

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK SENYAWA PIPERIN DALAM LADA  
PUTIH (*Piper nigrum L.*) TERHADAP BERAT BADAN, SKOR ULKUS  
DAN HISTOLOGI LAMBUNG MENCIT BALB/C**

**SUBCHRONIC TOXICITY OF PIPERINE (*Piper nigrum L.*) IN WHITE  
PEPPER TO WEIGHT, ULCER SCORE AND GASTRIC HISTOLOGY OF  
BALB/C MICE**

**\*Yulia Wira Utami, \*\*Sri Tasminatun**

\*,\*\* Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Kampus Terpadu UMY JL. Brawijaya, Kasihan, Bantul, Yogyakarta 55183, Indonesia

[yuliawirautami@gmail.com](mailto:yuliawirautami@gmail.com)

**INTISARI**

Biji lada putih (*Piper nigrum L.*) memiliki senyawa alkaloid utama yakni piperin. Piperin memiliki beberapa efek farmakologi yaitu meningkatkan enzim pencernaan pada pankreas, antidepresi, antiinflamasi, antiarthritis, antiasma, hepatoprotektif dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronik piperin terhadap berat badan, skor ulkus serta kerusakan mukosa pada histologi lambung mencit balb/c.

Metode penelitiannya ialah *post-only control group*. Uji toksisitas subkronik dilakukan selama 21 hari pada 5 kelompok yakni 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB yang diberi piperin secara peroral. Berat badan mencit ditimbang seminggu sekali. Lambung mencit dibedah dan dilakukan skoring terhadap jumlah serta keparahan ulkus (makroskopis). Lambung difiksasi dengan formalin 10% dan dilakukan pengecatan HE. Preparat lambung diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x lalu dilakukan skoring kerusakan integritas mukosa. Data berat badan mencit dianalisis menggunakan uji *Oneway ANOVA* dan *Post-Hoc* sedangkan hasil skor ulkus dan kerusakan mukosa dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Pemberian piperin selama 21 hari menyebabkan penurunan berat badan mencit ( $p > 0,05$ ). Secara makroskopis piperin menyebabkan perubahan histopatologis seperti timbul kemerahan, bintik perdarahan dan ulkus ( $p < 0,05$ ). Secara mikroskopis piperin menyebabkan histopatologis seperti deskuamasi, erosi dan ulserasi epitel ( $p < 0,05$ ). Tingkat keparahan semakin meningkat seiring tingginya tingkatan dosis yang diberikan.

**Kata kunci** : uji toksisitas subkronik, piperin, *Piper nigrum L*, ulkus, mukosa, histologi lambung

### **ABSTRACT**

White pepper seeds (*Piper nigrum L.*) have main alkaloid compound, piperine. Piperin has several pharmacological effects such as increasing digestive enzymes in the pancreas, antidepressants, anti-inflammatory, anti-arthritis, anti-inflammatory, hepatoprotective and antibacterial. This study aimed to determine the subchronic toxicity of piperine to body weight, ulcer score and mucosal damage in gastric histology of mice balb/c.

The research method is *post-only control group*. Subchronic toxicity was carried out for 21 days in 5 groups, 1 control group and 4 treatment groups with a dose of 17,5 mg/KgBB, 35 mg KgBB, 70 mg Kg/BB and 140 mg/KgBB given orally piperine. Mice's weight is weighed once a week. Gaster organs of the mice were dissected and do scoring of the number and severity of the ulcer (macroscopic). The stomach is fixed with 10% formalin and HE staining is done. Gaster was fixed with formalin 10% and HE staining. Gaster preparations were observed under microscope with 10x and 40x magnification and then do scoring damage to mucosal integrity (microscopic). Data on body weight of mice were analyzed using the *Oneway ANOVA* and *Post-Hoc* test and the result of ulcer scores and mucosal damage were analyzed using the *Kruskal Wallis* and *Mann-Whitney* tests.

