



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANTIARTRITIS EKSTRAK ETANOL 80% KULIT
BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum* L.) TERHADAP
UDEM PADA TELAPAK KAKI TIKUS PUTIH JANTAN
YANG DIINDUKSI OLEH COMPLETE FREUND'S
ADJUVANT**

SKRIPSI

**RUSMALITA PEBRIANA SARI
0606029201**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANTIARTRITIS EKSTRAK ETANOL 80% KULIT
BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum* L.) TERHADAP
UDEM PADA TELAPAK KAKI TIKUS PUTIH JANTAN
YANG DIINDUKSI OLEH COMPLETE FREUND'S
ADJUVANT**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**RUSMALITA PEBRIANA SARI
0606029201**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Rusmalita Pebriana Sari

NPM : 0606029201

Tanda Tangan : 

Tanggal : 6 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Rusmalita Pebriana Sari
NPM : 0606029201
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Efek Antiartritis Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*) terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Juheini Amin, M.Si (.....)
Pembimbing II : Santi Purna Sari S.Si., M.Si (.....)
Penguji I : Dr. Silvia Surini, M.Pharm. Sc. (.....)
Penguji II : Dr. Retnosari Andrajati MS (.....)
Penguji III : Drs. Umar Mansur, M.Sc (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 16 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang serta senantiasa mencurahkan nikmat dan karunia -Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

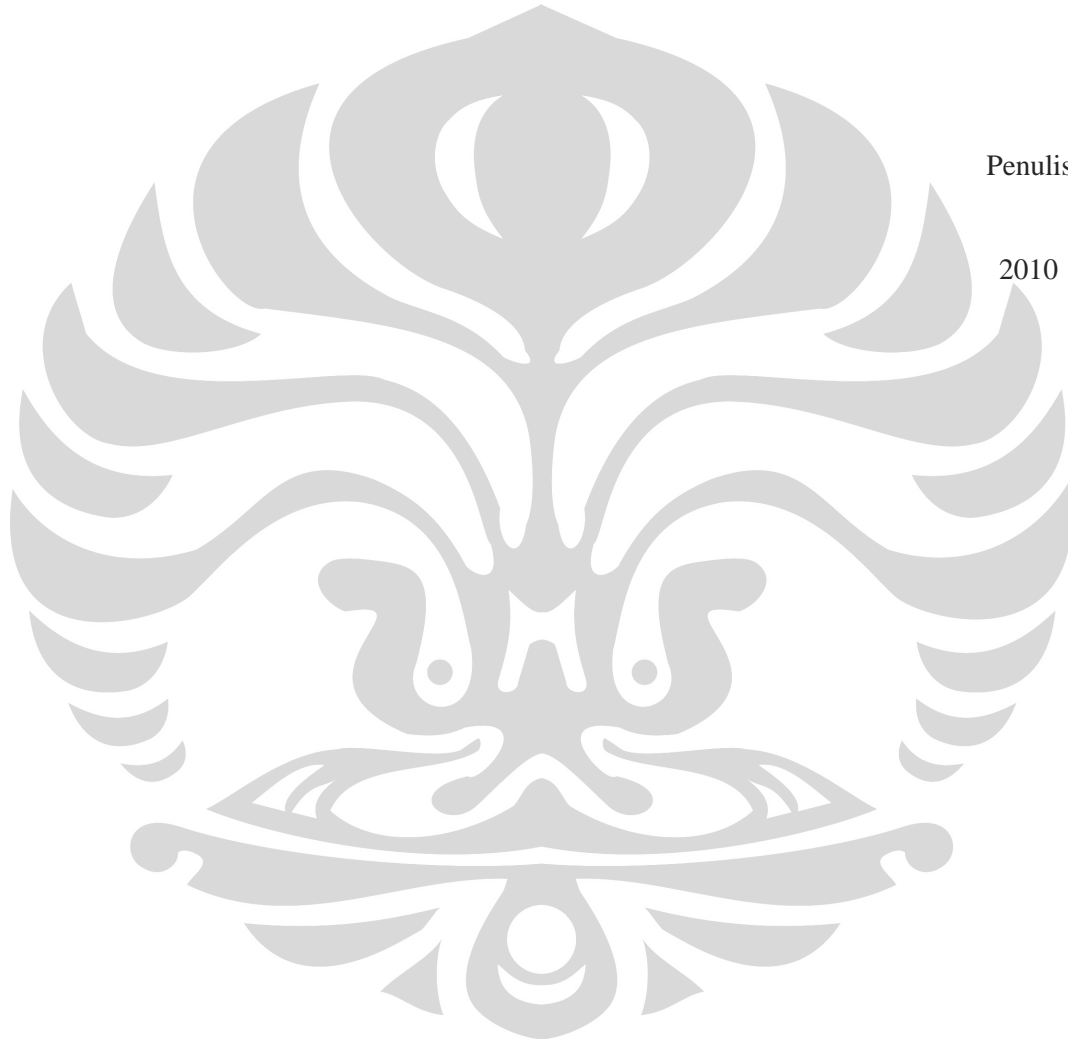
Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mengikuti ujian Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, M.S selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Ibu Dra. Juheini Amin, M.Si selaku pembimbing pertama skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Santi Purna Sari S.Si, M.Si selaku pembimbing kedua skripsi sekaligus sebagai pembimbing akademik yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasehat mengenai kuliah dan penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, M.S selaku Kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, nasehat, saran, dan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium Farmakologi.
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
6. PT. Kalbe Farma atas pemberian natrium diklofenak untuk penelitian ini.
7. Mama, Abang Rony, Kakak Lia, Abang Kiky, Kakak Iin, dan seluruh keluarga yang selalu memberikan doa, kasih sayang, motivasi, nasehat, dan dukungan materi.

