidiabetes, antivirus, antipenuaan, antikanker, kardioprotektif dan lain sebagainya juga telah dilaporkan (Wang *et al.*, 2018).

Flavonoid termasuk senyawa polar sehingga akan mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, aseton, dan lain-lainnya. Pelarut-pelarut tersebut apabila ditambah air akan menjadi pelarut flavonoid glikosida yang baik dikarenakan flavonoid terikat dalam bentuk glikosida. Sementara itu, flavonoid dalam bentuk aglikonnya seperti flavanon, flavon, flavonol akan lebih mudah terlarut dalam pelarut eter dan kloroform (Arifin dan Ibrahim, 2018). Flavonoid yang tersedia biasanya dalam bentuk glikosida seperti O-glikosida dengan gula terikat gugus hidroksil pada posisi C3 atau C7 (Erlund, 2004).

#### 2.4.2 Metode Penetapan Kadar Flavonoid Total

Metode yang digunakan dalam penetapan kadar flavonoid total yaitu metode kolorimetri dengan reagen aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode tersebut membuat terjadinya pembentukan kompleks dan menimbulkan pergeseran panjang gelombang ( $\lambda$ ) menuju arah nampak (*visible*). Larutan yang menghasilkan warna lebih kuning merupakan tanda terbentuknya senyawa kompleks (Fadillah *et al.*, 2017). Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dan  $\text{AlCl}_3$  diawali dengan terjadinya pemutusan gugus alkohol ( $\text{OH}$ ) menjadi  $\text{O}^-$  dan  $\text{H}^+$  pada flavonoid. Selanjutnya, gugus  $\text{AlCl}_3$  juga putus menjadi  $\text{Al}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  yang menimbulkan interaksi  $\text{H}^+$  dengan  $\text{Cl}^-$  menjadi  $3\text{HCl}$ . Reaksi antara  $\text{Al}^+$  dengan  $\text{O}^-$  membutuhkan 3 buah atom  $\text{H}^+$  dan  $\text{Al}$  yang bermuatan  $+3$  membutuhkan 3 buah atom  $\text{O}^-$  sehingga membentuk sebuah struktur berwarna kuning. Reaksi pembentukan tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.3 berikut ini (Beda, 2018):

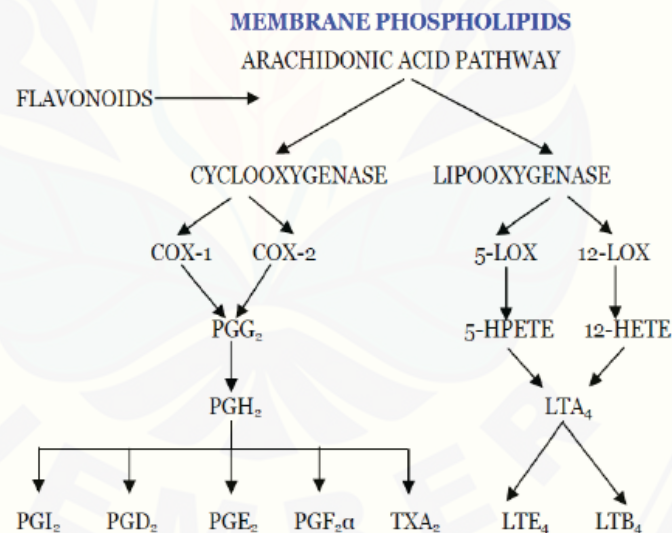


Gambar 2. 3 Reaksi Pembentukan Warna Kuning Flavonoid dengan  $\text{AlCl}_3$   
(Sumber: Beda, 2018)

Berdasarkan hasil penelitian, metode spektrofotometer UV-Vis menunjukkan kinerja yang sesuai spesifikasi dengan parameter validasi spesifisitas, linieritas, presisi, akurasi dan kekokohan (*robussnest*). Metode ini telah banyak digunakan karena sederhana, cepat, biaya operasional yang rendah dan hasilnya terjamin. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas sampel uji (Fernandes *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2017).

### 2.4.3 Potensi Flavonoid sebagai Antipiretik

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak tanaman yang mengandung senyawa flavonoid memiliki potensi aktivitas antipiretik (Belangoy dan Mariano, 2016; Zulfa *et al.*, 2017; Abbasi *et al.*, 2018). Ekstrak tanaman yang mengandung derivat flavonoid seperti pinocembrin, kaempferol dan kuersetin memiliki efek antipiretik dengan menghambat mediator inflamasi dan sitokin pirogenik (Abbasi *et al.*, 2018). Efek antipiretik tersebut dikuatkan dengan adanya temuan bahwa derivat flavonoid dilaporkan mampu menghambat aktivitas dari COX sehingga sintesis dari prostaglandin juga terhambat (You *et al.*, 1999). Berdasarkan uraian tersebut, efek antipiretik kemungkinan juga disebabkan adanya efek antiinflamasi dimana terjadi penghambatan dari sintesis prostaglandin. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antiinflamasi dapat dilihat pada Gambar 2.4 berikut ini (Makiyah dan Wardhani, 2017):



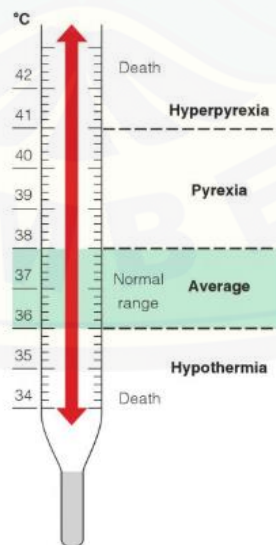
Gambar 2. 4 Mekanisme Kerja Flavonoid sebagai Antiinflamasi  
(Sumber: Makiyah dan Wardhani., 2017)

## 2.5 Tinjauan tentang Demam

### 2.5.1 Pengertian Demam

Demam atau *pyrexia* menggambarkan keadaan dimana suhu tubuh meningkat diatas batas normal yaitu ketika suhu tubuh lebih tinggi dari 37,5°C (Quast dan Kimberger, 2015). Sementara, menurut Niven dan Laupland (2016) demam terjadi apabila suhu tubuh telah mencapai  $\geq 38^\circ\text{C}$ . Suhu tubuh manusia usia 18-40 tahun yaitu  $36,8 \pm 0,4^\circ\text{C}$  dengan suhu paling rendah terjadi pada pukul 6 pagi dan suhu paling tinggi terjadi pada sore hari pukul 4 ( $37,7^\circ\text{C}$ ) hingga 6 ( $37,2^\circ\text{C}$ ). Demam dapat dipertimbangkan apabila suhu tubuh pada pagi hari mencapai  $> 37,2^\circ\text{C}$  dan suhu tubuh pada sore hari  $> 37,7^\circ\text{C}$ .

Suhu tubuh biasanya akan berubah sekitar  $0,5^\circ\text{C}$  -  $1^\circ\text{C}$  dalam periode 24 jam (Potter *et al.*, 2016). Tubuh akan berupaya mempertahankan *set point* dikisaran  $37^\circ\text{C}$  dengan variasi sirkadian kurang dari  $1^\circ\text{C}$  ( $36,3^\circ\text{C}$  hingga  $37,2^\circ\text{C}$ ) pada pengukuran aksila (Susanti, 2012). Suhu tubuh dapat mengalami fluktuasi hingga melebihi  $41^\circ\text{C}$  dan kondisi ini dapat disebut hiperpireksia sedangkan apabila suhu tubuh dibawah batas suhu normal maka disebut hipotermia (Berman *et al.*, 2010). Istilah pengukuran suhu oral manusia pada kisaran *celsius* selanjutnya dijelaskan pada Gambar 2.5 (Berman *et al.*, 2010):



Gambar 2. 5 Istilah untuk Pengukuran Suhu Oral pada Kisaran Celcius (Sumber: Berman *et al.*, 2010)

Demam dapat didefinisikan sebagai suhu rektal di atas 38°C (100,4 °F), suhu aksila di atas 37,5°C dan suhu oral di atas 37,8°C. Bayi yang berusia kurang dari 3 bulan dapat dikatakan demam apabila pengukuran suhu rektalnya di atas 38°C sedangkan pada bayi berusia lebih dari 3 bulan suhu oral dan aksilanya lebih dari 38,3°C (Susanti, 2012). Pengukuran suhu tubuh melalui mulut dilakukan dengan meletakkan ujung termometer kedalam mulut selama  $\pm$  3 menit. Namun, perubahan suhu mulut dapat disebabkan karena merokok, makanan, dan minuman yang panas atau dingin maka pengukuran suhu tubuh melalui mulut tidak akan akurat (Berman *et al.*, 2010). Pengukuran suhu lainnya dapat melalui aksila dengan meletakkan ujung termometer dekat arteri aksila dengan menekan lengan atas kearah dada selama 3-5 menit. Suhu aksila biasanya memiliki suhu yang lebih rendah 1°C-2°C dari suhu inti. Sementara, pada orang dewasa pengukuran suhu rektal dilakukan dengan memasukkan termometer sedalam 3,5 cm (Berman *et al.*, 2010; Quast dan Kimberger, 2015). Menurut Ismoedijanto (2000), pengukuran demam paling tepat yaitu menggunakan suhu rektal karena mewakili suhu inti tubuh dan hasilnya tidak bervariasi terhadap perubahan lingkungan (*reliable*) (Berman *et al.*, 2010). Selain itu, suhu rektal juga telah lama digunakan sebagai standar memperkirakan suhu inti karena memiliki selisih nilai lebih 0,1°C dari suhu inti. Rongga pada rektum diyakini dapat menahan panas lebih lama dibandingkan tempat pengukuran suhu lainnya sehingga hasilnya dianggap lebih akurat (Charles, 2015). Namun, suhu dubur dapat menjadi satu derajat lebih tinggi daripada suhu oral pada kondisi tertentu seperti kolera (Sandhar, 2003).

Hipotalamus merupakan tempat pengaturan suhu tubuh. Hipotalamus akan menerima sinyal suhu tubuh bagian dalam melalui suhu darah yang masuk ke otak dan sinyal suhu tubuh bagian luar melalui reseptor panas pada kulit. Hipotalamus posterior berfungsi mengurangi pengeluaran panas dan meningkatkan produksi panas, sedangkan hipotalamus anterior berfungsi mengeluarkan panas untuk menurunkan suhu tubuh (Susanti, 2012). Demam terbentuk dari peningkatan produksi panas melalui metabolisme dan kontraksi pada otot rangka (mengigil) pada saat suhu lingkungan lebih rendah daripada suhu tubuh. Panas yang keluar dapat berkurang apabila tubuh mengalami vasokonstriksi pembuluh darah pada kulit



dan berkeringat pada saat suhu lingkungan lebih tinggi daripada suhu tubuh (Ismoedijanto, 2000; Susanti, 2012).

### 2.5.2 Penyebab Demam

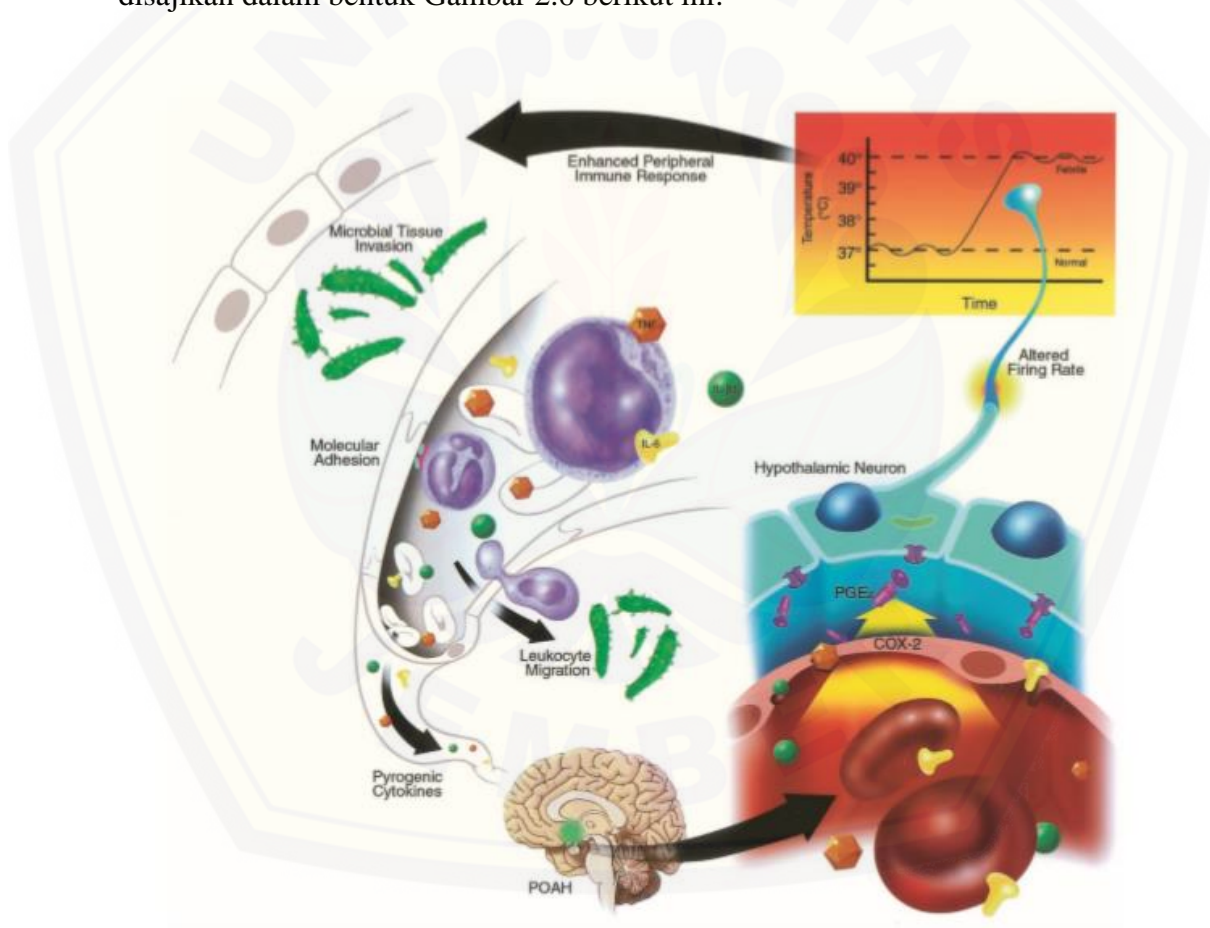
Demam merupakan reaksi adanya cedera, racun, vaksin, penyakit endokrin dan metabolik, penyakit keganasan, dan alergi (Sandhar, 2003). Penyebab lain dari demam yaitu adanya rangsangan patogen seperti infeksi yang berasal dari mikroba. Mikroba yang dapat menyebabkan demam yaitu: virus, bakteri (gram positif dan gram negatif), *mycobacteria*, dan jamur (semua jenis ragi, protein dan polisakarida kapsuler) (Blatteis, 2010). Demam dianggap menguntungkan karena suhu tubuh yang tinggi dapat menstimulus aktivitas sel-sel imun serta mengganggu replikasi mikroorganisme (Blomqvist dan Engblom, 2018). Jadi, demam bukan sebuah penyakit melainkan mekanisme fisiologis dalam melawan infeksi dengan memperlambat pertumbuhan dan reproduksi mikroba (bakteri dan virus), meningkatkan produksi neutrofil dan proliferasi limfosit-T, dan membantu dalam reaksi fase akut tubuh (Sullivan dan Farrar, 2011).

