

UJI AKTIVITAS STIMULANSIA INFUSA DAUN COKELAT (*Theobroma cacao* L) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*) DENGAN METODE ROTAROD

Vera Nurhidayatul Fadila¹, Bagas Ardiyantoro², Tiara Ajeng Listyani³

^{1,3}Prodi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

²Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

Article Info

Article history:

Received Jul 14, 2025

Revised Aug 01, 2025

Accepted Aug 16, 2025

Keywords:

Cocoa Leaves Stimulants

Mice

Rotarod Alkaloids

ABSTRACT

Fatigue due to excessive activity can be overcome with stimulants, but the use of synthetic stimulants carries the risk of side effects. This study aims to determine the stimulant activity of cocoa leaf infusion (*Theobroma cacao* L) and to determine the best dose that can increase central nervous system stimulation in white mice (*Mus musculus*). Synthetic stimulants often cause side effects, so natural alternatives are needed. This study tested the stimulant effect of cocoa leaf infusion (*Theobroma cacao* L.) on white mice (*Mus musculus*) using a rotarod test. Mice were divided into five groups: negative control (distilled water), positive control (caffeine 100 mg/kgBW), and infusion with doses of 50, 100, and 150 mg/kgBW. The results showed that all infusion doses significantly increased the survival time of mice compared to the negative control ($p < 0.05$). The dose of 150 mg/kgBW gave the effect closest to caffeine. Phytochemical tests showed the presence of alkaloids and flavonoids that are suspected to play a role in stimulant activity. Cocoa leaf infusion has the potential as a natural stimulant.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Vera Nurhidayatul Fadila,

Program Studi Sarjana Farmasi,

Universitas Duta Bangsa Surakarta,

Jl. Pinang No 47, Jati, Cemani, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah. 57522

Email: fadilavera9@gmail.com

1. INTRODUCTION

Kelelahan sering dialami setelah melakukan aktivitas berat atau bekerja dalam waktu yang lama. Kondisi ini bisa menyebabkan tubuh terasa lemas, detak jantung meningkat, dan sulit berkonsentrasi. Untuk mengatasinya, banyak orang mengonsumsi minuman atau suplemen penambah stamina agar bisa kembali bertenaga dalam waktu singkat (Sihombing *et al.*, 2024).

Seiring dengan meningkatnya tekanan kerja dan persaingan sosial ekonomi, penggunaan produk penambah stamina semakin umum, terutama dalam bentuk minuman energi. Namun, sebagian besar produk ini mengandung bahan kimia yang tidak aman jika dikonsumsi terus-menerus. Oleh karena itu, banyak orang mulai beralih ke bahan alami yang dianggap lebih aman dan minim efek samping (Yunita, 2014).

Salah satu jenis suplemen yang sering digunakan adalah stimulan. Fungsinya mirip seperti minum kopi yaitu membuat tubuh terasa segar, pikiran lebih fokus, dan rasa lela hberkurang. Stimulan bekerja dengan cara membantu tubuh tetap terjaga dan berenergi lebih lama (Mafitri *et al.*, 2018).

Meski bermanfaat, stimulant berbahan kimia dapat menimbulkan efek samping jika sering digunakan (Fithria *et al.*, 2017). Alternatifnya, banyak tanaman herbal mulai diteliti karena dianggap lebih aman. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai penambah energi alami adalah daun cokelat. Selama ini, daun cokelat jarang dimanfaatkan dan lebih sering dijadikan pakan ternak, padahal mengandung berbagai zat yang bermanfaat bagi tubuh (Mahmud *et al.*, 2024).

Daun cokelat mengandung senyawa alami seperti alkaloid dan flavonoid. Senyawa ini diyakini dapat memberikan efek serupa kopi, yaitu membuat tubuh terasa lebih kuat dan tidak mudah lelah. Alkaloid misalnya, dapat membantu meningkatkan energy degan cara serupa seperti saat kita minum kopi atau teh (Tari, 2021). Dengan manfaat tersebut, daun cokelat berpotensi dikembangkan menjadi suplemen alami yang lebih aman dan bernilai ekonomi tinggi (Anas *et al.*, 2019).