8. Teman-teman Farmasi UI 2006 yang telah membantu penulis dalam berbagai hal terutama selama masa penelitian dan penyusunan tugas akhir.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT akan membalas semua kebaikan segala pihak yang telah membantu. Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Tetap yakin dan semangat!



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rusmalita Pebriana Sari
NPM : 0606029201
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Efek Antiartritis Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*) terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*


berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 6 Juli 2010

Yang menyatakan



(Rusmalita Pebriana Sari)

ABSTRAK

Nama : Rusmalita Pebriana Sari
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Efek Antiartritis Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum* L.) terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*

Artritis reumatoid merupakan penyakit inflamasi kronik yang dapat menurunkan kualitas hidup penderitanya. Pengobatan konvensional penyakit ini memiliki efek samping yang cukup berbahaya. Oleh karena itu, banyak penderita yang beralih ke pengobatan alternatif dengan menggunakan obat herbal, satu di antaranya adalah buah *Punica granatum* L. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antiartritis ekstrak etanol 80% kulit buah *Punica granatum* L. yang diberikan per oral pada hari ke-17 sampai 30 berdasarkan penurunan volume udem dan persentase indeks artritis. Metode yang digunakan adalah *adjuvant induced arthritis* dengan menginduksi *complete freund's adjuvant* sebanyak 0,1 ml secara subplantar dan dibiarkan artritis hingga hari ke-16. Hewan uji yang digunakan sebanyak 33 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang terbagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga kelompok menerima suspensi ekstrak etanol 80% kulit buah *Punica granatum* L. dalam CMC 0,5% dengan dosis 20,40, dan 80 mg/200 gram bb tikus. Volume udem diukur dengan pletismometer pada hari ke-17, 20, 23, 26, 29, 31 dan indeks artritis ditetapkan pada hari ke-17 dan 31. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$) berdasarkan penurunan volume udem dan persentase indeks artritis, walaupun persentase penghambatan udem rata-ratanya semakin meningkat dengan bertambahnya dosis.