Giving piperine for 21 days caused a decrease in mice weight ( $p > 0.05$ ). Macroscopically piperine causes histopathological changes such as redness, bleeding spots and ulcers ( $p < 0.05$ ). Microscopically, piperine causes histopathology such as desquamation, erosion and epithelial ulceration ( $p < 0.05$ ). The severity increases with the high level of doses given.

**Keyword** : subchronic toxicity, piperine, *Piper nigrum L*, ulcer, mucosal, gastric histology

### **PENDAHULUAN**

Piperin (*Piper nigrum L.*) memiliki banyak efek farmakologi diantaranya meningkatkan enzim pencernaan pada pankreas (Platel dkk, 2000),

efek antidepresi (Wattanathorn dkk, 2008) serta antiinflamasi dan antiarthritis (Bang dkk, 2009). Piperin merupakan alkaloid utama pada lada yakni sekitar 1,7%-7,4% (Trease, 1997; Ravindran, 2003). Lada yang sering digunakan untuk penelitian adalah lada hitam sedangkan tentang lada putih masih sangat terbatas.

*World Health Organization* (WHO) menetapkan bahwa bahan atau zat yang akan digunakan dengan tujuan pengobatan, harus melalui beberapa tahapan uji yaitu uji klinik dan uji pre-klinik. Uji pra-klinik dilakukan untuk mengetahui keamanan, khasiat dan mutu dari bahan yang teruji secara ilmiah. Untuk mengetahuinya dapat dilakukan melalui uji toksisitas.

Penelitian Wadhwa dkk (2014) diperoleh hasil LD<sub>50</sub> piperin pada mencit dan tikus yakni 330

mg/KgBB dan 514 mg/KgBB. Pada uji toksisitas subkronik, piperin dalam dosis 100mg/Kg dengan pemberian selama 7 hari terbukti tidak toksik. Uji toksisitas subkronik dilakukan untuk melihat efek toksik yang muncul saat pemberian dosis berulang pada hewan uji dengan satu dosis per kelompoknya (Doull dkk, 2008). Beberapa peneliti menggunakan jangka waktu pengujian yaitu sekitar 14-28 hari (Djojsumarto, 2008).

Efek toksik sangat berpengaruh terhadap organ pencernaan, salah satunya ialah lambung. Kerusakan pada lambung bisa terjadi akibat ketidakseimbangan antara faktor yang menjaga keutuhan mukosa dan faktor yang dapat merusak sistem pertahanan mukosa. Sistem pertahanan mukosa dirusak dari 2

faktor, endogen dan eksogen. Faktor endogen berasal dari dalam lambung sendiri seperti HCl, enzim pepsin dan pepsinogen. Faktor eksogen seperti alkohol, obat, bakteri dan senyawa kimia.

Beberapa faktor yang melampaui faktor proteksi dan reparasi lambung dapat menginduksi terjadinya ulkus pada lambung. Faktor proteksi yang buruk ini juga dapat mengakibatkan terjadinya erosi pada mukosa lambung. Erosi ini merupakan tahap awal dari perkembangan ulkus. Apabila terjadi ulkus, salah satu gambaran klinisnya ialah berat badan semakin menurun, tubuh terasa lemah dan juga timbul konstipasi (Robbins dan Kumar, 2004).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian uji toksisitas subkronik

lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian piperin terhadap berat badan, skor ulkus dan histologi lambung (kerusakan mukosa) pada mencit balb/c. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk mengetahui keamanan piperin apabila akan dijadikan agen obat baru.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat Penelitian**

Blender (*National*), ayakan ukuran 60 mesh, toples, mortar, stemper, alat-alat gelas (*Pyrex*), timbangan analitik (*Sartorius*), pengaduk, corong, seperangkat alat soklet, cawan porselin, pipet ukur, pipet volume, propipet, penangas, *rotary evaporator* (IKA RV10), kertas saring (*Whatman 40*), aluminium foil (*Brand*), pipa kapiler, plat silika gel 60 GF<sub>254</sub>, Lampu UV 254 nm,

bejana, spuit, sonde lambung, pot organ, alat bedah, alat untuk preparat histology

### **Bahan Penelitian**

Biji lada putih, etil asetat, etanol 96%, toluen, formalin 10%, NaCl 0,9%, *corn oil*, mencit galur Balb/C, makanan (AD1) dan minuman mencit serta Hematoxylin – Eosin.