Pirogen merupakan substansi penyebab demam yang terdiri dari pirogen endogen dan eksogen. Pirogen endogen berasal dari dalam tubuh dan pirogen eksogen berasal dari luar tubuh. Sebagian besar pirogen eksogen berasal dari jamur dan bakteri. Contoh dari pirogen eksogen yaitu endotoksin lipopolisakarida dari bakteri gram negatif dan produk dari bakteri gram positif seperti toksin dari *Streptococcus sp.* dan *Staphylococcus sp.* Contoh dari pirogen endogen yaitu sitokin pirogenik yang pelepasannya dapat distimulus karena adanya pirogen endogen. Beberapa sitokin pirogenik yang berperan dalam menghasilkan demam yaitu IL-1, IL-6 dan TNF (Susanti, 2012).

### 2.5.3 Mekanisme Demam

Aronoff dan Neilson (2001) berpendapat bahwa mekanisme demam diawali dengan adanya invasi mikroba pada jaringan, kemudian memicu terjadinya respon

inflamasi dan mengaktifkan sel-sel endotel vaskular lokal dan leukosit. Leukosit akan teraktivasi dan melepaskan sitokin pirogenik seperti *Interleukin* (IL-1 $\beta$  dan IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Hematogen yang menyebar memungkinkan pirogen endogen untuk menstimulus endotel vaskular guna memproduksi prostaglandin E2 (PGE2) pada sistem syaraf pusat. Neuron pada *preoptic area of the anterior hypothalamus* (POAH) yang mengandung reseptor E-prostanoid spesifik dapat mengatur respon demam setelah mendapat sinyal dari PGE2. Selanjutnya, PGE2 akan mengubah laju cincin dari neuron tersebut serta menghasilkan kenaikan termoregulasi *set point*. Mekanisme demam tersebut juga disajikan dalam bentuk Gambar 2.6 berikut ini:



Gambar 2. 6 Mekanisme Demam (Sumber: Aronof dan Neilson, 2001)

#### 2.5.4 Jenis-Jenis Demam

Menurut Berman *et al.*, (2010) demam memiliki beberapa jenis diantaranya:

- a. Demam remiten yaitu jenis demam dimana suhu tubuh meningkat  $\geq 1^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Berman *et al.*, 2010). Demam ini menunjukkan adanya penyakit tifoid, tuberkulosis, dan *septicemia* (Sandhar, 2008).
- b. Demam intermiten merupakan demam dengan perubahan suhu tubuh yang berulang-ulang dalam interval teratur antara periode demam (*pyrexia*) dan periode tidak demam (*apyrexia*) secara abnormal (Berman *et al.*, 2010). Demam ini menunjukkan adanya kasus demam malaria (Sandhar, 2008).
- c. Demam kambuhan merupakan kondisi demam yang hilang dan kembali datang. Periode demam yang pendek selama beberapa hari yang diselingi dengan periode suhu normal selama 1 hingga 2 hari (Berman *et al.*, 2010).
- d. Demam konstan adalah demam yang terjadi ketika suhu tubuh berfluktuasi rendah diatas suhu normal (Berman *et al.*, 2010).

#### 2.6 Tinjauan tentang Antipiretik

Antipiretik termasuk kedalam golongan obat yang memiliki target menurunkan suhu tubuh (Jurnalis *et al.*, 2015). Antipiretik bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX) dan mengurangi jumlah PGE2 dalam hipotalamus. Selain itu, leukosit yang teraktivasi dan sel endotel yang berada di situs inflamasi juga berpotensi sebagai target obat antipiretik. Antipiretik yang efektif dapat mengganggu pirogenesis yang berhubungan pada peradangan perifer dengan produksi utama PGE2. Antipiretik dapat menekan inflamasi perifer atau sinyal pirogenik pusat dan bahkan dapat mempengaruhi keduanya. Potensi target dan mekanisme aksi obat antipiretik juga dirangkum dalam Tabel 2.1 berikut ini (Aronof dan Neilson, 2001):

Tabel 2. 1 Potensi Target dan Mekanisme Aksi Obat Antipiretik

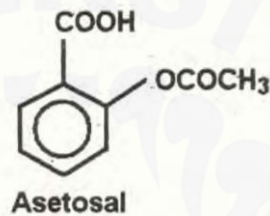
Target	Mekanisme
<i>Neutrophil</i> , makrofag, dan sel efektor imun lainnya	Mengurangi produksi mediator inflamasi seperti sitokin, protease, dan <i>reactive oxygen species</i> (ROS) Meningkatkan produksi lokal molekul antiinflamasi seperti adenosine, IL-10 dan <i>aspirin-triggered lipoxins</i>
Sel endotel pada situs infeksi/ inflamasi lokal	Mengurangi ekspresi molekul adenosine leukotrin
Sel endotel pada sistem saraf pusat	Mengurangi produksi prostaglandin E2 (menghambat COX)
Antipiretik endogenus	Meningkatkan produksi atau aktivasi <i>arginine vasopressin</i> , hormon stimulus $\alpha$ -melanosit, glukokortikoid, dan <i>epoxyeicosanoid</i>

Beberapa contoh obat antipiretik diantaranya yaitu parasetamol atau asetaminofen, ibuprofen, dan aspirin (Jurnalis *et al.*, 2015). Ibuprofen dinilai lebih kuat 50-100% menurunkan demam pada anak-anak daripada parasetamol. Parasetamol pada uji dosis tunggal menunjukkan lebih poten menurunkan demam daripada aspirin untuk kasus endotoksemia (Aronof dan Neilson, 2001). Berikut ini penjelasan dari contoh golongan obat-obatan tersebut:

### 2.6.1 Aspirin

Asam asetil salisilat yang dapat disebut juga asetosal atau aspirin merupakan obat yang memiliki aktivitas analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik (Wilmana dan Gan, 2007). Mekanisme antipiretik dari aspirin yaitu menurunkan jumlah PGE2 dengan menghambat aktivitas enzim COX secara *irreversible*. Enzim tersebut mengkatalis perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin E2, prostaglandin H2, dan tromboksan A2 (Miladiyah, 2012). Aspirin mencapai kadar tertinggi setelah 1-2 jam pemberian obat dan memiliki durasi terapi yaitu 4-6 jam (Aberg *et al.*, 2009). Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (2015), dosis terapi aspirin untuk antipiretik yaitu sekitar 300-900 mg tiap 4-6 jam. Dosis lainnya yang dapat digunakan yaitu 325-1000 mg tiap 4-6 jam dengan dosis maksimal 4 g perhari (Aronoff dan Neilson, 2001).

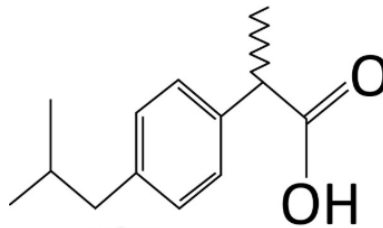
Aspirin memiliki efek samping diantaranya iritasi saluran cerna, bronkospasme, dan pada pasien hipersensitif menimbulkan reaksi kulit (BPOM RI, 2015). Selain itu, sindrom reye juga dikaitkan dengan penggunaan aspirin. Meskipun aspirin belum terbukti menyebabkan terjadinya sindrom reye. Namun muncul dugaan bahwa, aspirin dapat menimbulkan disfungsi membran mitokondria yang memblok fosforilasi oksidatif dan oksidasi asam lemak  $\beta$  (Sari dan Irawati, 2018). Struktur aspirin/asetosal dapat dilihat dari Gambar 2.7 berikut ini (Wilmana dan Gan, 2007):



Gambar 2.7 Struktur Aspirin (Sumber: Wilmana dan Gan, 2007)

### 2.6.2 Ibuprofen

Ibuprofen merupakan obat golongan NSAIDs yang tidak selektif karena menghambat COX-1 dan COX-2 secara *reversible* serta memiliki efek analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik (Mazaleuskaya *et al.*, 2015). Obat ini diabsorpsi secara cepat melalui lambung dan kadar maksimal dalam plasma dicapai setelah 1-2 jam (Wilmana dan Gan, 2007) dan memiliki durasi terapi yaitu 4-6 jam (Aberg *et al.*, 2009). Dosis terapi ibuprofen untuk antipiretik berkisar 200-800 mg tiap 6-8 jam dengan maksimal dosis 3,2 g perhari (Aronoff dan Neilson, 2001). Menurut Badan Pusat Pengawasan Obat dan Makanan (2015), dosis umum ibuprofen yaitu 200 hingga 250 mg untuk dewasa dan anak usia 8-12 tahun sedangkan dosis 50 mg untuk anak usia 1-2 tahun dan dosis 100-125 mg untuk anak usia 3-7 tahun 3-4 kali sehari. Struktur dari ibuprofen dapat dilihat pada Gambar 2.8 berikut ini (Bushra dan Aslam, 2010):



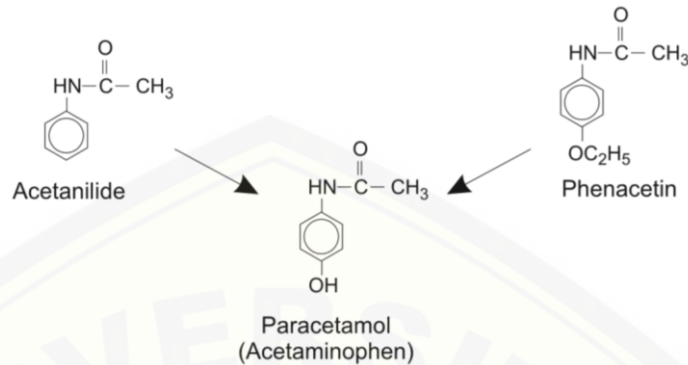
Gambar 2.8 Struktur Ibuprofen (Sumber: Bushra dan Aslam, 2010)

Ibuprofen memiliki onset lebih lama dari parasetamol (Wahba, 2004). Obat ini biasanya digunakan pada anak-anak yang demam dan nyeri akut dengan dosis 5-10 mg/kgBB setiap 6-8 jam karena memiliki keamanan yang lebih baik dari aspirin dan memiliki kemanjuran lebih baik dari parasetamol. Selain itu, ibuprofen (dewasa: 200-800 mg setiap 6-8 jam; pediatrik: 5-10 mg/kgBB setiap 6-8 jam) memiliki efek antipiretik dan analgesik yang lebih besar pada anak-anak dan orang dewasa dari parasetamol (dewasa: 500-1000 mg setiap 6-8 jam; pediatrik: 10-15 mg/kgBB setiap 4-6 jam) (Mazaleuskaya *et al.*, 2015). Efek samping yang umum terjadi pada penggunaan ibuprofen diantaranya: sakit kepala, diare, konstipasi, mual, muntah, perdarahan lambung, nyeri abdomen, dan lain-lainnya (BPOM RI, 2015).

### 2.6.3 Asetaminofen

Asetaminofen atau dapat disebut juga dengan parasetamol merupakan turunan senyawa induk *p*-aminofenol yang memiliki rumus empiris  $C_8H_9NO_2$  serta berat molekul 151,2 (Sudjadi dan Rohman, 2018). Efek antipiretik yang ada disebabkan adanya gugus aminobenzen (Wilmana dan Gan, 2007). Parasetamol juga memiliki aktivitas lainnya yaitu sebagai analgesik dan antiinflamasi lemah (Aronof dan Neilson, 2001). Pendapat lain menyatakan bahwa parasetamol tidak memiliki efek antiinflamasi sehingga tidak termasuk ke dalam golongan NSAIDs. Mekanisme kerja parasetamol sebagai agen antipiretik yaitu dapat memblok kerja enzim *cyclooxygenase-3* (COX-3) pada sel endotel anterior hipotalamus sehingga pembentukan prostaglandin juga terhambat. Jumlah prostaglandin yang menurun membuat panas tubuh juga mengalami penurunan (Zulfa *et al.*, 2017). Struktur

parasetamol dapat dilihat pada Gambar 2.9 berikut ini (Jozwiak-Bebenista dan Nowak, 2014):



Gambar 2.9 Struktur Parasetamol (Sumber: Jozwiak-Bebenista dan Nowak, 2014)

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna dalam saluran cerna dimana konsentrasi tertinggi di dalam plasma dicapai dalam waktu 30 menit dan waktu paruh plasma 1-3 jam (Wilmana dan Gan, 2007) serta memiliki durasi terapi 4-6 jam (Aberg *et al.*, 2009). Parasetamol dapat mengalami metabolisme fase 1 dan kemudian menghasilkan N-asetil-p-benzoquinon-imina (NAPQI), metabolit reaktif dan dapat mengakrilasi makromolekul esensial (contohnya protein) sehingga menjadi toksik. Selanjutnya, senyawa tersebut akan dikonjugasi dengan glutation yang dikatalisis oleh enzim (glutation S-transferase) menghasilkan asam merkapturat sehingga dapat dikeluarkan melalui ginjal (Sulanjani dan Hartati, 2016). Akan tetapi, parasetamol yang digunakan pada dosis berlebihan dan pemakaian jangka panjang menyebabkan NAPQI terus bertambah. Jumlah NAPQI yang tidak sebanding dengan jumlah glutation membuat NAPQI berikatan membentuk makromolekul dengan sel hati yang mengakibatkan nekrosis hati (Jurnal *et al.*, 2015).