Kata kunci:

Antiartritis, *complete freund's adjuvant*, ekstrak kulit buah *Punica granatum* L., indeks artritis, volume udem

xiii+50 halaman : 7 gambar; 9 tabel; 10 lampiran

Daftar acuan : 45 (1971-2010)

ABSTRAC

Name : Rusmalita Pebriana Sari
Program Study : Pharmacy
Title : Antiarthritis Effect of 80% Ethanolic Extract of Pomegranate
(*Punica granatum* L.) Fruit Peel in Hind Paw Edema of Male
Rats Induced by Complete Freund's Adjuvant

Rheumatoid arthritis is chronic inflammatory disease that can degrade the quality of patient survival. Conventional treatments of this disease have potentially dangerous side effects. Therefore, many patients are turning to alternative medicine using medicinal herbs, one of which is the fruit of *Punica granatum* L. The aim of this research was determined antiarthritis effect of 80% ethanolic extract of *Punica granatum* L. fruit peel which had been given orally on 17-30th day based on decreased edema volume and percentage indexes of arthritis. The method was adjuvant induced arthritis by using the *complete freund's adjuvant* 0,1 ml by subplantar and allowed to arthritis until day 16. Test animals were used 33 male rats of *Sprague Dawley* strain that were divided into six groups: normal control, positive control, negative control, and three groups received suspension of 80% ethanolic extract of *Punica granatum* L. fruit peel in 0,5% CMC at doses 20, 40, and 80 mg/200 g body weight. Edema volume was measured by pletismometer on days 17, 20, 23, 26, 29, 31 and indexes of arthritis determined on days 17 and 31. Results showed that they were not significant difference in the decreased edema volume and the percentage indexes of arthritis, although the percentage inhibition of edema elevated with increasing dose.

Keywords:

Antiarthritis, complete freund's adjuvant, edema volume, indexes of arthritis, *Punica granatum* L. fruit peel extract
xiii+50 pages : 7 figures; 9 tables; 10 appendices
Bibliography : 45 (1971-2010)

DAFTAR

Halaman

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Punica granatum</i> L	4
2.2 Arthritis Reumatoid.....	6
2.3 Pengobatan Arthritis Reumatoid	7
2.4 Metode Uji Efek Antiarthritis.....	9
2.5 <i>Complete Freund's Adjuvant</i> (CFA).....	11
2.6 Natrium Diklofenak.....	12
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Tempat dan Waktu	14
3.2 Alat	14
3.3 Bahan.....	14
3.4 Cara Kerja.....	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	27
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR ACUAN	28

DAFTAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah delima merah	32
3.1 Pletismometer	32
3.2 Cara pengukuran volume udem pada kaki tikus dengan pletismometer	33
4.1 Kaki tikus yang diinduksi <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA).....	34
4.2 Grafik volume kaki pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) secara subplantar	35
4.3 Grafik perbandingan volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus	35
4.4 Grafik persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus	36

DAFTAR

Tabel	Halaman
3.1. Kelompok perlakuan uji antiarthritis	16
3.2. Parameter pengamatan indeks artritis	21
4.1 Volume kaki rata-rata pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) secara subplantar.....	22
4.2 Volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus.....	24
4.3 Persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus	24
4.4 Volume kaki pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) secara subplantar.....	37
4.5 Volume udem pada pemberian natrium diklofenak dengan dosis 9 mg/200 gram berat badan tikus per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus	37
4.6 Volume udem pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) pada telapak kaki tikus.....	38
4.7 Nilai dan persentase (%) indeks artritis pada hari ke-17 dan 31 untuk tiap kelompok perlakuan	39