Untuk membuktikan manfaatnya, perlu dilakukan pengujian yang bisa menilai seberapa besar efek daun cokelat dalam membantu tubuh tetap bertenaga. Dalam penelitian ini, efek tersebut diuji dengan melihat seberapa lama mencit (*Mus musculus*) dapat bertahan di atas batang *rotarod*. Semakin lama bertahan, maka semakin kuat efek penambahan erginya (Suri *et al.*, 2021). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menguji efek penambah stamina dari infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan menggunakan metode *rotarod*.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai pada penelitian ini yaitu timbangan analitik, beaker glass (*pyrex*®), batang pengaduk, baskom, gelas ukur (*pyrex*®), labu ukur (*pyrex*®), tabung reaksi, alat *rotarod*, spuit sonde, kandang mencit, *stopwatch*, panci infusa, dan spidol. Bahan utama yang dipakai dalam penelitian ini adalah infusa dari daun cokelat (*Theobroma cacao* L). Bahan-bahan lainnya yaitu kafein, aquadest, H₂SO₄, FeCl₃, HCl 2 N, *mayer*, *drageendroff*, *wagner*, asam asetat anhidrat, kalium iodida, NaOH, *Liebermann Bouchardat*.

Determinasi

Determinasi sampel daun cokelat (*Theobroma cacao* L) dilakukan di Unit Pelayanan Fungsional RSUP Dr. Sardjito, Tawangmangu. Penelitian uji aktivitas stimulasi infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan metode *rotarod* ini dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Farmakologi Farmasi, di Universitas Duta Bangsa Surakarta pada bulan April-Mei 2025.

Pengambilan Bahan

Sampel daun cokelat diperoleh dari Desa Ngadisuko, Dusun Bugelan RT. 25 RW. 08, Kecamatan Durenan, Kabupaten Trenggalek Jawa Timur. Sampel yang dipakai dalam penelitian ini adalah daun cokelat yang berwarna hijau tua, dengan kondisi segar, tidak terserang hama, dan tidak rusak.

Pembuatan Infusa Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L)

Daun cokelat (*Theobroma cacao* L) yang sudah melalui proses perajangan ditimbang sebanyak 10 gram kemudian ditambahkan dengan 100 ml aquadest dalam rasio 1:10. Dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C dan di saring saat masih dalam keadaan panas (Aini *et al.*, 2023).

Standarisasi Larutan Infusa

Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui keberadaan etanol dalam infusa. Prosedur uji bebas etanol dengan cara memasukan 1 ml infusa kedalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 2 tetes H_2SO_4 serta 2 tetes asam asetat dan selanjutnya dipanaskan. Infusa akan dianggap bebas etanol apabila tidak terdeteksi aroma khas ester yang biasanya muncul akibat keberadaan etanol. Aroma ester ini biasanya memiliki ciri harum, manis dan menyerupai bau buah-buahan (Tivani *et al.*, 2021).

Uji Bebas Logam Cd dan Pb

Analisis Kualitatif Logam Timbal Pb

Ambil 2 ml larutan infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) kemudian bagi menjadi 2 tabung. Tabung pertama tetesi dengan KI 0,5 M 2-3 tetes hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan kuning. Tabung kedua tetesi dengan NaOH 1 M 2-3 tetes hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih (Febriyanti *et al.*, 2024).

Analisis Kualitatif Logam Kadmium Cd

Ambil 2 ml larutan infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) kemudian tetesi dengan NaOH 2 M 5 tetes hasil positif ditandai dengan endapan putih (Febriyanti *et al.*, 2024).

Skrining Fitokimia

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 2 ml larutan infusa dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya tambahkan serbuk mg dan 2 ml HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (Novia *et al.*, 2020).