### **Langkah Penelitian**

#### **1. Tahap persiapan**

Tahap persiapan terdiri dari beberapa langkah meliputi pengumpulan bahan biji lada putih yang diperoleh dari daerah gamping, determinasi lada putih yang dilakukan di bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Ekstraksi piperin menggunakan metode sokletasi dengan pelarut etil asetat serta

identifikasi piperin dengan metode KLT menggunakan toluene:etil asetat (7:3).

#### **2. Uji Toksisitas**

##### **a. Aklimatisasi**

Sebanyak 30 ekor mencit galur Balb/C berjenis kelamin jantan sehat, berusia 2-3 bulan dengan berat badan 35-45 gram, dilakukan adaptasi dan diberi pakan AD1 serta minum selama 7 hari secara *ad libitum* sebelum dilakukan perlakuan.

##### **b. Uji toksisitas subkronik**

Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu: kelompok kontrol (*corn oil*), kelompok perlakuan piperin dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB. Pemberian

piperin pada mencit Balb/C dilakukan secara peroral selama 21 hari. Penimbangan berat badan mencit dilakukan satu minggu sekali untuk dibandingkan antara sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

Mencit yang mati sebelum hari terakhir perlakuan diambil organ lambungnya, dicuci dengan NaCl 10% dan dilakukan skoring ulkus (kriteria Bancroft & Cook). Lambung selanjutnya difiksasi menggunakan formalin 10% dan persiapan pembuatan preparat histologi.

Preparasi histologi dilakukan dengan metode pewarnaan HE. Pengamatan histologi lambung dilakukan

pada 5 lapang pandang mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x. Pengamatan yang dilakukan ialah skoring integritas kerusakan mukosa menurut kriteria Barthel-Manja.

### **3. Analisis data**

Data jumlah skor ulkus lambung dan skor kerusakan mukosa selanjutnya dianalisis menggunakan *Krusal-Wallis Test* dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test*. Data berat badan mencit menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan *Post-Hoc*. Uji-uji tersebut bertujuan untuk melihat ada tidaknya perbedaan secara signifikan antar kelompok.

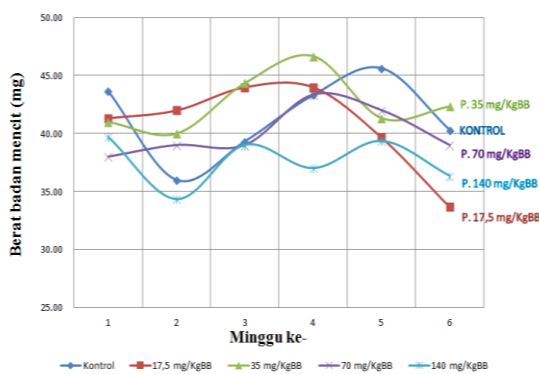
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pengamatan yang dilakukan pada uji toksisitas subkronik ini ialah

data berat badan mencit yang ditimbang seminggu sekali, skor ulkus lambung (makroskopis) serta pengamatan histologi lambung mencit dengan melakukan skoring desintegrasi mukosa ulkus (mikroskopis).

### 1. Berat badan

**Gambar 1.** Grafik rata-rata berat badan mencit selama 21 hari



Hasil grafik menunjukkan semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol mengalami penurunan berat badan. Pada minggu pertama dan kedua, grafik kelompok P.17,5 mg/KgBB masih stabil. Namun ketika memasuki minggu terakhir, terjadi penurunan.