DAFTAR

Lampiran	Halaman
1. Hasil identifikasi/determinasi tumbuhan <i>Punica granatum</i> L.....	40
2. Laporan hasil uji fitokimia ekstrak kulit buah delima merah	41
3. Laporan hasil uji persentase kadar flavonoid, tanin, dan air ekstrak kulit buah delima merah	42
4. Sertifikat analisis natrium diklofenak dari PT. Kalbe Farma	43
5. Sertifikat analisis <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) dari Sigma-Aldrich	44
6. Penentuan dosis uji dan cara pembuatan larutan uji	45
7. Uji distribusi normal menurut <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan	47
8. Uji homogenitas varians menurut <i>Levene</i> terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan	48
9. Uji analisis varians satu arah terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan	49
10. Skema kerja pelaksanaan uji antiartritis	50

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Artritis reumatoid merupakan penyakit inflamasi sistemik kronik yang terjadi pada persendian dan dapat melibatkan seluruh organ tubuh (Adnan & Daud, 1996). Umumnya disertai rasa nyeri dan bengkak pada jari-jari, lutut, dan pergelangan (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Penyakit ini tidak menyebabkan kematian namun dapat menurunkan kualitas hidup. Angka kejadiannya meningkat dengan bertambahnya usia, terutama pada perempuan karena adanya faktor keseimbangan hormonal. Puncak terjadinya penyakit ini adalah usia 40 -60 tahun (Carter, 2005). Artritis reumatoid dapat menyerang orang-orang di seluruh dunia dengan prevalensi sekitar 0,5-1% (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

Obat-obat yang sering digunakan untuk terapi artritis reumatoid adalah obat golongan DMARD (*disease modifying anti rheumatic drugs*) yaitu metotreksat, leflunomida, dan sulfasalazin (Mulyaningsih & Darmawan, 2006; O'Dell, 2004). Obat golongan ini bersifat antiradang yang kuat. Senyawa-senyawa ini sering dikombinasikan dengan obat golongan antiinflamasi nonsteroid untuk memperkuat efeknya, namun efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat-obat tersebut cukup berbahaya, yaitu dapat menyebabkan perdarahan pada gastrointestinal, mual, dispepsia, gangguan fungsi ginjal, dan darah (Schwinghammer, 2003; Wilmana & Gan, 2007; Priyanto, 2009). Hal ini mengakibatkan banyak penderita artritis reumatoid yang beralih ke pengobatan alternatif dengan menggunakan obat herbal yang memiliki efek samping yang lebih ringan (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

Tanaman obat merupakan sumber daya biologi utama yang dapat dimanfaatkan untuk pengembangan obat herbal, *neutraceutical*, dan obat baru (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat ini dapat berupa sayur-sayuran dan buah-buahan. Buah delima merah merupakan satu diantara buah-buahan yang memiliki khasiat dalam mengatasi

masalah kesehatan yang terjadi di masyarakat, diantaranya sebagai obat antiarthritis.

Punica granatum atau yang biasa disebut buah delima merupakan satu diantara jenis buah-buahan yang cukup populer untuk diolah menjadi jus (Patel, Dadhaniya, Hingorani, & Soni, 2008). Kandungan zat gizi seperti vitamin dan mineral yang terkandung di dalamnya sangat tinggi. Buah ini terkenal memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi sehingga dapat berkhasiat sebagai antikanker (Lansky, Shubert, & Neeman). Selain itu, pomegranate (nama lain buah delima) berkhasiat pula sebagai antibakteri, antivirus, dan menurunkan kolesterol (Jurenka, 2008).

Penelitian mengenai buah delima yang telah terbukti secara ilmiah adalah sebagai antiinflamasi yang dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah dengan dosis 20 mg/200 gram berat badan tikus (Ross, 1999). Hal ini berdasarkan adanya kandungan kulit buah delima yaitu polifenol terutama antosianidin dan elagitanin yang dapat menghambat aktivitas siklooksigenase melalui penghambatan ekspresi fosfolipase (Lansky & Newman, 2006). Selain itu, berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak buah delima memiliki efek penghambatan *p-38-mitogen activated protein kinase* (p38-MAPK) dan NF- κ B (*nuclear factor kappa B*) yang berhubungan dengan pembentukan TNF-I (*tumor necrosis factor alpha*), IL-1 β (*interleukin-1 β*), MCP1 (*monocyte chemotactic protein-1*), iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dan COX-2 (*cyclooxygenase-2*) yang merupakan mediator inflamasi dan penyakit persendian degeneratif (Shukla, Gupta, Rasheed, Khan, & Haqqi, 2008).