Identifikasi Tanin

Masukkan 2 ml larutan infusa kedalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 5%. Apabila muncul warna biru tua, hijau, atau hijau kehitaman hal ini menandakan keberadaan tanin (Novia *et al.*, 2020).

Identifikasi Saponin

Masukkan 2 ml larutan infusa kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 ml air. Setelah itu, kocok dengan kuat selama 10 detik kemudian biarkan selama 10 detik. Jika muncul buih atau busa yang tetap ada lebih dari 10 detik hal ini menandakan adanya saponin (Oktavia *et al.*, 2020).

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 ml larutan infusa dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml HCl 2 N. Ambil 1 ml dari filtrat dan tuangkan kedalam 3 tabung reaksi. Untuk tabung 1 tambahkan 2 tetes reagen *mayer*, untuk tabung 2 tambahkan 2 tetes reagen *wagner*, dan untuk tabung 3 tambahkan 2 tetes reagen *dragendorff*. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada reagen *mayer*, endapan cokelat pada reagen *wagner*, serta endapan jingga pada reagen *dragendorff* (Oktavia *et al.*, 2020).

Identifikasi Triterpenoid / Steroid

Masukkan 2 ml larutan infusa dan masukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 5 tetes reagen *Liebermann Bouchardat*. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah, maka uji tersebut dianggap positif untuk triterpenoid. Hasil positif untuk steroid ditunjukkan dengan munculnya warna hijau atau hijau kebiruan (Novia *et al.*, 2020).

Pengelompokan Perlakuan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan berwarna putih dengan berat antara 20-30 gram, sebanyak 25 ekor dibagi secara acak kedalam 5 kelompok, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan putih dan diberikan perlakuan sebagai berikut :

Kelompok 1 : Kontrol negatif diberikan aquadest 0,4 ml/20 gBB

Kelompok 2 : Kontrol positif diberikan kafein dosis 100 mg/KgBB

Kelompok 3 : Diberikan infusa daun cokelat 50 mg/KgBB

Kelompok 4 : Diberikan infusa daun cokelat 100 mg/KgBB

Kelompok 5 : Diberikan infusa daun cokelat 150 mg/KgBB

Prosedur Uji

Mencit yang telah dibagi berdasarkan kelompok masing-masing diberikan dosis tunggal secara peroral. Sebelum diberikan dosis tunggal mencit dilakukan *pre test* terlebih dahulu, yaitu mencit diletakkan di alat *rotarod* untuk memastikan bahwa hewan uji mampu bertahan di atas alat tanpa terjatuh, sebagai bentuk seleksi awal koordinasi motorik normal. Setelah dilakukan *pre test* diistirahatkan selama 15 menit. Kemudian diberikan secara oral senyawa uji kemudian diistirahatkan kembali selama satu jam (60 menit), mencit diletakkan di *rotarod* dan diamati sampai jatuh. Mencit akan berusaha mempertahankan diri dengan meningkatkan koordinasi motoriknya supaya tidak terjatuh ketika *rotarod* berputar. Pengamatan yang dilakukan mencakup lama waktu mencit bertahan saat berada di atas *rotarod*.

Analisis Data

Data diolah dengan SPSS versi 26.0 dimulai dengan pengujian normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Data yang sudah terdistribusi normal kemudian dilanjutkan dengan pengujian homogenitas memakai *Levene Test*. Setelah syarat terpenuhi, langkah selanjutnya adalah melakukan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD*. Sebaliknya, jika data tidak terdistribusi normal maka analisis dilakukan dengan *Kruskal-Wallis* diikuti oleh uji *Mann-Whitney*.

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini di determinasi terlebih dahulu. Tujuan dari identifikasi ini adalah untuk memastikan bahwa tanaman yang akan diteliti adalah asli serta untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan mencegah kemungkinan tercampurnya jenis tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Identifikasi tumbuhan dilakukan dengan membandingkan ciri morfologi yang dimiliki oleh tumbuhan tersebut dengan referensi atau literatur yang ada (Klau, 2021).