Dosis parasetamol untuk orang dewasa yaitu 500 mg hingga 1 g setiap tiga kali sehari dan dosis maksimal hariannya 4 g sedangkan dosis untuk anak-anak usia diatas 6 tahun yaitu 325 mg setiap 4 hingga 6 jam dan dosis maksimalnya 1,6 g. Maksimal penggunaan obat ini 3 hari berturut-turut dan tidak dianjurkan pada orang dengan gangguan hati dan peminum alkohol (Fitriani, 2013). Penggunaan parasetamol dalam jangka panjang dan dosis berlebihan (overdosis) juga dapat

menyebabkan kerusakan hati (BPOM RI, 2015). Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian parasetamol dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kgBB) (Wilmana dan Gan, 2007).

## 2.7 Tinjauan tentang Ragi

Menurut Montes de Oca *et al.*, (2016) ragi merupakan jamur eukariotik bersel tunggal (uniseluler). Ragi membentuk kelompok jamur tiruan yang sebagian besar terdiri dari organisme bersel tunggal. Ukuran partikel sel ragi biasanya 5x10  $\mu\text{m}$ . Organel yang paling penting dari ragi yaitu nukleus, mitokondria, aparatus golgi, retikulum endoplasma dan sitoskeleton. Kandungan dari ragi yaitu mikroorganisme yang dapat merombak karbohidrat menjadi glukosa dan dilanjutkan menjadi alkohol (Islami, 2019).

Dinding sel ragi dari *Saccharomyces cerevisiae* mengandung polimer manna yang dapat menstimulus sekresi sitokin pirogenik seperti TNF- $\alpha$  yang kemudian memulai tahapan pirogenik dalam sirkulasi darah. Zat pirogenik yang berada di perifer dapat memberikan respon demam pada hipotalamus dengan cara meningkatkan sintesis produk COX dari asam arakidonat (khususnya PGE2) di pusat termoregulasi otak untuk menaikkan termoregulasi dari *set point* (Ataoglu *et al.*, 2000). Ragi juga mengandung bakteri gram positif dapat menimbulkan demam dengan memicu reaksi inflamasi dengan melepas pirogen endogen, bagian dari bakteri tersebut adalah mukopeptida (Feuer dan de la Iglesia, 2019). Ragi telah lama digunakan sebagai agen penginduksi demam dalam uji antipiretik. Beberapa ragi tersebut diantaranya ragi tape (Swantara *et al.*, 2017), ragi roti (*baker yeast*) (Abbasi *et al.*, 2018; Wismananda *et al.*, 2018) dan ragi bir (*brewer's yeast*) (Belangoy dan Mariano, 2016; Muhammad *et al.*, 2012).

Ragi tape merupakan inokulum padat yang mengandung mikroba seperti khamir, bakteri, dan kapang yang berfungsi sebagai starter fermentasi (Raharjanti, 2006). Khamir sendiri merupakan jamur renik bersel tunggal dan berkembang biak dengan bertunas, sedangkan kapang merupakan jamur renik yang memiliki miselia dan massa spora yang jelas (Ahmad, 2009). Bakteri termasuk kedalam organisme



prokariotik dan bersel tunggal (uniselular) (Prasetyawati, 2009). Contoh kapang pada ragi tape yaitu *Mucor sp.* dan *Rhizopus oryzae*, sedangkan contoh dari khamir yaitu *Endomycopsis burtonii*, *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Saccharomycopsis fibuligera* serta contoh dari bakteri yaitu *Pediococcus sp.* (gram positif) (Widyawati, 2019). Ragi tape dapat menaikkan suhu rektal hewan coba > 0,7 °C (Swantara *et al.*, 2017).

Ragi roti dan ragi bir terbuat dari spesies *Saccharomyces cerevisiae* yang menjadi pirogen jamur paling umum digunakan untuk menginduksi demam. Spesies *Saccharomyces cerevisiae* juga dapat menyebabkan lesu, *stunting*, dan anoreksia pada dosis 2 g/kgBB dan 4 g/kgBB secara subkutan (Dangarembizi *et al.*, 2017). Respon yang serupa juga diberikan oleh *zymosan* (300 mg/kgBB) yang merupakan kompleks protein-karbohidrat yang diekstrak dari dinding sel khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Bastos-Pereira *et al.*, 2017; Dangarembizi *et al.*, 2018). Ragi roti dapat menaikkan suhu rektal hewan coba antara 0,5-1 °C setelah 4 jam diinduksi (Abbasi *et al.*, 2018). Menurut Wismananda *et al.* (2018), ragi roti dapat menaikkan suhu rektal tikus sebesar 1-3 °C. Sementara, ragi bir biasanya dapat menaikkan suhu rektal  $\geq 0,7$  °C dari suhu awal (Sini *et al.*, 2010).

Metode induksi demam dengan ragi memiliki keuntungan dikarenakan hewan uji mengalami demam lebih cepat (4-5 jam) sehingga durasi percobaan menjadi singkat dan mengurangi ketidaknyamanan akibat demam pada hewan uji. Selain itu, metode ini juga memenuhi lima kriteria respon pirogen yang baik diantaranya: dapat terjadi pada semua atau sebagian hewan besar; mayoritas dapat dideteksi dengan pasti; dapat terjadi segera atau dalam beberapa jam sehingga meminimalkan durasi percobaan dan ketidaknyamanan hewan; peka terhadap antipiretik dan dapat dilakukan manipulasi farmakologis dengan baik (Tomazetti *et al.*, 2005).

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis penelitian dan desain penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium atau dapat disebut sebagai *true experimental laboratories*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antipiretik ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi ragi.

### 3.2 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga September 2020 yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi sebagai tempat pembuatan dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak bandotan. Pengukuran suhu rektal hewan uji dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.3 Variabel penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah tiga tingkatan dosis ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). Tingkatan dosis pada penelitian ini adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB (Hassan *et al.*, 2012).

#### 3.3.2 Variabel terikat

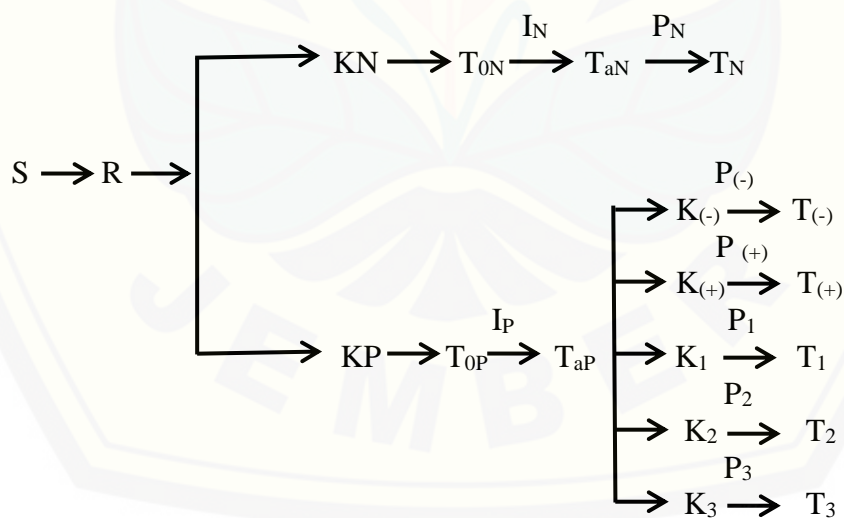
Variabel terikat pada penelitian ini adalah efek antipiretik ekstrak etanol herba bandotan yang dapat diketahui dari persentase inhibisi pireksia suhu rektal mencit (*Mus musculus*).

### 3.3.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan rata-rata 20-30 gram, usia, jenis kelamin, makanan serta lingkungan hewan uji. Selain kondisi fisik hewan, variabel terkendali dari penelitian ini adalah waktu ekstraksi, cara ekstraksi, waktu pengamatan suhu dan rute pemberian.

### 3.4 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan sejumlah mencit yang diberi induksi ragi roti 10 ml/kgBB 20% (b/v) dalam normal salin 0,9% secara subkutan (Hossain *et al.*, 2011; Akapa *et al.*, 2014) untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak herba bandotan terhadap suhu rektal mencit. Kelompok perlakuan terdiri dari 6 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dengan 3 tingkatan dosis. Skema rancangan penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Kelompok sampel

R : Randomisasi

- $I_N$  : Injeksi normal salin 0,9% secara subkutan (s.c)  
 $I_p$  : Induksi ragi roti 10 ml/kgBB 20% (b/v) secara subkutan (s.c)  
 $K$  : Kelompok hewan uji  
 $P$  : Perlakuan  
 $N$  : Normal, diberi CMC-Na 1% secara peroral  
 (+) : Kontrol positif, diberi suspensi parasetamol 100 mg/kgBB  
 (-) : Kontrol negatif, diberi CMC Na 1% secara peroral  
 1 : Kelompok uji 1, diberi suspensi ekstrak herba bandotan 100 mg/kgBB secara peroral  
 2 : Kelompok uji 2, diberi suspensi ekstrak herba bandotan 200 mg/kgBB secara peroral  
 3 : Kelompok uji 3, diberi suspensi ekstrak herba bandotan 400 mg/kgBB secara peroral  
 $T_0$  : Suhu rektal sebelum induksi  
 $T_a$  : Suhu rektal setelah induksi  
 $T$  : Suhu rektal setelah diberi perlakuan

### 3.5 Populasi dan sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan, galur Balb-c dengan usia 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 20-30 g yang berasal dari Jember. Hewan uji pada penelitian ini dikelompokkan menggunakan metode *simple random sampling*. Kelompok hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok berdasarkan rumus Federer dengan persamaan 3.1.

$$(p - 1)(n - 1) \geq 15 \dots\dots\dots 3.1$$

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

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

$$(n - 1) \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

$p$  : Jumlah keseluruhan dari kelompok perlakuan

$n$  : Jumlah replikasi setiap kelompok

Jumlah hewan uji yang dapat dilakukan pada penelitian sejumlah 6 kelompok dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor mencit sehingga total untuk seluruh kelompok hewan uji yaitu 24 ekor. Hewan coba sebelumnya telah diajukan uji etik dengan hasil terlampir pada Lampiran 3.1.

### 3.6 Definisi operasional

Definisi operasional penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

- a. Serbuk simplisia herba bandotan pada penelitian ini diperoleh dari UPT. Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Bagian dari simplisia herba bandotan ini terdiri atas seluruh bagian tumbuhan bandotan dan berusia  $\pm 2$  bulan. Hasil determinasi tumbuhan bandotan terdapat pada Lampiran 3.2.
- b. Mencit dikatakan demam apabila suhu rektalnya mengalami kenaikan suhu  $> 0,5^{\circ}\text{C}$  dari suhu *baseline* (Muhammad *et al.*, 2012) dengan kenaikan melebihi suhu  $37,3^{\circ}\text{C}$  (Pasin *et al.*, 2010).
- c. Aktivitas antipiretik dapat diketahui dari nilai rata-rata persen inhibisi pireksia dari kelompok dosis ekstrak yang memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif berdasarkan hasil analisis *post hoc* LSD.

### 3.7 Alat dan bahan penelitian

#### 3.7.1 Alat

Alat pada penelitian ini terdiri dari kandang mencit, tempat minum mencit, masker, sarung tangan, *stopwatch*, mortir, stemper, cawan poselin, seperangkat alat gelas, *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), timbangan analitik (Sartorius), timbangan hewan (Ohaus), maserator, oven (Memmert), rak tabung reaksi, plat tetes, seperangkat alat sonde, seperangkat alat injeksi (Terumo), corong Buchner,

kuvet, spektrofotometri UV-Vis (Hitachi U-1800), dan Termometer digital (GP Care)  $\pm 0,1$  °C.

### 3.7.2 Bahan

Serbuk simplisia herba bandotan (UPT. Laboratorium Herbal Materia Medica Batu), etanol 70%, pelet mencit, vaselin, CMC-Na, ragi roti (Fermipan), tisu, sarung tangan, normal salin 0,9% (ECOSOL NaCl), standart kuersetin (Sigma), parasetamol tablet 500 mg (P.T. First Medhipharma), reagen Wagner, reagen Mayer, reagen Liebermann-Burchard, HCl, FeCl<sub>3</sub>, NaCl, magnesium, kertas saring, aluminium foil, kloroform, HCL pekat, AlCl<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COOK, akuades, dan metanol.

## 3.8 Prosedur penelitian

### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Bandotan

Serbuk simplisia sebanyak 300 g dimasukkan kedalam maserator dan diberi etanol 70% dengan perbandingan (5:1) dan direndam selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari. Kemudian, serbuk tersebut diremaserasi 1 hari dengan menambahkan etanol 70% hingga serbuk terendam seluruhnya. Maserat disaring dengan corong Buchner untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dioven dengan suhu 40-50°C untuk menghilangkan sisa pelarut guna mendapatkan ekstrak kental (Padmasari *et al.*, 2013). Persen rendemen ekstrak dapat dihitung dengan persamaan 3.2 (Dewatisari *et al.*, 2017).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak bandotan (gram)}}{\text{bobot serbuk bandotan (gram)}} \times 100\% \dots\dots\dots 3.2$$

### 3.8.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan tanin.

a. Identifikasi senyawa golongan flavonoid

Senyawa golongan flavonoid dapat diidentifikasi dengan menggunakan HCL pekat dan magnesium (Harborne, 1987). Ekstrak 0,1 g dilarutkan kedalam etanol 3 ml. Kemudian, larutan tersebut ditambah 0,5 mL HCL pekat dan 4 potong magnesium. Larutan yang berubah warna menjadi merah menandakan adanya flavonoid (Simaremare, 2014; Frastika *et al*, 2017).

b. Identifikasi senyawa golongan saponin

Senyawa golongan saponin dapat diidentifikasi dengan menimbang sejumlah 0,1 g ekstrak dan larutkan 10 mL air panas. Larutan uji dikocok vertikal selama 10 detik dan diamkan selama 10 menit untuk melihat busa yang terbentuk. Busa yang stabil menunjukkan adanya senyawa golongan saponin (Depkes RI, 1995).

c. Identifikasi senyawa golongan tanin

Identifikasi senyawa golongan tanin dilakukan dengan menimbang 0,1 g ekstrak dan dilarutkan dalam 3 mL akuades kemudian disaring. Filtrat diberi beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  dan amati perubahan warna yang terjadi. Larutan yang kemudian menghasilkan endapan atau warna hijau kehitaman menandakan adanya senyawa tanin (Desinta, 2015; Sukma *et al.*, 2018; Trease dan Evan, 1996).

d. Identifikasi senyawa golongan alkaloid

Senyawa golongan alkaloid dapat diidentifikasi dengan penambahan reagen Wegner (Farnsworth, 1966). Ekstrak sejumlah 0,3 g ditimbang dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 5 mL HCL 2N. Larutan tersebut dipanaskan  $\pm$  3 menit. Selanjutnya, larutan yang telah dingin ditambahkan serbuk NaCl 0,3 g dan disaring. Filtrat ditambahkan lagi 5 mL HCL 2N dan dibagi menjadi dua. Tabung pertama untuk blanko dan tabung kedua ditambahkan dengan reagen Wagner. Larutan yang berubah warna menjadi coklat menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid (Resmi, 2011; Mengkido *et al.*, 2019).

e. Identifikasi senyawa golongan terpenoid dan steroid

Identifikasi senyawa golongan terpenoid dan steroid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Liebermann Burchard yang terdiri dari asam asetat

anhidrat dan asam sulfat pekat. Ekstrak 1 g dilarutkan 3 mL kloroform dan disaring. Filtrat selanjutnya ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann Burchard. Larutan yang membentuk cincin kecoklatan atau violet menandakan adanya terpenoid sedangkan adanya perubahan warna menjadi biru hijau menandakan adanya steroid (Harborne 1987; Hanani, 2015; Hikmah *et al.*, 2018).