Kelompok P. 35 mg/KgBB dan P. 70 mg/KgBB pada minggu kedua mengalami kenaikan dan penurunan pada minggu ketiga. Grafik kelompok P. 140 mg/KgBB mengalami naik turun (tidak stabil) yakni minggu pertama mengalami penurunan, memasuki minggu kedua grafik mulai naik namun ketika memasuki minggu ketiga, grafik mengalami penurunan. Pertumbuhan berat badan mencit di analisis dengan uji statistik yaitu uji *One Way ANOVA* karena untuk mengetahui beda signifikan atau tidak pada tiap kelompok. Dari hasil uji didapatkan nilai signifikansi 0,071 atau  $p > 0,05$  yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan dari rata-rata berat badan mencit di setiap kelompok walaupun pada grafik semua kelompok mengalami penurunan berat badan.

2. **Skor Ulkus**

Pengamatan lambung mencit secara makroskopis dilakukan dengan melakukan penilaian atau skoring terhadap jumlah ulkus dan keparahan ulkus (Bancroft & Cook, 1984).

**Tabel 1.** Penilaian Berdasarkan Jumlah Ulkus

KEADAAN	NILAI SKOR
Normal (tidak ada ulkus)	1
Timbul kemerahan	1,5
Timbul bintik perdarahan atau ada ulkus dengan panjang < 0,5 mm	2
Ada ulkus dengan panjang 0,5-1,5 mm	3
Ada ulkus dengan panjang 1,6-4,0 mm	4
Ada ulkus dengan panjang >4,0 mm	5
Sudah ada perforasi	6

**Tabel 2.** Penilaian Berdasarkan Keparahan Ulkus

KEADAAN	NILAI SKOR
Normal (tidak ada ulkus)	1
Timbul kemerahan	1,5
Timbul Bintik perdarahan	2
Ada ulkus terhitung sejumlah 1-3	3
Ada ulkus terhitung sejumlah 4-6	4
Ada ulkus terhitung sejumlah 7-9	5
Ada ulkus terhitung sejumlah >9 atau perforasi	6

Skor 1 hingga 6 tersebut sudah menunjukkan perbedaan secara klinis. Data skoring di analisis dengan SPSS menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis*

dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Dari hasil analisis statistik *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi untuk parameter jumlah ulkus yakni 0,007 ( $p < 0,05$ ) dan parameter keparahan ulkus 0,006 ( $p < 0,05$ ). Nilai signifikansi ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil yang signifikan ataupun bermakna.

**Tabel 3.** Rerata dan standar error skor jumlah dan keparahan ulkus

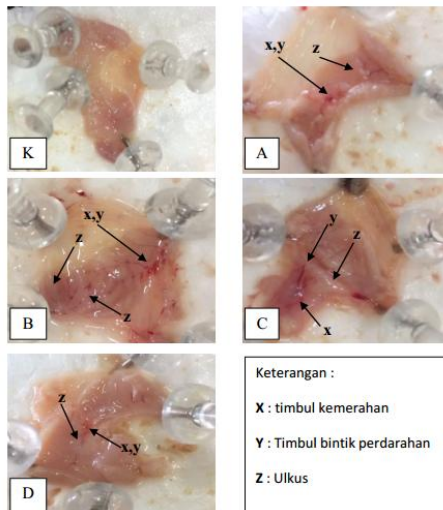
No	Kelompok	Jumlah Ulkus	Keparahan Ulkus
1	Kontrol	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
2	P. 17,5	4,25 ± 1,06 <sup>b</sup>	2,41 ± 0,49 <sup>b</sup>
3	P. 35	5,83 ± 0,67 <sup>b</sup>	3,33 ± 0,16 <sup>b</sup>
4	P. 70	4,91 ± 1,01 <sup>b</sup>	2,91 ± 0,41 <sup>b</sup>
5	P. 140	4,75 ± 1,10 <sup>b</sup>	2,75 ± 0,47 <sup>b</sup>

*Keterangan* : angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Dari kedua parameter tersebut didapatkan hampir semua mencit pada keempat dosis perlakuan mengalami ulkus



serta bintik kemerahan pada lambungnya namun tidak sampai timbul perforasi.