Berdasarkan hal tersebut, kulit buah delima merah diduga juga memiliki khasiat antiarthritis. Kandungan-kandungan zat aktif kulit buah delima merah hampir sama dengan buahnya, sehingga memungkinkan memiliki efek yang sama. Penelitian mengenai uji antiarthritis kulit buah delima merah pun masih terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat tersebut. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah yang diberikan pada tikus putih jantan yang diinduksi oleh *complete freund's adjuvant* yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* kering yang telah

dimatikan. Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat diaplikasikan kepada manusia sebagai alternatif pengobatan artritis reumatoid.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiartritis ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah (*Punica granatum* L.) yang diberikan secara oral terhadap udem pada telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi dengan *complete freund's adjuvant* ditinjau dari penurunan volume udem dan persentase indeks artritis.

1.3 Hipotesis

Ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah (*Punica granatum* L.) yang diberikan secara oral memiliki efek antiartritis terhadap udem pada telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi dengan *complete freund's adjuvant* ditinjau dari penurunan volume udem dan persentase indeks artritis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Punica granatum L.*

2.1.1 Klasifikasi dan Tata Nama (Tjitrosoepomo, 1991)

2.1.1.1 Klasifikasi

Dunia : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Myrtales
Suku : Lythraceae
Marga : Punica
Jenis : *Punica granatum L.*

2.1.1.2 Nama Daerah (Heyne, 1987)

Glima (Aceh); Glimau mekah (Gayo), Dalimo (Batak), Dhalima (Madura), Jeliman (Sasak), Talima (Bima), Dila daelak (Roti), Lekokase (Timor), Delima (Melayu).

2.1.2 Deskripsi

Tanaman perdu dengan batang berkayu dan berduri. Daun berwarna hijau, tunggal, bentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, panjang sekitar 1-8 cm, lebar 5-15 mm dan memiliki pertulangan menyirip. Bunga merupakan bunga tunggal, tangkai pendek, mahkota agak bulat dengan jumlah sebanyak 5-7, kelopak berlekatan, dan tangkai sari melengkung. Warna bunga merah atau kuning pucat (Tjitrosoepomo, 1991).

Buahnya merupakan buah buni yang bentuknya agak bulat dengan taju-taju kelopak yang tidak gugur pada ujung atasnya. Buah memiliki biji yang banyak dengan salut biji yang berair dan dapat dimakan. Biji berbentuk bulat, keras, kecil, dan berwarna merah (Tjitrosoepomo, 1991) (Gambar 2.1). *Punica*

granatum L. merupakan tanaman asli dari Asia Barat. Tanaman ini dapat ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Selain itu, tanaman ini digunakan untuk tujuan pengobatan di negara Spanyol, Maroko, Mesir, Afghanistan, dan Iran (Standard of ASEAN herbal medicine, 1993; Ross, 1999).

2.1.3. Kandungan Kimia

Kulit buah *Punica granatum* L. memiliki kandungan kimia antara lain asam galat, asam elagat, asam kafeat, antosianidin, elagitanin (punikalalin, punikalagin, granatin), flavan-3-ol, flavonol, flavon, flavonon (Jurenka, 2008; Lansky & Newman, 2006).

2.1.4. Kegunaan Tanaman

Buah *Punica granatum* L. banyak digunakan masyarakat untuk pengobatan kanker, antitumor, menurunkan kadar kolesterol total, antibakteri, penyembuh luka, menurunkan tekanan darah tinggi, obat diare, disentri, obat cacing, dan suplemen makanan (Jurenka, 2008; Wiryowidagdo; Ahmed, Ifzal, Saifyddin, & Nazeer, 1995; Machadoa, Leal, Amaral, Santos, Silva, & Kuster, 2002).