### 3.8.3 Penentuan Kadar Flavonoid Total

Metode penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode  $\text{AlCl}_3$  (Hassan *et al.*, 2012; Ordonez *et al.*, 2006).

#### a. Pembuatan larutan pereaksi

Alumunium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) dibuat dari 2,5 g  $\text{AlCl}_3$  yang dimasukkan ke dalam 25 mL labu ukur dan dilarutkan akuades. Kalium asetat kemudian dibuat dari 0,98 g  $\text{CH}_3\text{COOK}$  yang dilarutkan akuades 10 mL. Hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 3.3.

#### b. Pembuatan larutan standar flavonoid

Kuersetin 20 mg dan 40 mg ditimbang dan dimasukkan labu ukur 10 mL. Larutan ditambah dengan metanol sampai tanda batas dan dihomogenkan hingga di dapatkan konsentrasi 2000  $\mu\text{g/mL}$  dan 4000  $\mu\text{g/mL}$ . Larutan tersebut kemudian diencerkan untuk mendapatkan larutan standar 20  $\mu\text{g/mL}$ , 40  $\mu\text{g/mL}$ , 60  $\mu\text{g/mL}$ , 80  $\mu\text{g/mL}$ , dan 90  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 3.4.

#### c. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan standar kuersetin 20  $\mu\text{g/mL}$  dipipet 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan ditambahkan 1,5 mL metanol,  $\text{AlCl}_3$  100  $\mu\text{L}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  100  $\mu\text{L}$  dan ditambah akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian di-*scanning* panjang gelombangnya dengan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang dipilih merupakan panjang gelombang dengan absorbansi terbesar.

#### d. Penentuan waktu inkubasi optimum

Larutan standar kuersetin dipipet 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan ditambahkan 1,5 mL metanol,  $\text{AlCl}_3$  100  $\mu\text{L}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  100  $\mu\text{L}$  dan



ditambah akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 428 nm setiap 5 menit selama 60 menit dimulai pada menit ke-0. Waktu inkubasi yang optimal memiliki absorbansi stabil atau tidak terjadi peningkatan yang signifikan.

e. Pembuatan larutan sampel

Ekstrak etanol herba bandotan ditimbang sejumlah 50 mg dengan replikasi tiga kali. Ekstrak tersebut kemudian dilarutkan dalam metanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 5000  $\mu\text{g/mL}$ .

f. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan standar kuersetin dipipet 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Kemudian, larutan ditambahkan 1,5 mL metanol,  $\text{AlCl}_3$  100  $\mu\text{L}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  100  $\mu\text{L}$  dan ditambah akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama 35 menit dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada  $\lambda$  428 nm.

g. Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol herba bandotan

Larutan sampel ekstrak dipipet 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Larutan ditambahkan 1,5 mL metanol,  $\text{AlCl}_3$  100  $\mu\text{L}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  100  $\mu\text{L}$  dan ditambah akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama 35 menit dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada  $\lambda$  428 nm. Kadar flavonoid total dapat dinyatakan dalam mg QE (ekuivalen kuersetin) dalam 1 g ekstrak.

#### 3.8.4 Pembuatan Perlakuan pada Hewan uji

a. Pembuatan suspensi CMC Na 1%

Sejumlah 1 g CMC Na ditaburkan sedikit demi sedikit diatas 100 mL akuades dan didiamkan hingga terlarut selama 1 hari.

b. Pembuatan suspensi parasetamol

Sejumlah 100 mg parasetamol ditimbang dan disuspensikan dengan larutan CMC Na 1% sebanyak 10 mL. Suspensi parasetamol digunakan untuk kelompok kontrol positif pada hewan uji. Hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 3.5.

c. Pembuatan suspensi ragi roti 20 % (b/v)

Suspensi ragi roti 10 ml/kg 20 % (b/v) terbuat dari sejumlah 2 g ragi roti ditimbang dan larutkan 10 mL normal salin 0,9 %. Sediaan ragi roti akan diinjeksikan secara subkutan (s.c) pada hewan uji. Hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 3.5.

d. Pembuatan suspensi ekstrak herba bandotan

Suspensi ekstrak herba bandotan dibuat dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Suspensi ekstrak herba bandotan dosis 100 mg/kgBB terbuat dari 100 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL suspensi CMC Na 1%. Suspensi ekstrak herba bandotan dosis 200 mg/kgBB terbuat dari 200 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL suspensi CMC Na 1%. Suspensi ekstrak herba bandotan dosis 400 mg/kgBB terbuat dari 400 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 10 mL suspensi CMC Na 1%. Hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 3.5.

### 3.8.5 Perlakuan pada Hewan coba

Mencit diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari sebelum dilakukan perlakuan. Mencit diberi makan dan minum secukupnya, setelah 7 hari mencit ditimbang berat badannya dan membaginya secara menjadi 6 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor. Mencit kemudian dipuasakan selama 18 jam dan diberi minum saja. Mencit kembali ditimbang untuk mengetahui berat badan tetap memenuhi kriteria (20 g-30 g).

Semua mencit diukur suhu tubuhnya melalui rektal sedalam 0,5-1 cm selama  $\pm 1,5$  menit dengan bantuan termometer digital yang sudah diolesi vaselin. Mencit dipilih yang memiliki suhu rektal  $36^{\circ}\text{C} - 37,3^{\circ}\text{C}$  untuk digunakan sebagai suhu *baseline* (Berman *et al.*, 2010; Pasin *et al.*, 2010). Kemudian, mencit diinjeksi secara subkutan dengan ragi roti 10 ml/kgBB 20% (b/v) untuk induksi demam kecuali kelompok normal diinduksi dengan normal salin 0,9%. Mencit telah diinduksi selama 4 jam kemudian diukur suhu rektalnya guna melihat keberhasilan induksi. Mencit yang tidak memiliki kenaikan suhu  $> 0,5^{\circ}\text{C}$  (Muhammad *et al.*, 2012) diatas suhu *baseline* ( $37,3^{\circ}\text{C}$ ) dikeluarkan dalam percobaan. Selanjutnya,

mencit diberi perlakuan diantaranya kelompok kontrol negatif diberi suspensi CMC Na 1%, kelompok kontrol positif diberi suspensi parasetamol 100 mg/kgBB (Akapa *et al.*, 2014; Muhammad *et al.*, 2012), kelompok perlakuan 1 diberi suspensi ekstrak herba bandotan dosis 100 mg/kgBB, kelompok perlakuan 2 diberi suspensi ekstrak herba bandotan dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan 3 diberi suspensi ekstrak herba bandotan dosis 400 mg/kgBB. Suhu rektal mencit diukur dan dicatat secara berkala tiap jam selama 4 jam setelah perlakuan. Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasi dan dilakukan perhitungan kenaikan suhu serta persen inhibisi pireksia dengan persamaan 3.3 (Muhammad *et al.*, 2012; Mehalingam *et al.*, 2014).

$$\% \text{ Inhibisi pireksia} = \frac{B - Cn}{B - A} \times 100\% \dots\dots\dots 3.3$$

Keterangan:

B : Suhu rektal setelah 4 jam diinduksi ragi

A : Suhu rektal sebelum diinduksi ragi

Cn : Suhu rektal setelah diberi perlakuan pada jam tertentu

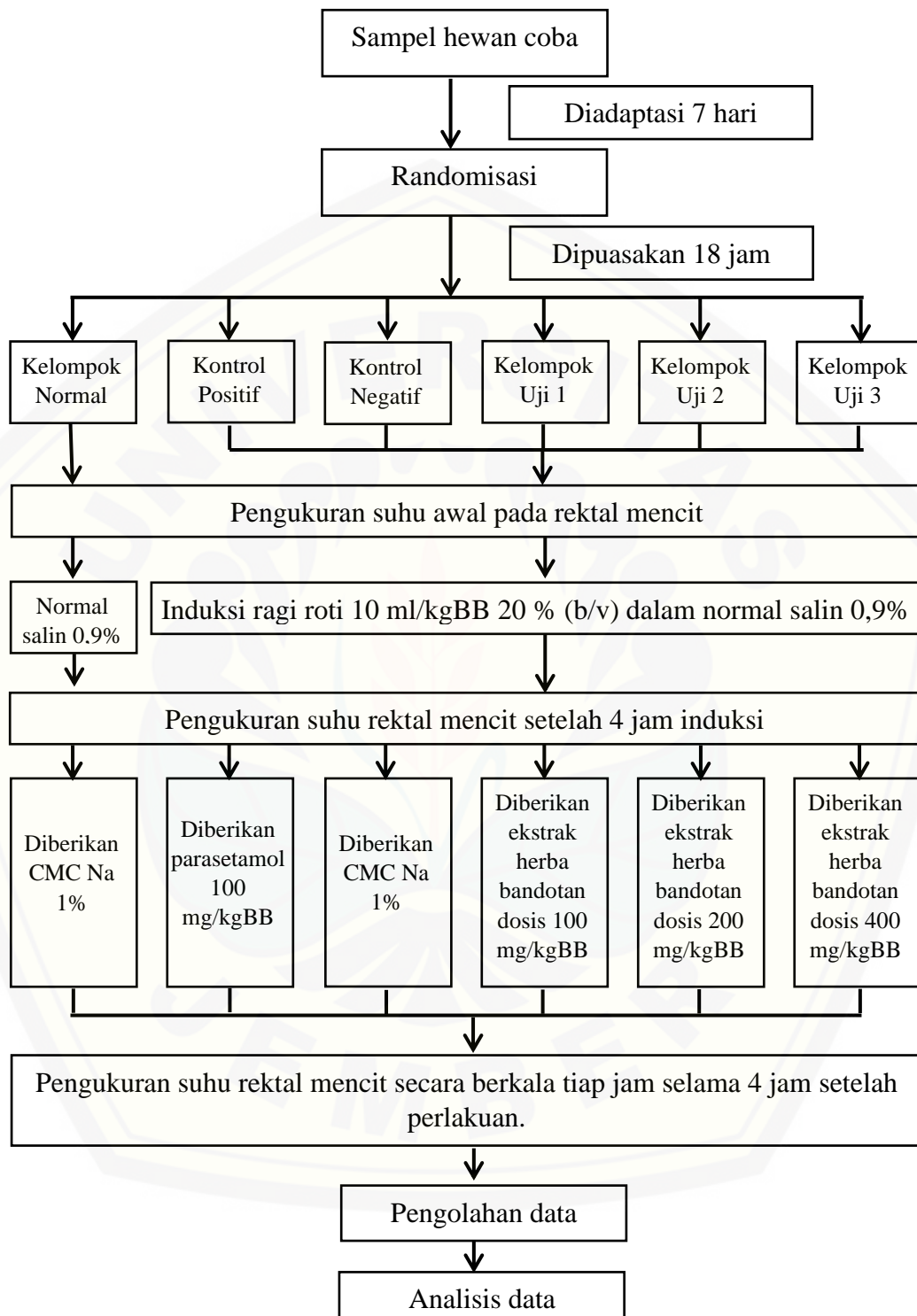
### 3.8.6 Analisis data

Data yang diperoleh dari kenaikan suhu dan % inhibisi pireksi selanjutnya dianalisis uji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan sebuah program komputer statistik yaitu *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Jika data % inhibisi pireksi telah memenuhi persyaratan normalitas dan homogenitas yaitu nilai  $p > 0,05$  maka dapat dilakukan uji parametrik *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95 %. Uji ini dilakukan untuk membandingkan rata-rata kelompok, apabila terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p < 0,05$  maka dilanjutkan uji *post hoc* LSD. Sementara, uji *t independent* digunakan untuk menganalisis kenaikan suhu. Uji tersebut dapat menunjukkan ada tidaknya perbedaan signifikan antara kelompok yang tidak diinduksi dengan kelompok yang diinduksi ragi 10 ml/kgBB. Hasil akan dianggap

berbeda signifikan secara statistik apabila nilai  $p < 0,05$ . Hasil analisis yang telah didapatkan tersebut kemudian disajikan dalam bentuk tabel.