**Gambar 2.** Gambaran makroskopis ulkus lambung mencit balb/c (**K**= Kontrol ; **A**= P.17,5 ; **B**= P.35; **C**= P.70 ; **D**= P.140)

Penyebab terbentuknya ulkus lambung yakni terjadi ketidakseimbangan antara faktor protektif dan destruktif. Adanya ulkus bisa jadi disebabkan karena faktor destruktif (agresif) yang meningkat ataupun faktor protektif yang menurun. Faktor protektif yang sangat berperan pada lambung ialah pertahanan mukosa lambung (mucus

bikarbonat, prostaglandin dll). Ketika sistem pertahanan ini menurun, mukosa lambung menjadi rapuh atau sensitif sehingga akan dirusak oleh asam lambung. Hal inilah yang menginduksi terjadinya ulkus. Schmitz (2008) mengatakan bahwa jika terjadi perubahan proses ataupun mekanisme kerja pada salah satu sawar dapat membawa ke keadaan kerusakan salah satunya pembentukan ulkus. Mukus bikarbonat ialah lini pertama pada sawar dan terletak pada tingkatan sawar preepitel.

Perbedaan tingkat keparahan ulkus serta jumlah ulkus yang terjadi disebabkan karena pemberian dosis yang berbeda-beda. Disamping itu, terjadinya variasi hasil skoring disebabkan karena respon mencit yang berbeda-beda tiap individunya. Terjadinya perdarahan serta timbul

ulkus (meskipun tidak terlalu banyak) ini bisa jadi disebabkan karena senyawa kimia (piperin) yang diberikan (faktor eksogen). Berdasarkan MSDS tentang piperin (revisi terbaru tahun 2019) mengatakan bahwa piperin dapat mengiritasi membrane mukosa serta saluran pernafasan atas.

### 3. Skor kerusakan mukosa

Pengamatan lambung secara mikroskopis (histologi) dilakukan dengan melakukan skoring terhadap integritas kerusakan mukosa lambung menurut kriteria Barthel-Manja. Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x.

**Tabel 4.** Skor kerusakan integritas mukosa

No.	Skor	Integritas Mukosa
1	0	Tidak ada perubahan patologik
2	1	Deskuamasi epitel
3	2	Erosi permukaan Epitel
4	3	Ulserasi epitel

Keadaan ulserasi adalah keadaan terparah pada skoring integritas mukosa ini. Ulserasi epitel ditandai dengan kerusakan yang terjadi hampir atau bahkan pada seluruh tebal mukosa. Erosi epitel ditandai dengan terjadinya kerusakan pada separuh atau sebagian dari tebal mukosa sedangkan deskuamasi celah kerusakan yang terjadi hingga sepertiga tebal mukosa. Skor 1 hingga 3 tersebut sudah menunjukkan perbedaan secara klinis.

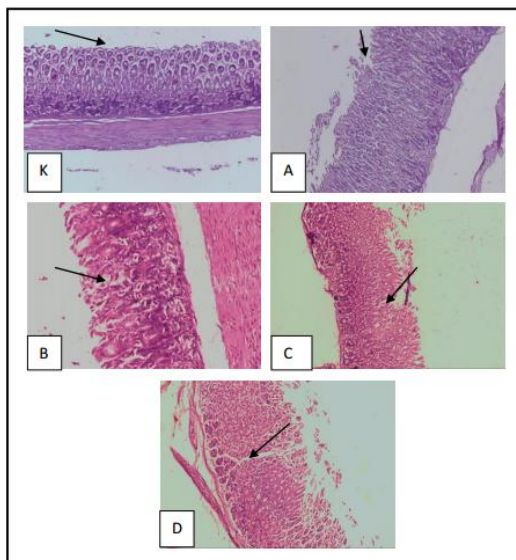
Hasil skoring kerusakan integritas mukosa lambung dianalisis statistik dengan SPSS menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Dari hasil statistik didapatkan nilai signifikansi 0,000 ( $P < 0,05$ ) yang

menandakan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelima kelompok perlakuan.