Determinasi daun cokelat dilaksanakan di Unit Pelayanan Fungsional RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu. Hasil dari proses determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian teridentifikasi berasal dari famili *Malvaceae* dengan spesies *Theobroma cacao* L.

Hasil Standarisasi Larutan Infusa

Uji Bebas Etanol

Pengujian bebas etanol bertujuan untuk memisahkan infusa dari etanol sehingga dihasilkan infusa yang bersih dan bebas dari kontaminasi. Berdasarkan hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa infusa daun cokelat yang diuji tidak memiliki aroma khas ester. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa infusa daun cokelat yang digunakan tidak mengandung etanol. Infusa yang bebas etanol ditandai dengan tidak adanya aroma ester ketika dipanaskan setelah ditambahkan asam asetat dan asam sulfat (Tivani *et al.*, 2021).

Uji Bebas Logam Cd dan Pb

Analisis kualitatif merupakan cabang dari ilmu kimia yang bertujuan untuk mengenali ada tidaknya unsur atau zat dalam sebuah material. Tujuan dari analisis kualitatif adalah untuk memisahkan serta mengidentifikasi berbagai unsur atau senyawa yang berbeda. Disamping itu,

analisis kualitatif juga digunakan untuk mengetahui komponen atau jenis zat yang terdapat dalam larutan tertentu. Berdasarkan hasil uji kualitatif dapat disimpulkan bahwa keberadaan logam Pb dan Cd dalam infusa daun cokelat menggunakan reagen kalium iodida (KI) dan NaOH menunjukkan hasil negatif. Hal ini mengindikasikan tidak adanya kontaminasi logam pada infusa daun cokelat secara kualitatif (Febriyanti *et al.*, 2024).

Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia merupakan salah satu metode untuk menyaring dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Proses skrining fitokimia dilakukan dengan mengamati perubahan warna yang terjadi saat menggunakan reagen tertentu (Jonathan *et al.*, 2024). Hasil skrining fitokimia dari infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) pada tabel 1 menunjukkan bahwa daun cokelat mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil	Keterangan Hasil	Acuan Hasil
Flavonoid	(+)	Berwarna jingga	Jingga sampai merah (Novia <i>et al.</i> , 2020)
Tanin	(+)	Berwarna hijau kehitaman	Biru tua, hijau, atau hijau kehitaman (Novia <i>et al.</i> , 2020)
Saponin	(+)	Terdapat busa stabil setelah pengocokan	Terbentuk buih atau busa (Oktavia <i>et al.</i> , 2020)
Alkaloid	(+)	Pereaksi <i>dragendorff</i> (terdapat endapan jingga) Pereaksi <i>wagner</i> (terdapat endapan cokelat) Pereaksi <i>mayer</i> (terdapat endapan putih)	Terbentuknya endapan putih pada reagen <i>mayer</i> , endapan cokelat pada reagen <i>wagner</i> , dan endapan jingga pada reagen <i>dragendorff</i> (Oktavia <i>et al.</i> , 2020)
Triterpenoid	(-)	Berwarna hijau	Terjadi perubahan warna menjadi merah (Novia <i>et al.</i> , 2020)
Steroid	(+)	Berwarna hijau	Warna hijau atau hijau kebiruan (Novia <i>et al.</i> , 2020)

Flavonoid diuji dengan cara menambahkan serbuk magnesium dan HCl pekat. Penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat. Tujuan dari penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat adalah untuk mereduksi ikatan glikosida yang terikat dengan flavonoid. Agar dapat mengidentifikasi flavonoid, ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman harus diputus melalui proses reduksi ikatan tersebut, yang akan menghasilkan hasil positif ditandai dengan munculnya warna jingga (Novia *et al.*, 2020).