### 3.9 Alur penelitian



Gambar 3. 2 Alur Penelitian

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dapat disimpulkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa:

1. Ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) mengandung flavonoid total sebesar 67,52 mg QE/g ekstrak.
2. Ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antipiretik.
3. Aktivitas antipiretik pada ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai persen hambat pireksia pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB yaitu 89,0%, 100,5%, dan 105,7% secara berurutan pada jam ke-4.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Disarankan untuk fraksinasi dan isolasi senyawa dari bandotan yang berpotensi memiliki aktivitas antipiretik.
2. Variasi dosis pada penelitian memiliki hasil yang tidak berbeda signifikan sehingga disarankan untuk memilih variasi dosis lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi W. M., S. Ahmad, S. Perveen, dan T. Rehman. 2018. Preliminary phytochemical analysis and in vivo evaluation of antipyretic effects of hydro-methanolic extract of *Cleome scaposa* leaves. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 8: 144-149.
- Abena, A. A., J. M. Ouamba, dan A. Keita. 1996. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of essential oil of *Ageratum conyzoides*. *Phytotherapy Research*. 10(1).
- Aberg, J. A., C. F. Lacy, L. L. Armstrong, M. P. Goldman dan L. L. Lance. 2009. *Drug Information Handbook 17<sup>th</sup> edition*. American Pharmacist Association.
- Ahmad, I., H. Khan, A. Gilani, dan M. A. Kamal. 2017. Potential of plant alkaloids as antipyretic drugs of future. *Current Drug Metabolism*. 18: 138-144.
- Ahmad, R. Z. 2009. Cemaran Kapang pada Pakan dan Pengendaliannya. *Jurnal Litbang*. 28(1): 15-22.
- Ajayi, O. E., S. I. Awala, F. N. Okogbue, A. G. Ogunleye, dan B. F. Olaleye. 2016. Antibacterial efficacy of *Ageratum conyzoides* on salmonella species isolated from suspected typhoid fever patients in akure metropolis, nigeria. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*. 6(2): 1-9.
- Akapa, T. C., A. O. Kehinde, O. O. Beatrice, O. J. Olajide. 2014. Antipyretic Activity of *Abutilon mauritianum* (Jacq.) Roots in Wistar Rats. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. 5(2): 42-46.
- Amadi, B. A., M. K. C. Duru, dan E. N. Agomuo. 2012. Chemical profiles of leaf, stem, root and flower of *Ageratum conyzoides*. *Pelagia Research Library*. 2(4): 428-432.
- Anochie, P. I. 2013. Mechanisms of fever in humans. Review. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*. 2(5): 37-43.
- Arifin, B., dan S. Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21-29.
- Aronof, D. M., dan E. G. Neilson. 2001. Antipyretics: Mechanisms of Action and Clinical Use in Fever in Suppression. *The American Journal of Medicine Review*. (111): 304-315.
- Ataoglu, H., M. D. Dogan, F. Mustafa, dan E. S. Akarsu. 2000. *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* cell wall mannans produce fever in rats: role of

- nitric oxide and cytokines. *Life Sciences*. 67(18): 2247–2256.
- Azizah, M. N. 2018. Penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun ndok-ndokan (*Xanthophyllum vitellinum*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Bastos-Pereira, A. L., D. Fraga, A.A. Dreifuss, dan A. R. Zampronio. 2017. Central mediators of the zymosan-induced febrile respon. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 1-8.
- Bastos-Pereira, A. L., D. Fraga, D. Ott, B. Simm, J. Murgott, J. Roth, dan A. R. Zampronio. 2014. Involvement of brain cytokines in zymosan-induced febrile respon. *J Appl Physiol*. 166: 1220-1229.
- Beda, T. O. 2018. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Sirsak Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl) dengan Metode Kolorimetri  $AlCl_3$ . *Karya Tulis Ilmiah*. Kupang: Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
- Belangoy, K. P. dan F. I. Mariano. 2016. Antipyretic activity of *Moringa oleifera* leaf extract in albino rats. *ResearchGeta*. Cebu Philippines: University of San Carlos.
- Berman, A., S. J. Snyder, B. Kozier, G. L. Erb, T. C. Jones, T. Dwyer, M. Hales, N. Harvey, L. Moxham, T. Park, B. Parker, K. R. Searl, dan K. R. Stanley. 2010. *Fundamental of Nursing*. 3<sup>st</sup> ed. Australia : National Library of Australia.
- Blatteis, C. M. 2010. Fever as a Host Defense Mechanism. *NeuroImmune Biology*. 9: 213-235.
- Blomqvist, A. dan D. Engblom. 2018. Neural Mechanisms of Inflammation Induced Fever. *The Neuroscientist*. 1-19.
- BPOM RI. 2015. Pusat Informasi Obat Nasional: Badan Pengawasan Obat dan Makanan. <http://pionas.pom.go.id/monografi/asetosal-asam-asetilsalisilat> [Diakses pada 10 Juni 2020].
- BPOM RI. 2015. Pusat Informasi Obat Nasional: Badan Pengawasan Obat dan Makanan. <http://pionas.pom.go.id/monografi/ibuprofen> [Diakses pada 10 Juni 2020].
- BPOM RI. 2015. Pusat Informasi Obat Nasional: Badan Pengawasan Obat dan Makanan. <http://pionas.pom.go.id/monografi/parasetamol-asetaminofen> [Diakses pada 12 Maret 2020].
- Bushra, R. dan N. Aslam. 2010. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. *Oman Medical Journal*. 25(3): 155-161.



- CABI. 2019. Invasive Species Compendium: *Ageratum conyzoides* (billy goat weed). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/3572#tosummaryOfInvasiveness> [Diakses pada 13 Oktober 2020].
- Charles, E. S. 2015. *Trauma Anesthesia Second Edition*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Chauhan, A. dan S. Rijhwani. 2015. A Comprehensive Review on Phytochemistry of *Ageratum conyzoides* Linn. (Goat weed). *International Journal of Engineering Technology, Management and Applied Sciences*. 3: 348-358.
- Chomchuen, S., C. Singharachai, N. Ruangrunsi, dan P. Towiwat. 2010. Antipyretic effect of the ethanolic extract of *Ficus racemosa* root in rats. *Journal Health Research*. 24(1): 23-28.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia: Volume 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dangarembizi, R., K. H. Erlwanger, C. Rummel, J. Roth, M. T. Madziva, L. M. Harden. 2017. Brewer's yeast is a potent inducer of fever, sickness behavior and inflammation within the brain. *Brain, Behavior, and Immunity*. 1-49.
- Dangarembizi, R., K. H. Erlwanger, C. D. Rummel, J. Roth, M. T. Madziva, L. M. Harden. 2018. Pyrogenic and neuroinflammatory properties of zymosan and its potential as an alternative to live yeast in antipyretic drug testing. *FACETS*. 4: 162-182.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi 5. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 2. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Desinta, T. 2015. Penentuan jenis tanin secara kualitatif dan penentuan kadar tanin dari kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) secara permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 4(1): 1-10.
- Dewatisari, W. F., L. Rumiyantri, dan I. Rakhmawati. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 17(3): 197-202.
- Dinareello, C. A. 1999. Cytokines as endogenous pyrogens. Fever: basic mechanism and management. *Journal Infectious diseases*. 179(2): S294-304.

- D'mello, P., M. K. Gadhawal, U. Joshi, dan P. Shetgiri. 2011. Modeling of cox-2 inhibitory activity of flavonoids. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 3(4): 33-40.
- Effendi, F. 2017. Aktivitas penyembuhan luka terbuka pada kelinci dari formulasi salep ekstrak etanol daun babandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*. 2(1): 7-16.
- Ere, D., K. Pondei, Q. Inaibo, dan L. Orutugu. 2014. Conyzoides extracted using different solvents phytochemicals and antimicrobial activity of plant parts of *Ageratum conyzoides* extracted using different solvents. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. 4(4): 3429-3434.
- Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*. 24: 851-874.
- Fadillah, A., A. Rahmadani, dan L. Rijai. 2017. Analisis kadar total flavonoid dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kelubut (*Pasiflora foetida* L.). *Proceeding of the 5<sup>th</sup> Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 23-24 April 2017. Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 21-26.
- Fauzy, L. 2016. Selektivitas Metode Analisis Formalin secara Spektrofotometri dengan Pereaksi Schryver. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
- Fernandes, A. J. D., M. R. A. Ferreira, K. P. Randau, T. P. de. Souza, dan L. A. L. Soares. 2012. Total flavonoid content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). *The Scientific World Journal*. 1-7.
- Feuer, G. dan F. A. de la Iglesia. 2019. *Molecular Biochemistry of Human Diseases Volume 3*. New York: CRC Press.
- Fitriani, D. 2013. *Pengobatan Mandiri: Menjadi Dokter Sendiri*. Jakarta: PT Bhuana Ilmu Populer.
- Frastika, D., R. Pitopang, dan I N. Suwastika. 2017. Uji efektivitas ekstrak daun kiriyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R. King dan H. Rob) sebagai herbisida alami terhadap perkecambahan biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) dan biji karuilei (*Mimosa invisa* Mart. Ex Colla). *Natural Science: Journal of Science and Thechnology*. 6(3): 225-238.
- Fransworth N. R. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3): 255-276.
- Gad, S. C. 2007. *Animal Models in Toxicology*. 2<sup>nd</sup> ed. London: CRC Press.

- Galati, E. M., N. Miceli, M. F. Taviano, R. Sanogo, dan E. Raneri. Anti-inflammatory and antioxidant activity of *Ageratum conyzoides*. *Pharmaceutical Biology*. 38(5): 336-339.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Hanani, E. 2015. *Analisis fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo, dan D. D. Rakesh. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science and High Technology.
- Hassan, Md. M., A. F. M. S.U. Daula, I. A. Jahan., I. Nimmi, T. Adnan, A. A. Mansur, dan H. Hossain. 2012. Anti-inflammatory activity, total flavonoid and tanin content from the ethanolic extract of *Ageratum conyzoides* Linn. left. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*. 1(5): 234-241.
- Hikmah, A. U., F. G. Bilkis, D. G. Maelani, dan Triastinurmiatiningsih. 2018. Pemanfaatan ekstrak daun babandotan (*Ageratum conyzoides*) sebagai bioherbisida gulma rumput teki (*Cyperus rotundus*). *Ekologia*. 18(1): 25-30.
- Hossain, E., S. C. Mandal, dan JK. Gupta. 2011. Phytochemical screening and in-vivo antipyretic activity of the methanol leaf-extract of *Bombax malabaricum* DC (Bombacaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 10(1): 55-60.
- Islami, R. 2019. Pembuatan ragi tape dan tape. *Jurnal UNHAS*. 56-63.
- Ismoedijanto. 2000. Demam pada anak. *Sari pediatric*. 2(2): 103-105.
- Jozwiak-Bebenista, M., dan J. Z. Nowak. 2014. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Pol Pharm*. 71: 11-23.
- Jurnalis, Y. D., Y. Sayoeti, dan M., Moriska. 2015. Kelainan Hati akibat Penggunaan Antipiretik. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 4(3): 978-987.
- Kalsi, S. S., D. M. Wood, W. S. Waring, dan P. I. Dargan. 2011. Does cytochrome P450 liver isoenzyme induction increase the risk of liver toxicity after paracetamol overdose? *Open Access Emergency Medicine*. 3: 69-76.
- Kamboj, A. dan A. K. Saluja. 2008. *Ageratum conyzoides* L: a review on its phytochemical and pharmacological profile. *International Journal of Green Pharmacy*. 58-68.
- Katno dan S. Pramono. 2002. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. *Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu*.

- Katno. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Tawangmangu: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/187/2017. Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia. 2017. 10 April 2017. Jakarta.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, W. I. Wijoyo. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Laporan Penelitian*. Manado: FMIPA UNSRAT.
- Lestari, R. R. 2018. Optimasi Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Menggunakan Desain Faktorial dengan Parameter Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Inderalaya: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
- Lin, N., T. Sato, Y. Takayama, Y. Mimaki, Y. Sashida, M. Yano, dan A. Ito. 2003. Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblast and mouse macrophages. *Biochemical Pharmacology*. 65: 2065-2071.
- Makiyah, S. N. N. dan U. H. Wardhani. 2017. Potensi ekstrak etanol buah *Citrullus lanatus* sebagai agen immunosupresi melalui pengamatan histologi limpa mencit Balb/c. *Majalah Kedokteran Bandung*. 49(4): 245-251.
- Manu, K. A. dan G. Kuttan. 2009. Immunomodulatory activities of Purnanavine, an alkaloid from *Boerhaavia diffusa*. *Immunopharmacol immunotoxicol*. 31(3): 377-387.
- Martinus, B. A. dan Verawati. 2015. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *SCIENTIA*. 5(1): 47-52.
- Mazaleuskaya, L. L., K. N. Theken, L. Gong, C. F. Thorn, G. A. F. Gerald, R. B. Altman, dan T. E. Klein. 2015. PharmGBK summary: ibuprofen pathways. *Pharmacogenetics and Genomics*. 25 (2): 96-106.
- Mehalingam, M. F. J. Bose, dan Natarajan. 2014. Pharmacological screening of leaf extract of ethnomedicinal plant, *Vitex altissima* (Verbenaceae) for its tradisional claims. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 7(1): 22-28.
- Melissa, M. M. 2017. Review: senyawa aktif dan manfaat farmakologis *Ageratum conyzoides*. *Farmaka*. 15(1): 200-212.

- Mengkido, M., O. Lambui, dan W. Harso. 2019. Uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biocelebes*. 13(2): 121-130.
- Miladiyah, I. 2012. Therapeutic Drug Monitoring (TDM) in The Use of Aspirin as Antiheumatoid Drugs. *Sains Medika Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 4(2): 210-226.
- Montes de Oca, R., A. Z. M. Salem., A. E. Kholif., H. Monroy, L. S. Perez, J. L. Zamora, dan A. Gutierrez. 2016. *Yeast: Description and Structure*. Dalam *Yeast Additive and Animal Production*. Editor A. Z. M. Salem, A. E. Kholif, A. K. Puniya. India: PubBioMed Central Research Publishing Services.
- Muhammad, N., M. Saeed, dan H. Khan. 2012. Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 1-8.
- Niven, D. J. dan K. B. Laupland. 2016. Pyrexia: aetiology in the icu. *Critical Care*. 20(1):1-9.
- Nuraeni, F., dan S. B. Br Sembiring. 2018. Aktivitas antioksidan serta identifikasi senyawa dari ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dengan liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). *Seminar Nasional Edusaintek: FMIPA UNIMUS*. 1-10
- Ordonez, A. A. L., J. D. Gomez, M. A. Vattuone, dan M. I. Isla. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* Swart extract. *Food Chemistry*. 97: 425-458.
- Padmasari, P.D., K. W. Astuti, dan N. K. Warditiani. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4): 1-6.
- Pasin, J. S. M., A. P. O Ferreira, A. L. L. Saraiva, V. Ratzlaff, R. Andrighetto, P. Machado, S. Marchesan, R. A. Zanette, H. G. Bonacorso, N. Zanatta, M. A. P. Martins, J. Ferreira, dan C. F. Mello. 2010. Antipyretic and antioxidant activities of 5-trifluoromethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles in rats. *Braz J Med Biol Res*. 43(12): 1193-1202.
- Potter, P. A., A. G. Perry, P. Stockert, dan A. Hall. 2016. *Fundamental of nursing 9<sup>th</sup> edition*. St. Louis: Elsevier.
- Prasetyawati, E. T. 2009. *Bakteri Rhizofer sebagai Pereduksi Merkuri dan Agensia Hayati*. Surabaya: UPN Press.
- Quast, S. dan O. Kimberger. 2015. *The significance of core temperature-Pathophysiology and measurement methods*. Gernay: Dräger Medical GmbH.