Pada penelitian sebelumnya dilakukan uji efek antiinflamasi ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah yang diberikan secara oral pada tikus putih jantan. Berdasarkan hasil percobaan ini diketahui bahwa ekstrak tersebut dengan dosis 20 mg/200 gram berat badan tikus menunjukkan aktivitas penghambatan udem oleh karagenin yang lemah yaitu sebesar 23% (Ross, 1999). Selain itu, kandungan polifenol yang terdapat dalam buah delima memiliki aktivitas penghambatan enzim siklooksigenase-2 pada sampel plasma darah kelinci setelah 2 jam pemberian ekstrak buah delima merah secara oral. Aktivitas yang dihasilkan cukup signifikan jika dibandingkan dengan kontrol yaitu sebesar 38,8% (Shukla, Gupta, Rasheed, Khan, & Haqqi, 2008). Dengan demikian, kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam buah delima secara tidak langsung dapat menghambat biosintesis prostaglandin (Lansky & Newman, 2006).

2.2 Arthritis Reumatoid

2.2.1 Definisi

Arthritis reumatoid didefinisikan sebagai penyakit gangguan kronik yang menyerang sistem organ dan diperantarai oleh imunitas. Umumnya terjadi peradangan sendi dan destruksi sendi yang progresif (Carter, 2005).

2.2.2 Mekanisme Terjadinya Arthritis Reumatoid

Penyakit arthritis reumatoid merupakan penyakit peradangan kronik yang mengakibatkan degenerasi jaringan ikat. Mula-mula terjadi kerusakan di membran sinovium yang membentuk lapisan sendi. Peradangan berlangsung terus-menerus dan menyebar ke struktur-struktur sendi di sekitarnya, termasuk tulang rawan sendi dan kapsul fibrosa sendi. Hal ini menyebabkan ligamentum dan tendon ikut meradang (Corwin, 2000).

Reaksi imunologis juga berperan dalam terjadinya peradangan ini. Fagositosis kompleks imun oleh sel radang, akan disertai oleh pembentukan dan pembebasan radikal oksigen bebas, leukotrien, prostaglandin, dan protease neutral (colagenase dan stromelysin) yang menyebabkan erosi rawan sendi dan tulang. Radikal oksigen bebas dapat menyebabkan terjadinya penurunan viskositas cairan sendi dan merusak kolagen serta proteoglikan rawan sendi. Selain itu, prostaglandin E_2 (PGE_2) yang dihasilkan memiliki sifat vasodilator yang kuat. PGE_2 dengan bantuan IL-1 (Interleukin 1) dan TNF β (*Tumor Necrosis Faktor β*) dapat merangsang terjadinya resorpsi tulang osteoklastik (Adnan & Daud, 1996).

2.2.3 Penyebab

Arthritis reumatoid merupakan penyakit otoimun yang terjadi pada individu yang rentan akibat adanya respon imun terhadap agen pencetus yang tidak diketahui. Faktor pencetusnya adalah suatu virus, bakteri dan mikoplasma yang menginfeksi sendi. Respon imun yang terjadi menyebabkan terbentuknya antibodi lain yang berpengaruh terhadap komponen tubuh yang disebut faktor reumatoid. Faktor ini akan menetap di kapsul sendi yang menimbulkan peradangan kronik dan destruksi sendi. Selain itu, arthritis reumatoid juga

diakibatkan oleh adanya predisposisi genetik terhadap penyakit otoimun (Corwin, 2000). Peningkatan sekresi zat vasoaktif pada daerah inflamasi seperti prostaglandin, histamin, dan kinin dapat menyebabkan peningkatan aliran darah dan permeabilitas vaskuler sehingga terjadi udem, eritema, dan nye ri (Priyanto, 2009).