**Tabel 5.** Rerata dan standar eror skor kerusakan integritas mukosa

No	Kelompok	Kerusakan mukosa
1	Kontrol	$0,46 \pm 0,13^a$
2	P. 17,5	$1,03 \pm 0,09^b$
3	P. 35	$1,23 \pm 0,21^b$
4	P. 70	$1,53 \pm 0,22^b$
5	P. 140	$2,53 \pm 0,17^c$

*Keterangan* : angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan



**Gambar3.** Gambaran mikroskopis mukosa lambung mencit Balb/C (**K (Kontrol)** Mukosa normal (skor 0) ; **A (P.17,5)** Deskuamasi epitel (skor 1) ; **B (P.35)** Erosi epitel (skor 2) ; **C (P.70)** Erosi epitel (skor 2) ; **D (P.140)** Ulserasi epitel (skor 3)

Mukosa lambung sangat rawan sekali dengan kerusakan. Ketika pertahanan lambung menurun, maka mukosa dapat dengan mudah dirusak oleh asam-asam yang ada di lambung. Kerusakan mukosa lambung yang terjadi dapat mengakibatkan beberapa keadaan pada epitel lambung seperti deskuamasi, ulserasi dan erosi. Deskuamasi termasuk dalam kerusakan ringan, erosi kerusakan sedang serta terjadinya ulserasi termasuk kerusakan yang berat. Deskuamasi terjadi sebagai respon terjadinya iritasi lambung yang ditandai dengan adanya pengelupasan atau pelepasan mukosa pada lambung. Terjadinya deskuamasi ini bisa jadi dikarenakan karena beberapa faktor seperti kondisi kandang,

faktor stres mencit dan lain sebagainya. Selain itu bisa jadi disebabkan karena mencit sebelumnya sudah mengalami gangguan lambung seperti traktur gastrointestinal. Erosi dan ulserasi terjadi dikarenakan ketidakseimbangan antara faktor proteksi dan agresif dari lambung. Erosi hanya terjadi di bagian epitel mukosa namun ulserasi terjadi pada bagian yang lebih dalam dibandingkan erosi bahkan hingga menembus submukosa atau bagian yang lebih dalam. Integritas permukaan mukosa berperan penting sebagai pertahanan lambung dari terjadinya erosi dan ulserasi. Perbedaan variasi skor bisa jadi disebabkan karena respon individual mencit dalam mengatasi terjadinya deskuamasi,

erosi serta ulserasi. Secara keseluruhan, hasil pengamatan ulkus serta histologi lambung mencit balb/c dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut antara lain berasal dari bahan uji (piperin), hewan uji serta pelaksanaan uji. Faktor bahan uji, yakni piperin, yang dapat mempengaruhi ialah sifat fisikokimia dari piperin, kemurnian piperin dan dosis piperin. Sifat fisikokimia berhubungan pada kemampuan piperin dalam menghasilkan efek pada lambung. Dosis piperin jelas berpengaruh terhadap munculnya efek pada mencit meskipun volume uji yang diberikan tidak melebihi standar yang ditetapkan. Kelebihan atau kurang dosis saat penyondean juga dapat mempengaruhi hasil.

Faktor hewan uji yang berpengaruh seperti berat badan, status kesehatan serta jenis kelamin. Berat badan yang berbeda berhubungan pada status kesehatan mencit. Status kesehatan mencit adalah hal penting yang harus diperhatikan. Namun status kesehatan ini bisa terganggu karena beberapa hal seperti pakan yang diberikan, kondisi tempat tinggal serta cara pemeliharaan mencit itu sendiri. Terakhir adalah faktor pelaksanaan uji yakni cara penyondean piperin ke mencit yang kurang tepat atau ideal.