- Raharjanti, D. S. 2006. Penghambatan pertumbuhan *Aspergillus parasiticus* dan reduksi aflatoksin oleh kapang dan khamir ragi tape. *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Ramos, R. T. M., I. C. F. Bezerra, M. R. A. Ferrelra, dan L. A. L. Soares. 2017. Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Pharmacogn.Res.* 9: 253-260.
- Resmi, M. 2011. *Metodologi penelitian obat*. Bandung: Widya padjajaran.
- Rewo, C. A. Standardisasi Ekstrak Etanol 70 % Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Artikel Ilmiah*. Malang: Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. 1-11.
- Sandhar, H. S. 2003. *Textbook of Pathology: Bacteriology & Parasitology*. Germany: B. Jain.
- Saputri, M. P., R. Utami, J. Fadila, dan S. N. 2020. Handayani. Anti-inflamation activity of *Ageratum conyzoides* leaf ethanol extract on *Rattus novvergicus*. *Walisongo Journal of Chemistry*. 3(1): 46-51.
- Sari, R. A. P. dan N. A. V. Irawati. 2018. Asosiasi Penggunaan Aspirin pada *Viral Infection* dengan Sindrom Reye. *Majority*. 7(3): 266-270.
- Silbernagl, S. dan F. Lang. 2016. *Color Atlas of Pathophysiology*. 3<sup>rd</sup> Ed. Jerman: Thieme.
- Simaremare, E. S. 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. 11(1): 98-107.
- Sini, K. R., M. Karpakavalli, dan P. T. Sangeetha. 2010. Analgesic and antipyretic activity of *Cassia occidentalis* Linn. *World Applied Sciences Journal*. 11(10): 1216-12-19.
- Sudjadi dan A. Rohman. 2018. *Analisis Kuantitatif Obat*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sukma, F. F., D. Sahara, F. N. Ihsan, Halimatussakdiyyah, P. Wahyuningsih, dan U. Amna. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun “Temurui” (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) Kota Langsah, Aceh. *Jurnal Jeumpa*. 5(1): 34-39.
- Sulanjani, I., dan Hartati. 2016. *Dasar Pembuatan Sediaan dan Pelayanan Farmasi*. Depok: Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.
- Sullivan, J. E., H. C. Farrar, dan Bagian Farmakologi Klinis, Terapi dan Komite Obat-obatan. 2011. Fever and antipyretic use in children. *Official Journal of the American Academy of Pediatrics*. 580-587.

- Susanti, N. 2012. Efektivitas Kompres Dingin dan Hangat Pada Penataaksanaan Demam. *SAINTIS*. 1(1): 55-64.
- Suwito. 2016. Anak dengan Febris. *Laporan Pendahuluan*. Klaten: Program Studi Ners STIKES Muhammadiyah Klaten.
- Swantara, I, M. D., R. F. Rachman, dan N. M. Puspawati. 2017. Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L) secara In Vivo dan Kandungan Fenolik Totalnya. *Jurnal Kimia*. 11(2): 107-112.
- Thorat, V. H., S. S. Ghorpade, dan T. Patole. 2018. *Ageratum conyzoides* L.: a Review. *International Journal Pharmacocny*. 5(4): 213-218.
- Tomazetti, J., D. S. A´vila, A. P. O. Ferreira, J. S. Martins, F. R. Souza, C. Royer, M. A. Rubin, M. R. Oliveira, H. G. Bonacorso, M. A. P. Martins, N. Zanatta, C. F. Mello. 2005. Baker yeast-induced fever in young rats: Characterization and validation of an animal model for antipyretics screening. *Journal of Neuroscience Methods*. 147: 29-35.
- Trease, G. E. dan W. C. Evan. 1996. *Pharmacognosy*. 14<sup>th</sup> edition. London: Sauders Company.
- Turner, P. V., T. Brabb, C. Pekow, dan M. A. Vasbinder. 2011. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factor to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 50(5): 600-613
- United States Departement Agriculture. 2020. Plants Database: Natural Resources Conservation service. <https://plants.sc.egov.usda.gov/characteristics.html> [Diakses pada 28 April 2020].
- Utami, P. 2003. *Sehat dengan Ramuan Tradisional: Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Mellitus*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wahba, H. 2004. The Antipyretic Effect of Ibuprofen and Acetaminophen in Children. *Pharmacotherapy*. 24(2): 280-284.
- Wang, T. Y, Q. Li, K. Bi. 2018. Bioactive flavonoid in medical plants: structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical science*. 13: 12-14.
- Widyawati, V. 2019. *Buah-buahan dan sayur-sayuran terlarang bagi ibu hamil*. Yogyakarta: Laksana.
- Wilmana, P. F. dan S. Gan. 2007. *Analgesik-Antipiretik Analgesik Antiinflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. Dalam Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Editor Gunawan, S. G. Jakarta: FKUI Press.

- Wismananda, A. V., F. Safithri, dan D. N. Pravitasari. 2018. Uji Efek Antipiretik Air Perasan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Ragi Roti. *Herb-Medicine Journal*. 1(2): 86-91.
- Wuyep, P. A., H. D. Musa, G. C. Ezemokwe, D. D. Nyam, dan M. D. Silagyang. 2017. Phytochemicals from *Ageratum conyzoides* L. extracts and their antifungal activity against virulent *Aspergillus sp.* *Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)*. 6(3): 32-39.
- You, K. M., H. Jong, dan H. P. Kim. 1999. Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated/ methoxylated flavonoids isolated from medicinal plants. *Arch Pharm Res*. 22(1): 18-24.
- Zhang, L., Y. Jiang, X. Pang, P. Hua, X. Gao, Q. Li, dan Z. Li. 2019. Simultaneous Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction for Flavonoids and Antioxidant Activity of *Angelica keiskei* Using Response Surface Methodology (RSM). *Molecules*. 29(10): 1-15.
- Zhang, X., X. Wang, M. Wang, J. Cao, J. Xiao, dan Q. Wang. 2019. Effects of different pretreatments on flavonoids and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora* leave. *PLoS ONE*. 14(1): 1-17.
- Zulfa, R. A. N., H. S. Sastramihardja, dan M. K. Dewi. 2017. Uji efek antipiretik ekstrak air umbi bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) pada mencit (*Mus musculus*) model hiperpireksia. *Bandung Meeting on Global Medicine & Health*. 1(22): 37-41.




## LAMPIRAN

## Lampiran 3.1 Surat Uji Etik

 <p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>	
<p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b> <u>No.945/UN25.8/KEPK/DL/2020</u></p>	
<p>Title of research protocol : "Antipyretic Test of Ethanol Extract and Ethyl Acetate Extract of Bandotan Herba (<i>Ageratum Conyzoides L.</i>) in Mice (<i>Mus musculus</i>) Induced by Yeast"</p>	
Document Approved	: Junita Haulani
Pincipal investigator	: Research Protocol
Member of research	: Lady Refrina Fitriasari
Responsible Physician	: Junita Haulani
Date of approval	: Maret 2020-Selesai
Place of research	: Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi Universitas Jember
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, July 09<sup>th</sup> 2020</p>	
 Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember (dr. B. Bandyani P. M. Kes, Sp. Pros.)	 Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember (Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)

## Lampiran 3.2 Surat Determinasi Tanaman Bandotan


**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU**  
 Jalan Lahor No 87 Telp (0341) 593396  
**KOTA BATU 65313**


Nomor : 074/681A/102.7/2018  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : **Determinasi Tanaman Bandotan**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : JUNITA HAULANI  
 NIM : 162210101089  
 Fakultas : FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

- Perihal determinasi tanaman bandotan
  - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
  - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
  - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
  - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
  - Kelas : Dicotyledonae
  - Bangsa : Asterales
  - Suku : Asteraceae/ compositae
  - Marga : Ageratum
  - Jenis : *Ageratum conyzoides* L.
  - Nama Daerah : Bandotan, daun tombak, siangit, tombak jantan, siangik kahwa, rumput tahi ayam (Sumatera), babadotan, b leutik, babandotan, b beureum, b hejo, jukut bau, ki bau, bandotan, berokan, wedusan, dus wedusan, dus bedusan, tempuyak (Jawa), dawet, lawet, rukut manooe, rukut weru, sopi (Sulawesi)
  - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-16b-286b-288b- 289b-1a-2b-3b-4b-5b-11-11b.
- Morfologi : Habitus Herba, 1 tahun, tinggi 10-120 cm. Batang Tegak atau terbaring. Daun Tunggal, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi beringgit, panjang 3-4 cm, lebar 1-2.5 cm, pertulangan menyirip, tangkai pendek, hijau. Bunga Majemuk, di ketiak daun, bongkol menyatu menjadi karangan, bentuk malai rata, panjang 6-8 mm, tangkai berambut, kelopak berbulu, hijau, mahkota bentuk lonceng, putih atau ungu. Buah: Padi, bulat panjang, bersegi lima, gundul atau berambut jarang, hitam. Biji: Kecil, hitam. Akar: Tunggang, putih kotor.
- Nama Simplisia : Agerati herba / Herba bandotan.
- Kandungan : Herba bandotan mengandung asam amino, pectic substance, minyak asiri kumarin, ageratochromene, friedelin, β-sitosterol, stigmasterol, tanin, sulfur, dan potassium chlorida. Daun dan bunga mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Daunnya juga mengandung minyak atsiri.
- Penggunaan : Penelitian.
- Daftar Pustaka
  - Van Steenis, CCGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 24 November 2019  
 Kepala UPT Herbal Materia Medica Batu  
  
 Dr. Husin R. M. Drs., Apt., M.Kes.  
 NIP. 196111021991031003

**Lampiran 3.3 Perhitungan Pembuatan Reagen  $\text{AlCl}_3$  dan Kalium Asetat**

- a. Reagen  $\text{AlCl}_3$  10%

Sejumlah 2,5 g  $\text{AlCl}_3$  dan ditambahkan akuades ad 25 mL

- b. Kalium Asetat 1M

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{v \text{ (mL)}}$$

$$1M = \frac{m}{98} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$m = 0,98 \text{ gram}$$

Sejumlah 0,98 g kalium asetat ditimbang dan ditambahkan akuades ad 10 mL

**Lampiran 3.4 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin dan Sampel**

- a. Pembuatan larutan standar kuersetin

$$\text{Larutan Induk 1} = \frac{20,8 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 2080 \text{ ppm}$$

$$\text{Larutan Induk 2} = \frac{40,8 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 4080 \text{ ppm}$$

Pengenceran

$$\frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2080 = 20,8 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2080 = 41,6 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2080 = 62,4 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4080 = 81,6 \text{ ppm}$$

$$\frac{0,225 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 4080 = 91,8 \text{ ppm}$$

- b. Pembuatan larutan sampel

$$\text{Replikasi 1} = \frac{50,6 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5060 \text{ ppm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{50,5 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5050 \text{ ppm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{50,4 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 = 5040 \text{ ppm}$$

### Lampiran 3.5 Perhitungan Dosis

Misalkan berat badan mencit 30 gram

a. Dosis parasetamol

$$\text{Dosis} \longrightarrow 100 \text{ mg/kgBB} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} = 0,1 \text{ mg/gram}$$

$$\text{Dosis pada mencit 30 g} \longrightarrow 0,1 \text{ mg/gram} \times 30 \text{ gram} = 3 \text{ mg}$$

Volume pemberian  $\longrightarrow$  tiap 1 gBB mencit = 0,01 mL dalam CMC Na 1 %

$$\text{Berat obat yang ditimbang dalam 10 mL CMC Na 1 \%} \longrightarrow \frac{3 \text{ mg}}{0,3 \text{ mL}} \times \frac{x \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 100 \text{ mg}$$

b. Dosis ekstrak etanol herba bandotan

$$\text{Dosis 1} \longrightarrow 100 \text{ mg/kgBB} \times 30 \text{ gram} = 3 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 2} \longrightarrow 200 \text{ mg/kgBB} \times 30 \text{ gram} = 6 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 3} \longrightarrow 400 \text{ mg/kgBB} \times 30 \text{ gram} = 12 \text{ mg}$$

Volume pemberian  $\longrightarrow$  tiap 1 gBB mencit = 0,01 mL dalam CMC Na 1 %

Berat ekstrak yang ditimbang dalam 10 ml CMC Na 1 %

$$\text{Dosis 1} \longrightarrow \frac{3 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times \frac{x \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 100 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 2} \longrightarrow \frac{6 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times \frac{x \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 200 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 3} \longrightarrow \frac{12 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times \frac{x \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 400 \text{ mg}$$

c. Dosis ragi

$$\text{Dosis } 10 \text{ ml/kg} = 0,01 \text{ ml/gram} \longrightarrow 0,01 \text{ ml/gram} \times 30 \text{ gram} = 0,3 \text{ ml}$$

$$\text{Berat ragi yang ditimbang dengan konsentrasi 20\%} \longrightarrow \frac{20 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 0,3 \text{ mL} = 0,06 \text{ g}$$

Berat ragi 20% yang ditimbang untuk membuat larutan dalam 10 ml Normal Salin  $\longrightarrow$

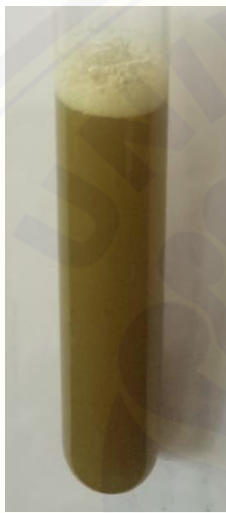
$$\frac{0,06 \text{ g}}{0,3 \text{ ml}} \times \frac{x}{10 \text{ ml}} = 2 \text{ g}$$