Tanin merupakan senyawa fenolik yang umumnya dapat larut dalam air dan pelarut polar. Penambahan FeCl₃ dilakukan untuk menentukan apakah daun cokelat memiliki gugus fenol. Keberadaan gugus fenol dapat diidentifikasi melalui perubahan warna menjadi hijau kehitaman dan biru kehitaman setelah penambahan FeCl₃. Hasil yang didapat menunjukkan reaksi positif karena munculnya warna hijau kehitaman (Novia *et al.*, 2020).

Pengujian senyawa saponin ditambahkan 10 ml air dan dikocok kuat selama 10 detik. Hasil yang didapat positif menunjukkan adanya saponin karena terbentuk buih setinggi 1 cm yang bertahan tidak kurang dari 10 detik (Oktavia *et al.*, 2020).

Alkaloid memiliki sifat basa jadi penambahan HCl akan menghasilkan garam, selanjutnya dilakukan reaksi pengendapan dengan menggunakan tiga reagen. Reagen *mayer* menghasilkan hasil positif karena adanya endapan putih. Reagen *wagner* juga diperoleh hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna cokelat. Sementara itu, reagen *dragendorff* menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya endapan berwarna jingga (Oktavia *et al.*, 2020).

Pengujian triterpenoid/steroid ditambahkan dengan reagen *Liebermann Bouchardat*. Pereaksi *Liebermann Bouchardat* merupakan campuran antara asam asetat anhidrat dan H₂SO₄. Apabila terbentuk warna merah maka infusa tersebut positif mengandung triterpenoid, sedangkan

apabila terbentuk warna hijau menandakan adanya steroid. Hasil yang didapat menunjukkan adanya steroid karena terjadinya perubahan warna menjadi hijau (Novia *et al.*, 2020). Penyebabnya adalah adanya reaksi oksidasi pada golongan triterpenoid/steroid yang melibatkan pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Ahlan *et al.*, 2020).

Hasil Uji Aktivitas Stimulansia

Pengujian aktivitas stimulansia dari infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) dilakukan dengan metode *rotarod*, tujuan dari penggunaan metode ini adalah untuk melihat kinerja motorik dari hewan yang diujiselama proses pengujian. Sebelum pengujian stimulansia pada hewan percobaan dilakukan, semua hewan yang diuji tidak diberikan makanan selama 8 jam. Tujuan dari proses puasa ini adalah untuk menghindari adanya makanan yang bisa memengaruhi hasil pengujian serta untuk memudahkan dalam memberikan sediaan secara oral pada hewan percobaan agar sediaan tersebut tidak terbuang saat diberikan secara oral (Rozi *et al.*, 2024).

Sebelum dilakukan uji stimulansia pada hewan uji terlebih dahulu dilakukan *pre-test*. Tujuan dari pelaksanaan *pre-test* ini adalah untuk memastikan bahwa ketahanan setiap kelompok mencit adalah setara, serta untuk mengontrol keseragaman stamina semua mencit sebelum perlakuan diberikan. Setelah itu, dilakukan *post-test* untuk mengevaluasi dampak dari perlakuan tersebut terhadap stamina hewan uji (Novembrina *et al.*, 2019). Rata-rata selisih waktu sesudah dan sebelum pemberian infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-7 dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 2. Hasil Data Rata-Rata Selisih Waktu Lelah Hari Ke-1-7

Kelompok Perlakuan	Hari 1 ± SD	Hari 2 ± SD	Hari 3 ± SD	Hari 4 ± SD	Hari 5 ± SD	Hari 6 ± SD	Hari 7 ± SD
Kontrol Negatif	33,4 ± 9,34	39,6 ± 17,81	49,2 ± 15,55	33,2 ± 19,77	21,8 ± 12,87	22,8 ± 2,86	24 ± 2
Kontrol Positif	76,8 ± 16,41	119,8 ± 30,38	120,6 ± 36,47	178,4 ± 50,18	208,2 ± 55,95	226 ± 63,51	417,6 ± 68,70
Dosis Infusa 50 mg/Kg BB	34,2 ± 11,76	43,8 ± 25,42	73,4 ± 33,40	82,2 ± 10,87	86,6 ± 30,61	124 ± 45,53	129 ± 34,53
Dosis Infusa 100 mg/Kg BB	66 ± 28,74	69,4 ± 53,92	82,8 ± 53,17	109 ± 35,88	130,6 ± 32,76	131,8 ± 23,36	147,4 ± 21,73
Dosis Infusa 150 mg/Kg BB	70 ± 31,84	103,8 ± 25,86	108,2 ± 42,99	171,4 ± 39,53	184,2 ± 69,12	221,6 ± 37,19	272,4 ± 65,00