## KESIMPULAN

1. Pemberian piperin dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB pada uji toksisitas subkronik

selama 21 hari menunjukkan adanya penurunan berat badan pada mencit balb/c meskipun hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi  $p > 0,05$  atau tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

2. Pemberian piperin dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB pada uji toksisitas subkronik selama 21 hari menyebabkan perubahan histopatologis pada lambung mencit dengan kerusakan yang ditemukan berupa timbul kemerahan, bintik perdarahan serta adanya ulkus. Hasil statistik jumlah ulkus dan keparahan ulkus didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menandakan terdapat perbedaan signifikan

antara kelompok kontrol dan perlakuan.

3. Pemberian piperin dosis 17,5 mg/KgBB, 35 mg/KgBB, 70 mg/KgBB dan 140 mg/KgBB pada uji toksisitas subkronik selama 21 hari menyebabkan perubahan histopatologis pada lambung mencit dengan kerusakan yang ditemukan berupa deskuamasi epitel, erosi epitel hingga ulserasi. Tingkat keparahan semakin meningkat seiring tingginya tingkatan dosis yang diberikan. Hasil statistik didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menandakan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan.

#### **SARAN**

1. Perlu pengamatan parameter lain untuk mengetahui toksisitas

pemberian piperin pada organ lambung mencit balb/c seperti jumlah polimorfonuklear dll.

2. Perlu dilakukan uji toksisitas lebih lanjut terhadap organ yang lain seperti usus halus.

#### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LP3M UMY yang telah memberikan dana penelitian melalui program penelitian kemitraan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Abou-Elkhair dkk. 2014. Effects of Black Pepper (*Piper nigrum*), Turmeric Powder (*Curcuma Longa*) and Coriander Seeds (*Coriandrum Sativum*) and Their Combinations as Feed Additives on Growth Performance, Carcass Traits, Some Blood Parameters and Humoral Immune Response of Broiler Chickens, *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(6):847.

2. Bang JS, Choi HM, Sur B-J, Lim S-J, Kim JY, Yang H-I, dkk, 2009, Antiinflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1 $\beta$ -stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models, *Arthritis research & therapy*, 11(2):R49.
3. Cayman Chemical Company, 2019, Piperine, *Material Safety Data Sheet*, USA dan Kanada
4. Hikmawanti NPE, Aulia C, Viransa VP, 2016, Kandungan Piperin dalam Ekstrak Buah Lada Hitam dan Buah Lada Putih (*Piper Nigrum L.*) yang Diekstraksi dengan Variasi Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode KLT- Densitometri, *Media Farmasi*, 13(2):13.
5. Istiqomah, 2013, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperin retrofracti fructus*), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
6. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, (2007), Kebijakan Obat Tradisional Nasional, Jakarta
7. Meghwal M, Goswami TK, 2013, Piper Nigrum and Piperin: An *Update*, *Phytotherapy Research*, 27, 1121-1130
8. Mustaqim A, Asri A, Pengaruh Pemberian Gel Lidah Buaya (Aloe vera) Terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Tikus Wistar yang Diinduksi Indometasin.6.
9. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7, 2014, Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta.
10. Piyachaturawat P, Glinsukon T, Taskulkao C, 1983, Acute and Subacute Toxicity of Piperine in Mice, Rats and Hamsters, *Toxicity Letters*, 16, 351-359
11. Sigit JI, Ribkah, Soemardji AA, 2012, Efektivitas Preventif Omeprazol Terhadap Efek Samping Tukak Lambung Antiinflamasi Non Steroid (Asetosal) pada Tikus Galur Wistar Betina, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 37, 2.
12. Soemiati A, 2013, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*).
13. Srinivasan K, 2007, Black Pepper and its Pungent Principle-Piperine: A Review of Diverse Physiological Effects, *Critical*

*Reviews in Food Science and Nutrition*, 735-747.

14. Wadhwa S, Singhal S, Rawat S, 2014, Bioavailability Enhancement by Piperine: A Review, *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(36), 1-8.