**Lampiran 4.1 Perhitungan % Rendemen Ekstrak**

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak bandotan (gram)}}{\text{bobot serbuk bandotan (gram)}} \times 100\%$$

$$= \frac{43,36 \text{ g}}{300,83 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 14,41 \%$$

**Lampiran 4.2 Hasil Skrining Fitokimia**

Uji saponin



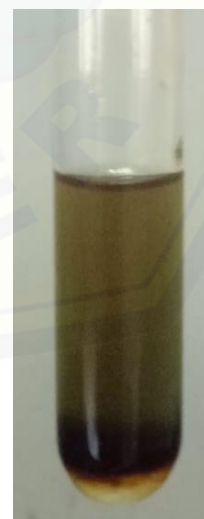
Uji tanin



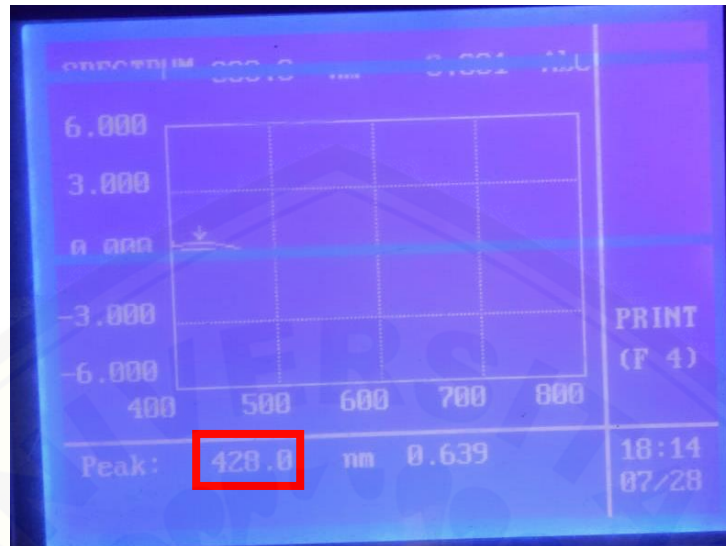
Uji flavonoid



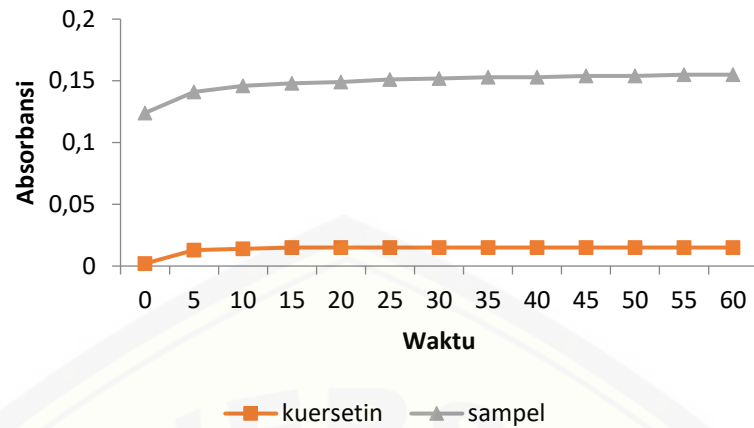
Uji alkaloid



Uji terpenoid

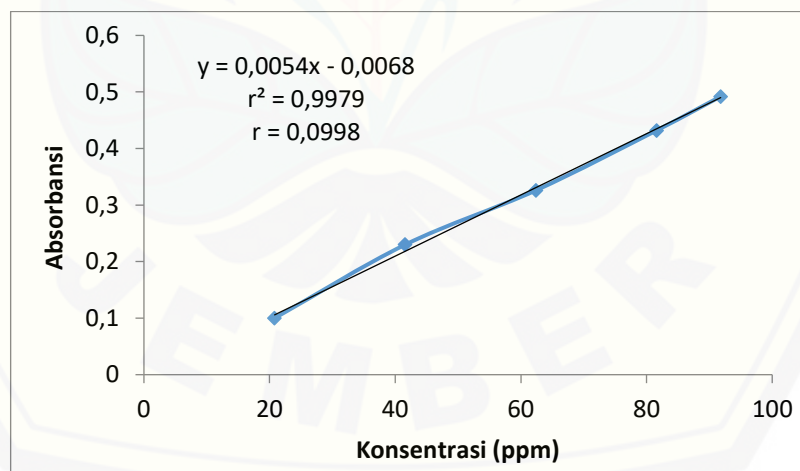
**Lampiran 4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum****Lampiran 4.4 Optimasi Waktu Inkubasi**

Waktu inkubasi	Absorbansi standar kuersetin 20 ppm	Absorbansi sampel
0	0,002	0,122
5	0,013	0,128
10	0,014	0,132
15	0,015	0,133
20	0,015	0,134
25	0,015	0,136
30	0,015	0,137
35	0,015	0,138
40	0,015	0,138
45	0,015	0,139
50	0,015	0,139
55	0,015	0,14
60	0,015	0,14



#### Lampiran 4.5 Kurva Baku Standar Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
20,8	0,100
41,6	0,230
62,4	0,326
81,6	0,432
91,8	0,492



#### Lampiran 4.6 Perhitungan Kadar Flavonoid Total pada Sampel

Perhitungan kadar flavonoid total

$$y = 0,0054x - 0,0068$$

Contoh perhitungan:

$$y = 0,179$$

$$y = 0,0054x - 0,0068$$

$$0,179 = 0,0054x - 0,0068$$

$$0,1858 = 0,0054x$$

$$x = 34,407 \mu\text{g/ml}$$

Dalam 10 ml:

$$344,074 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 3440,74 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

$$= 3,441 \text{ mg}$$

Dalam 5 ml:

$$\frac{34,407 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}}{0,5 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml}$$

$$= 344,074 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

Kadar total ekstrak:

$$= \frac{3,441 \text{ mg}}{0,0506 \text{ g}}$$

$$= 67,999 \text{ mgQE/g ekstrak}$$

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 5 ml ( $\mu\text{g/ml}$ )	Massa dalam 10 ml (mg)	Kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak)
1	0,0506	0,179	34,407	344,074	3,441	67,99
2	0,0505	0,177	34,037	340,370	3,404	67,40
3	0,0504	0,176	33,852	338,519	3,385	67,17

Rata-rata = 67,52 mg QE/g ekstrak

SD = 0,351

RSD = 0,636 %



**Lampiran 4.7 Hasil Perhitungan Kenaikan Suhu setelah 4 Jam Diinduksi Ragi Roti**

Replikasi	Kenaikan Suhu Masing-Masing Kelompok Uji (°C)					
	Kelompok yang tidak diinduksi	Kelompok yang diinduksi ragi roti				
		Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Ekstrak 100 mg/kgBB	Ekstrak 200 mg/kgBB
1	0,5	1,2	1,7	2,4	1,3	1,4
2	0,5	1,7	1,1	1,9	0,9	1
3	0,0	1,5	1,2	1,6	1,6	1,7
4	-0,2	1,8	1,8	0,9	1	1,7
<b>Rata-rata</b>	<b>0,20</b>	<b>1,50</b>				
<b>SD</b>	<b>0,400</b>	<b>0,382</b>				

**Lampiran 4.8 Analisis Data Kenaikan Suhu setelah 4 Jam Diinduksi Ragi Roti**

## 4.8.1 Normalitas

## Tests of Normality

	jenis perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil	NS	.300	4	.	.838	4	.189
	NS+ragi	.130	20	.200*	.943	20	.274

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan: Jumlah kelompok uji < 50 sehingga hasil uji normalitas yang dilihat yaitu *Shapiro-Wilk*. Nilai yang diperoleh sig.> 0,05 yang menunjukkan bahwa data terdistribusi dengan normal.

## 4.8.2 Uji Homogenitas

## Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.045	1	22	.833

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.> 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki variasi yang sama (homogen).

4.8.3 Uji T *Independent*

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
hasil	Equal variances assumed	.045	.833	-5.985	22	.000	-1.2700	.2122	-1.7101	-.8299
	Equal variances not assumed			-6.402	4.591	.002	-1.2700	.1984	-1.7939	-.7461

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.(2-tailed) < 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diinduksi ragi dengan kelompok yang tidak diinduksi.

## Lampiran 4.9 Hasil Pengukuran Suhu Rektal Mencit

Kelompok	Replikasi	Suhu (C°)					
		T	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
Normal (CMC-Na 1%)	1	36,5	37,0	36,6	36,7	36,6	36,6
	2	36,5	37,0	36,7	36,5	36,6	36,6
	3	36,7	36,7	36,5	36,8	36,6	36,7
	4	36,7	36,5	36,7	36,6	36,5	36,5
	<b>Rata-rata</b>	<b>36,60</b>	<b>36,80</b>	<b>36,63</b>	<b>36,65</b>	<b>36,58</b>	<b>36,60</b>
	<b>SD</b>	<b>0,115</b>	<b>0,245</b>	<b>0,096</b>	<b>0,129</b>	<b>0,050</b>	<b>0,082</b>
Kontrol Negatif (CMC-Na 1%)	1	37,0	38,2	38,2	38,1	38,0	38,3
	2	36,4	38,1	38,6	38,1	38,3	38,4
	3	36,6	38,1	38,0	37,9	38,1	38,3
	4	36,5	38,3	38,6	38,5	38,4	38,5
	<b>Rata-rata</b>	<b>36,60</b>	<b>38,10</b>	<b>38,10</b>	<b>37,90</b>	<b>37,98</b>	<b>38,08</b>
	<b>SD</b>	<b>0,283</b>	<b>0,082</b>	<b>0,416</b>	<b>0,283</b>	<b>0,287</b>	<b>0,403</b>
Kontrol Positif (Parasetamol 100 mg/kgBB)	1	36,5	38,2	37,1	36,9	36,7	36,4
	2	37,0	38,1	37,5	37,3	37,1	36,8
	3	36,6	37,8	37,0	36,9	36,6	36,6
	4	36,3	38,1	37,6	36,9	36,3	36,0
	<b>Rata-rata</b>	<b>36,63</b>	<b>38,03</b>	<b>37,28</b>	<b>37,10</b>	<b>36,78</b>	<b>36,50</b>
	<b>SD</b>	<b>0,263</b>	<b>0,171</b>	<b>0,263</b>	<b>0,231</b>	<b>0,395</b>	<b>0,356</b>
Dosis Ekstrak I (100 mg/ kg BB)	1	36,4	38,8	37,8	37,0	36,8	36,7
	2	36,5	38,4	37,6	37,2	37,0	36,6
	3	36,4	38,0	37,9	37,5	37,2	37,0
	4	37,0	37,9	37,2	37,1	37,1	36,9
	<b>Rata-rata</b>	<b>36,60</b>	<b>38,23</b>	<b>37,63</b>	<b>37,20</b>	<b>37,03</b>	<b>36,87</b>
	<b>SD</b>	<b>0,346</b>	<b>0,493</b>	<b>0,379</b>	<b>0,265</b>	<b>0,208</b>	<b>0,153</b>
Dosis Ekstrak II (200 mg/ kg BB)	1	37,2	38,5	37,9	37,6	37,6	37,3
	2	37,0	37,9	37,4	37,2	37,0	36,8
	3	36,9	38,5	38,0	37,7	37,2	37,1
	4	37,3	38,3	38,0	37,6	37,5	37,3
	<b>Rata-rata</b>	<b>37,13</b>	<b>38,43</b>	<b>37,97</b>	<b>37,63</b>	<b>37,43</b>	<b>37,23</b>
	<b>SD</b>	<b>0,208</b>	<b>0,115</b>	<b>0,058</b>	<b>0,058</b>	<b>0,208</b>	<b>0,115</b>
Dosis Ekstrak III (400 mg/kgBB)	1	36,9	38,3	38,0	37,9	37,2	37,0
	2	37,0	38,0	37,6	37,6	37,3	36,7
	3	36,8	38,5	37,6	37,3	37,2	37,1
	4	37,2	38,9	37,9	37,6	37,1	36,9
	<b>Rata-rata</b>	<b>36,98</b>	<b>38,43</b>	<b>37,78</b>	<b>37,60</b>	<b>37,20</b>	<b>36,93</b>
	<b>SD</b>	<b>0,171</b>	<b>0,377</b>	<b>0,206</b>	<b>0,245</b>	<b>0,082</b>	<b>0,171</b>

## Lampiran 4.10 Hasil Perhitungan Persen Inhibisi Pireksia

Kelompok	Replikasi	Persen inhibisi pireksia (%)			
		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
Kontrol Negatif (CMC-Na 1%)	1	0,0	8,3	16,7	-8,3
	2	-29,4	0,0	-11,8	-17,6
	3	6,7	13,3	0,0	-13,3
	4	-16,7	-11,1	-5,6	-11,1
	<b>Rata-rata</b>	<b>-9,9</b>	<b>2,6</b>	<b>-0,2</b>	<b>-12,6</b>
	<b>SD</b>	<b>16,32</b>	<b>10,69</b>	<b>12,21</b>	<b>3,93</b>
Kontrol Positif (Parasetamol 100 mg/kgBB)	1	64,7	76,5	88,2	105,9
	2	54,5	72,7	90,9	118,2
	3	66,7	75,0	100,0	100,0
	4	27,8	66,7	100,0	116,7
	<b>Rata-rata</b>	<b>53,4</b>	<b>72,7</b>	<b>94,8</b>	<b>110,2</b>
	<b>SD</b>	<b>17,90</b>	<b>4,32</b>	<b>6,12</b>	<b>8,72</b>
Dosis Ekstrak I (100 mg/ kg BB)	1	41,7	75,0	83,3	87,5
	2	42,1	63,2	73,7	94,7
	3	6,3	31,25	50,0	62,5
	4	77,8	88,9	88,9	111,1
	<b>Rata-rata</b>	<b>41,9</b>	<b>64,6</b>	<b>74,0</b>	<b>89,0</b>
	<b>SD</b>	<b>29,20</b>	<b>24,58</b>	<b>17,17</b>	<b>20,22</b>
Dosis Ekstrak II (200 mg/ kg BB)	1	46,2	69,2	69,2	92,3
	2	55,6	77,8	100,0	122,2
	3	31,3	50,0	81,2	87,5
	4	30,0	70,0	80,0	100,0
	<b>Rata-rata</b>	<b>40,7</b>	<b>66,8</b>	<b>82,6</b>	<b>100,5</b>
	<b>SD</b>	<b>12,30</b>	<b>11,82</b>	<b>12,78</b>	<b>15,36</b>
Dosis Ekstrak III (400 mg/kgBB)	1	21,4	28,6	78,6	92,9
	2	40,0	40,0	70,0	130,0
	3	52,9	70,6	76,5	82,4
	4	58,8	76,5	105,9	117,6
	<b>Rata-rata</b>	<b>43,3</b>	<b>53,9</b>	<b>82,7</b>	<b>105,7</b>
	<b>SD</b>	<b>16,56</b>	<b>23,26</b>	<b>15,86</b>	<b>21,93</b>

Keterangan:

T = Suhu *baseline* atau suhu sebelum induksi ragi roti 20%

T<sub>0</sub> = Suhu setelah 4 jam induksi ragi roti 20%

T<sub>1</sub> = Suhu 1 jam setelah pemberian perlakuan

$T_2$  = Suhu 2 jam setelah pemberian perlakuan

$T_3$  = Suhu 3 jam setelah pemberian perlakuan

$T_4$  = Suhu 4 jam setelah pemberian perlakuan

#### Lampiran 4.11 Analisis Data Persen Inhibisi Pireksia

##### 4.11.1 Persen Inhibisi Pireksia 1 Jam setelah Perlakuan

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen penurunan suhu setelah 1 jam perlakuan	kelompok negatif	.227	4	.	.951	4	.724
	kelompok positif	.275	4	.	.840	4	.195
	kelompok dosis 100mg	.248	4	.	.947	4	.699
	kelompok dosis 200mg	.280	4	.	.884	4	.357
	kelompo dosis 400mg	.220	4	.	.942	4	.668

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

persen penurunan suhu setelah 1 jam perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.257	4	15	.901

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.> 0,05 yang menunjukkan bahwa data terdistribusi dengan normal dan homogen.