2.2.4 Manifestasi Artritis Reumatoid (Carter, 2005)

Manifestasi klinik yang terja di pada pasien dengan a rtritis reumatoid adalah sebagai berikut:

- a. Gejala-gejala konstitusional misalnya lelah, anoreksia, demam, berat badan menurun.
- b. Poliartritis simetris pada sendi perifer.
- c. Kekakuan di pagi hari selama lebih dari satu jam pada daerah persedian.
- d. Artritis erosif merupakan peradangan sendi kronik yang mengakibatkan erosi di tepi tulang.
- e. Deformitas diakibatkan adanya kerusakan struktur penunjang sendi yang meningkat seiring dengan perjalanan penyakit.
- f. Nodul-nodul reumatoid merupakan massa subkutan yang sering ditemukan di daerah sendi siku atau di sepanjang permukaan ekstensor dari lengan. Nodul - nodul ini merupakan suatu petunjuk adanya keparahan penyakit.
- g. Manifestasi ekstraartikular
Artritis reumatoid yang menyerang organ lain di luar sendi seperti jantung, paru-paru, mata, dan pembuluh darah.

2.3 Pengobatan Artritis Reumatoid

2.3.1 Obat-obat Antiartritis

Ada tiga macam obat untuk mengobati art ritis reumatoid yaitu obat antiinflamasi nonsteroid, kortikosteroid, dan *disease modifying anti rheumatic drugs* (O'Dell, 2004).

Obat antiinflamasi nonsteroid yang digunakan untuk pengobatan artritis reumatoid adalah fenilbutazon, indometasin, sulindak, tolmetin natrium,

ibuprofen, naproksen, piroksikam, diklofenak, dan ketoprofen (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985). Obat-obat kortikosteroid antiinflamasi meliputi prednison (oral), triamsinolon asetonida, triamsinolon heksasetonida, metilprednisolon asetat (intramuskular), sedang kan obat-obat golongan DMARD (*disease modifying anti rheumatic drugs*) yaitu metotreksat, emas (auranofin), leflunomida, sulfasalazin, hidroksiklorokuin, azatioprin, dan penisilamin (Schwinghammer, 2003).

2.3.2 Mekanisme Kerja Obat Antiarthritis

a. Obat Antiinflamasi Nonsteroid

Obat-obat yang termasuk golongan ini memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik. Golongan obat ini menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakidonat menjadi PGG₂ terhambat. Hal ini menyebabkan terhambatnya sintesis prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan yang berperan dalam menimbulkan reaksi peradangan, namun tidak menghambat biosintesis leukotrien yang diketahui ikut berperan dalam proses inflamasi (Wilmana & Gan, 2007).

Efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid ini berdasarkan atas penghambatan biosintesis prostaglandin. Efek ini terjadi pada lambung, usus, ginjal, dan fungsi trombosit seperti mual, muntah, tukak lambung usus, nyeri lambung, perpanjangan masa perdarahan, kelainan regulasi air, dan elektrolit (Wilmana & Gan, 2007).

b. Kortikosteroid

Obat golongan ini biasanya diberikan pada pasien dengan artritis reumatoid yang sifatnya progresif dan dengan pembengkakan serta nyeri sendi yang cukup parah. Obat ini memiliki efek samping yang perlu diperhatikan yang seringkali timbul akibat pemberhentian pengobatan secara tiba-tiba yaitu insufisiensi adrenal akut seperti demam, mialgia, artralgia, dan malaise. Selain itu, kortikosteroid dapat menimbulkan reaksi perdarahan pada pasien tukak peptik, osteoporosis, *moonface*, *buffalo hump*, hiperlipidemia, hiperkoagulabilitas, dan

kepekaan terhadap infeksi (Wilmana & Gan, 2007). Mekanisme kerja kortikosteroid adalah menghambat fosfolipase A₂ yang bertanggung jawab terhadap pembentukan asam arakidonat yang merupakan prekursor berbagai mediator inflamasi (Neal, 2006).

c. **DMARD (*Disease Modifying Antirheumatic Drugs*)**

Aktivitas antiinflamasi yang dimiliki DMARD sangat kuat. Obat golongan ini memiliki daya antierosif yang dapat menghentikan atau memperlambat kerusakan tulang rawan, namun tidak memiliki aktivitas analgesik sehingga penggunaannya seringkali dikombinasikan dengan obat antiinflamasi nonsteroid (Schwinghammer, 2003).