Berdasarkan tabel 2 hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penggunaan infusa daun cokelat dengan dosis 150 mg/Kg BB memberikan efek stimulansia yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian kafein 100 mg/Kg BB sebagai kontrol positif. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Deni, 2019) yang juga menunjukkan bahwa pemberian kafein masih lebih efektif dibandingkan dosis ekstrak pada percobaan dalam memberikan efek stimulan yang bermanfaat untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Dari temuan yang diperoleh selama tujuh hari pengamatan, penggunaan aquadest tidak menunjukkan efek stimulansia. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Yulianita *et al.*, 2019) yang menyatakan bahwa aquadest tidak memiliki sifat sebagai stimulansia.

Kafein berfungsi sebagai kontrol positif yang menunjukkan peningkatan efek stimulant dari hari pertama hingga hari ketujuh pengujian. Hal ini terjadi karena kafein adalah xantin yang paling kuat yang menstimulasi korteks dan medula, bahkan dapat memberikan stimulasi pada spiral dalam dosis tinggi. Kafein digunakan sebagai kontrol positif dimaksud untuk membandingkan tingkat efek stimulan yang dihasilkan oleh masing-masing kelompok perlakuan dengan senyawa obat yang sudah terbukti memiliki efek stimulant (Tari, 2021).

Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa pengujian dari hari pertama hingga hari ketujuh menunjukkan peningkatan rata-rata selisih waktu lelah mencit yang diberi infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) dengandosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan dosis 150 mg/kg BB dapat memberikan efek stimulan pada mencit. Mekanisme flavonoid dan alkaloid bisa membantu

mengurangi kelelahan otot dengan cara menghalangi efek antagonis adenosin sehingga memberikan efek stimulan. Alkaloid dan flavonoid akan terikat pada reseptor dari adenosin yang terdiri dari A1, A2a, A2b, dan A3 dalam sistem saraf yang kemudian menghasilkan efek yang berlawanan dengan adenosin yaitu meningkatkan aktivitas otot dan memperbaiki aliran darah ke otak sehingga membuat tubuh terasa lebih bertenaga dan menghilangkan rasa kantuk (Saputri *et al.*, 2023).

Data hasil uji statistik dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi 0,05 yang berarti data yang dianalisis memiliki distribusi normal. Selain itu, ketika dilakukan uji *Levene Test* diperoleh nilai signifikansi juga 0,05 yang menandakan bahwa data memiliki distribusi yang homogen. Oleh karena itu, analisis dapat diteruskan dengan melakukan *One Way ANOVA*. Hasil dari pengujian *One Way ANOVA* memperlihatkan nilai signifikansi 0,05 yang mengindikasikan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD*. Hasil dari uji *Tukey HSD* pada data perbedaan waktu lelah mencit menunjukkan bahwa infusa daun cokelat dengan dosis 150 mg/KgBB menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol positif. Hal ini mengarah pada kesimpulan bahwa dosis infusa 150 mg/KgBB adalah dosis yang efektif dan menunjukkan aktivitas stimulasi pada mencit jantan putih, karena sebanding dengan kontrol positif kafein 100 mg/KgBB.

4. CONCLUSION

Infusa daun cokelat (*Theobroma cacao* L) terbukti memiliki efek stimulasi pada mencit putih (*Mus musculus*), dengan dosis 150 mg/KgBB menunjukkan hasil terbaik yang mendekati efek kafein. Daun cokelat (*Theobroma cacao* L) berpotensi dikembangkan sebagai stimulan alami seperti teh herbal atau sediaan lain.