#### ANOVA

persen penurunan suhu setelah 1 jam perlakuan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9983.357	4	2495.839	6.688	.003
Within Groups	5597.519	15	373.168		
Total	15580.876	19			

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan.

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen penurunan suhu setelah 1 jam perlakuan

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok negatif	kelompok positif	-63.28000*	13.65957	.000	-92.3947	-34.1653
	kelompok dosis 100mg	-51.81000*	13.65957	.002	-80.9247	-22.6953
	kelompok dosis 200mg	-50.61500*	13.65957	.002	-79.7297	-21.5003
	kelompok dosis 400mg	-53.14500*	13.65957	.001	-82.2597	-24.0303
kelompok positif	kelompok negatif	63.28000*	13.65957	.000	34.1653	92.3947
	kelompok dosis 100mg	11.47000	13.65957	.414	-17.6447	40.5847
	kelompok dosis 200mg	12.66500	13.65957	.369	-16.4497	41.7797
	kelompok dosis 400mg	10.13500	13.65957	.470	-18.9797	39.2497
kelompok dosis 100mg	kelompok negatif	51.81000*	13.65957	.002	22.6953	80.9247
	kelompok positif	-11.47000	13.65957	.414	-40.5847	17.6447
	kelompok dosis 200mg	1.19500	13.65957	.931	-27.9197	30.3097
	kelompok dosis 400mg	-1.33500	13.65957	.923	-30.4497	27.7797
kelompok dosis 200mg	kelompok negatif	50.61500*	13.65957	.002	21.5003	79.7297
	kelompok positif	-12.66500	13.65957	.369	-41.7797	16.4497
	kelompok dosis 100mg	-1.19500	13.65957	.931	-30.3097	27.9197
	kelompok dosis 400mg	-2.53000	13.65957	.856	-31.6447	26.5847
kelompok dosis 400mg	kelompok negatif	53.14500*	13.65957	.001	24.0303	82.2597
	kelompok positif	-10.13500	13.65957	.470	-39.2497	18.9797
	kelompok dosis 100mg	1.33500	13.65957	.923	-27.7797	30.4497
	kelompok dosis 200mg	2.53000	13.65957	.856	-26.5847	31.6447

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan signifikan yang diberi tanda (\*).

## 4.11.2 Persen Inhibisi Pireksia 2 Jam setelah Perlakuan

## Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen penurunan suhu setelah 2 jam perlakuan	kelompok negatif	.203	4	.	.965	4	.809
	kelompok positif	.251	4	.	.906	4	.460
	kelompok dosis 100mg	.228	4	.	.954	4	.740
	kelompok dosis 200mg	.332	4	.	.883	4	.351
	kelompok dosis 400mg	.243	4	.	.931	4	.598

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

persen penurunan suhu setelah 2 jam perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.158	4	15	.124

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig. > 0,05 yang menunjukkan bahwa data terdistribusi dengan normal dan homogen.

## ANOVA

persen penurunan suhu setelah 2 jam perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13037.524	4	3259.381	12.073	.000
Within Groups	4049.635	15	269.976		
Total	17087.159	19			

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig. < 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan.

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen penurunan suhu setelah 2 jam perlakuan

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok negatif	kelompok positif	-70.07925*	11.61843	.000	-94.8433	-45.3152
	kelompok dosis 100mg	-61.94675*	11.61843	.000	-86.7108	-37.1827
	kelompok dosis 200mg	-64.11175*	11.61843	.000	-88.8758	-39.3477
	kelompok dosis 400mg	-53.78675*	11.61843	.000	-78.5508	-29.0227
kelompok positif	kelompok negatif	70.07925*	11.61843	.000	45.3152	94.8433
	kelompok dosis 100mg	8.13250	11.61843	.495	-16.6316	32.8966
	kelompok dosis 200mg	5.96750	11.61843	.615	-18.7966	30.7316
	kelompok dosis 400mg	16.29250	11.61843	.181	-8.4716	41.0566
kelompok 100mg	dosiskelompok negatif	61.94675*	11.61843	.000	37.1827	86.7108
	kelompok positif	-8.13250	11.61843	.495	-32.8966	16.6316
	kelompok dosis 200mg	-2.16500	11.61843	.855	-26.9291	22.5991
	kelompok dosis 400mg	8.16000	11.61843	.493	-16.6041	32.9241
kelompok 200mg	dosiskelompok negatif	64.11175*	11.61843	.000	39.3477	88.8758
	kelompok positif	-5.96750	11.61843	.615	-30.7316	18.7966
	kelompok dosis 100mg	2.16500	11.61843	.855	-22.5991	26.9291
	kelompok dosis 400mg	10.32500	11.61843	.388	-14.4391	35.0891
kelompok 400mg	dosiskelompok negatif	53.78675*	11.61843	.000	29.0227	78.5508
	kelompok positif	-16.29250	11.61843	.181	-41.0566	8.4716
	kelompok dosis 100mg	-8.16000	11.61843	.493	-32.9241	16.6041
	kelompok dosis 200mg	-10.32500	11.61843	.388	-35.0891	14.4391

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan signifikan yang diberi tanda (\*).



## 4.11.3 Persen Inhibisi Pireksia 3 Jam setelah Perlakuan

## Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen penurunan suhu setelah 3 jam perlakuan	kelompok negatif	.245	4	.	.937	4	.635
	kelompok positif	.303	4	.	.820	4	.143
	kelompok dosis 100mg	.244	4	.	.907	4	.469
	kelompok dosis 200mg	.294	4	.	.930	4	.593
	kelompok dosis 400mg	.353	4	.	.830	4	.167

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

persen penurunan suhu setelah 3 jam perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.535	4	15	.713

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.> 0,05 yang menunjukkan bahwa data terdistribusi dengan normal dan homogen.

## ANOVA

persen penurunan suhu setelah 3 jam perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23291.197	4	5822.799	32.474	.000
Within Groups	2689.637	15	179.309		
Total	25980.834	19			

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan.

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen penurunan suhu setelah 3 jam perlakuan

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok negatif	kelompok positif	-94.9500*	9.4686	.000	-115.132	-74.768
	kelompok dosis 100mg	-74.1375*	9.4686	.000	-94.319	-53.956
	kelompok dosis 200mg	-82.7625*	9.4686	.000	-102.944	-62.581
	kelompok dosis 400mg	-82.9125*	9.4686	.000	-103.094	-62.731
kelompok positif	kelompok negatif	94.9500*	9.4686	.000	74.768	115.132
	kelompok dosis 100mg	20.8125*	9.4686	.044	.631	40.994
	kelompok dosis 200mg	12.1875	9.4686	.218	-7.994	32.369
	kelompok dosis 400mg	12.0375	9.4686	.223	-8.144	32.219
kelompok 100mg	dosis kelompok negatif	74.1375*	9.4686	.000	53.956	94.319
	dosis kelompok positif	-20.8125*	9.4686	.044	-40.994	-.631
	dosis kelompok dosis 200mg	-8.6250	9.4686	.377	-28.807	11.557
	dosis kelompok dosis 400mg	-8.7750	9.4686	.369	-28.957	11.407
kelompok 200mg	dosis kelompok negatif	82.7625*	9.4686	.000	62.581	102.944
	dosis kelompok positif	-12.1875	9.4686	.218	-32.369	7.994
	dosis kelompok dosis 100mg	8.6250	9.4686	.377	-11.557	28.807
	dosis kelompok dosis 400mg	-.1500	9.4686	.988	-20.332	20.032
kelompok 400mg	dosis kelompok negatif	82.9125*	9.4686	.000	62.731	103.094
	dosis kelompok positif	-12.0375	9.4686	.223	-32.219	8.144
	dosis kelompok dosis 100mg	8.7750	9.4686	.369	-11.407	28.957
	dosis kelompok dosis 200mg	.1500	9.4686	.988	-20.032	20.332

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan signifikan yang diberi tanda (\*).

## 4.11.4 Persen Inhibisi Pireksia 4 Jam setelah Perlakuan

## Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persen penurunan suhu setelah 4 jam perlakuan	kelompok negatif	.177	4	.	.987	4	.943
	kelompok positif	.271	4	.	.895	4	.405
	kelompok dosis 100mg	.221	4	.	.977	4	.884
	kelompok dosis 200mg	.263	4	.	.893	4	.396
	kelompok dosis 400mg	.221	4	.	.942	4	.669

a. Lilliefors Significance Correction

## Test of Homogeneity of Variances

persen penurunan suhu setelah 4 jam perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.443	4	15	.092

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.> 0,05 yang menunjukkan bahwa data terdistribusi dengan normal dan homogen.

## ANOVA

persen penurunan suhu setelah 4 jam perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42553.169	4	10638.292	43.763	.000
Within Groups	3646.328	15	243.089		
Total	46199.497	19			

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan.

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: persen penurunan suhu setelah 4 jam perlakuan

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok negatif	kelompok positif	-122.7875*	11.0247	.000	-146.286	-99.289
	kelompok dosis 100mg	-101.5550*	11.0247	.000	-125.054	-78.056
	kelompok dosis 200mg	-113.1050*	11.0247	.000	-136.604	-89.606
	kelompok dosis 400mg	-118.3300*	11.0247	.000	-141.829	-94.831
kelompok positif	kelompok negatif	122.7875*	11.0247	.000	99.289	146.286
	kelompok dosis 100mg	21.2325	11.0247	.073	-2.266	44.731
	kelompok dosis 200mg	9.6825	11.0247	.394	-13.816	33.181
	kelompok dosis 400mg	4.4575	11.0247	.692	-19.041	27.956
kelompok 100mg	dosis kelompok negatif	101.5550*	11.0247	.000	78.056	125.054
	dosis kelompok positif	-21.2325	11.0247	.073	-44.731	2.266
	dosis kelompok dosis 200mg	-11.5500	11.0247	.311	-35.049	11.949
	dosis kelompok dosis 400mg	-16.7750	11.0247	.149	-40.274	6.724
kelompok 200mg	dosis kelompok negatif	113.1050*	11.0247	.000	89.606	136.604
	dosis kelompok positif	-9.6825	11.0247	.394	-33.181	13.816
	dosis kelompok dosis 100mg	11.5500	11.0247	.311	-11.949	35.049
	dosis kelompok dosis 400mg	-5.2250	11.0247	.642	-28.724	18.274
kelompok 400mg	dosis kelompok negatif	118.3300*	11.0247	.000	94.831	141.829
	dosis kelompok positif	-4.4575	11.0247	.692	-27.956	19.041
	dosis kelompok dosis 100mg	16.7750	11.0247	.149	-6.724	40.274
	dosis kelompok dosis 200mg	5.2250	11.0247	.642	-18.274	28.724

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan: Nilai yang diperoleh sig.< 0,05 yang menunjukkan bahwa data memiliki perbedaan signifikan yang diberi tanda (\*).

Lampiran 4.12 Dokumentasi Penelitian



Simplisia herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)



Ekstrak herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)



Ragi roti



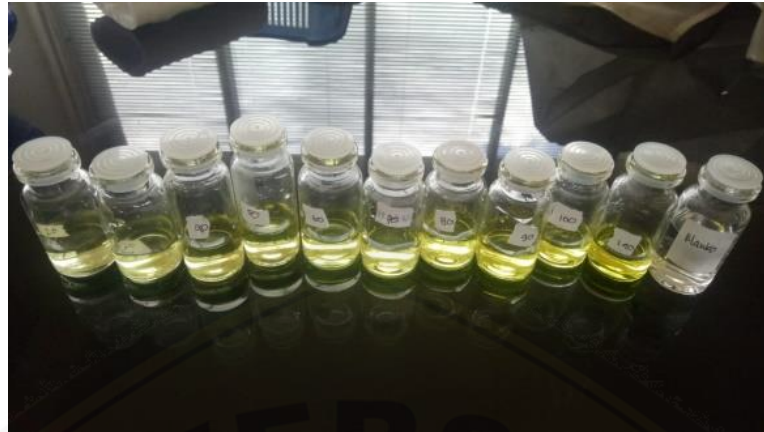
Termometer digital



Sediaan ekstrak herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)



Pengamatan suhu rektal mencit (*Mus musculus*)



Larutan standar kuersetin 20 ppm - 140 ppm dan blanko



Larutan sampel