REFERENCES

- Aini, R. N., Listyani, T. A., & Raharjo, D. (2023). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Dengan Metode Abts. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan, Desember, 9(23)*, 665-680. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10353550>.
- Anas, Y., Puspitasari, N., & Nuria, M. C. (2019). Aktivitas Stimulasi Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Pada Mencit Jantan Galur Swiss Beserta Identifikasi Golongan Senyawa Aktif. *Jurnal Biologi, 12(2)*, 13–22.
- Deni, M. (2019). Effectiveness Stimulance Of Combination Of Beetroot And Apple Juice On Physical Resistance And Hb Levels In White Rat Sprague Dawley. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar Dan Lingkungan Hidup, 19(April)*, 20–26. <https://journal.unpak.ac.id/index.php/ekologia>
- Febrianasari, N., Wijayanti, R., & Apriadi, A. (2016). Uji Stimulasi Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Pada Mencit Galur Swiss. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis, 1(2)*, 42–49.
- Febriyanti, A., Iyabu, H., Kunusa, Kilo, J. La, Isa, I., Suleman, N., & Rewini, W. (2024). Analisis Kandungan Logam Timbal (Pb) Dan Kadmium (Cd) Gorontalo. 7(3).
- Klau, M. H. C. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia, 4(1)*, 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- Kurniawati. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata, 2(2)*, 193–199.
- Mafitri, H. M., Parmadi, A., Kesehatan, P., & Mulia, B. (2018). Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Mencit Dengan Metode Natatory Exhaustion The Tonic Effects Test Of Ethanolic Extract Of Pandan Wangi Leaf (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb.) On Mice By Using Natatory. *Ijms-Indonesian Journal On Medical Science, 5(1)*, 2355–1313.
- Mahmud, N. F., Maryam, S., & Suhaenah, A. (2024). Analisis Kadar Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Daun Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Dengan Perbandingan Daerah Tempat

- Tumbuh. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 2(2), 326–335. <https://Journal.Farmasi.Umi.Ac.Id/Index.Php/Mpsj>
- Novia, D., Samudra, A. G., & Susanti, N. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Dan Infusa Daun Jati (*Tectona Grandis L.S*) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (Klt). 2507(February), 1–9.
- Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., & Normaidah. (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (*Cyclea Barbata Miers*). *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 16. <https://doi.org/10.61902/Cerata.V11i1.84>
- Rozi, D. F., Astuti, R. A., & Hardia, L. (2024). Uji Aktivitas Hipnotik-Sedatif Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius R.*) Terhadap Mencit Putih (*Mus Musculus*) *Hypnotic-Sedative Activity Test Of Ethanol Extract Of Wangi Pandan Leaves*. 06(01). <https://doi.org/10.30587/Herclips.V6i01.8252>
- Saputri, G. A. R., Nofita, & Sudarti, W. (2023). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Bidara. 17(2014), 276–284.
- Sihombing, R., Hanafi, M., & Laksmiawati, D. R. (2024). Uji Aktivitas Stimulansia Ekstrak Daun Bangun-. 9(1), 71–76.
- Tari, M. (2021). (*Chromolaena Odorata (L.)*) Terhadap Mencit Putih Jantan. 1, 21–34.
- Tivani, I., Amananti, W., & Rima Putri A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstak Daun Turi (*Sesbania Grandiflora L*) Terhadap Staphylococcus Aureus. *Jurnal Ilmiah Manutung*, 7(1), 86–91.
- Yulianita, Y., Effendi, E. M., & Firdayani, E. M. (2019). Sedative Effect Of Citronella (*Cymbopogon Nardus (L.) Rendle*) Towards Male Mice (*Mus Musculus*). *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology Journal Homepage*, 1(1), 16–23. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
- Yunita, A. P. (2014). *Ijms - Indonsian Journal On Medical Science – Volume 1 No 2 – 2014 - Ijmsbm.Org*. 1(2).