Efek samping DMARD dapat menyebabkan supresi sumsum tulang yang dapat menimbulkan kelainan darah yang berbahaya. Selain itu, efek samping yang ditimbulkan yaitu anoreksia, mual, muntah, diare, *rash*, dan insomnia (Schwinghammer, 2003).

2.4 Metode Uji Efek Antiartritis

Efek antiartritis suatu obat yang dilakukan secara eksperimental pada hewan dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu:

a. *Antigen arthritis*

Methylated bovine serum albumin (m-BSA) dalam *complete freund's adjuvant* digunakan sebagai antigen dalam metode ini. Zat ini dapat diberikan secara intradermal atau subkutan. Antigen ini kemudian akan menstimulasi terjadinya proses inflamasi akut dan destruksi sendi (Bendele, 2001).

b. *Adjuvant-induced arthritis*

Metode ini merupakan metode yang sering digunakan secara luas untuk pengujian aktivitas agen antiartritis. Metode ini menggunakan *complete freund's adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium* atau dinding-dinding sel bakteri sebagai zat penginduksinya (Woode et.al., 2008). Suspensi adjuvan diinjeksikan di daerah subplantar kaki. Proses inflamasi terjadi pada hari 9-10

setelah diinjeksi dengan adjuvan (Bendele, 2001). Onset dan perkembangan penyakitnya pun dapat dengan mudah diamati (Bendele, 2001). Volume udem yang terbentuk dapat diukur dengan alat pletismo meter sederhana (Woode et al., 2008).

Selain itu, dapat pula digunakan indeks artritis untuk mengukur tingkat keparahan terjadinya artritis reumatoid atau untuk mengetahui apakah tikus menderita artritis reumatoid atau tidak. Hal ini dapat diamati dari gejala-gejala yang muncul (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Tikus dinyatakan artritis reumatoid jika indeks artritis ≥ 1 yang ditandai dengan adanya bengkak, kemerahan, dan perubahan bentuk pada jari serta telapak kaki. Semakin tinggi indeks artritisnya maka artritis yang terjadi semakin parah (Smit, 2000).

c. *Streptococcal cell wall-induced arthritis*

Metode ini merupakan metode yang menghasilkan artritis kronik dengan menginokulasi dinding sel streptococcal secara intraperitoneal. Dalam waktu 2 hari terbentuk tanda-tanda pembentukan artritis akut pada hewan coba yang kemudian berkembang menjadi artritis kronik. *Radioimmunoassay* dapat digunakan untuk mendeteksi produk di sendi dan jaringan pada tikus artritis yang diinokulasi dengan dinding sel streptococcal (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985).

d. *Collagen-induced arthritis*

Bovine tipe II kolagen dalam *incomplete freund's adjuvant* yang digunakan sebagai antigen diberikan secara intradermal. Onset artritis terjadi pada hari ke-10 sampai 13. Proses artritis berkembang hingga 1 atau 2 bulan dengan tanda-tanda terjadinya destruksi pada sendi dan tulang. Prinsip metode ini adalah adanya reaksi otoimun terhadap kolagen (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985; Bendele, 2001).

e. *MRL/1 arthritis*

Retrovirus murin diinjeksikan ke dalam hewan coba sehingga menghasilkan imunoglobulin G kompleks faktor reumatoid. Proses pembentukan artritis ini berlangsung sekitar 3-4 bulan. Sekitar bulan ke-5 sampai 6, 75 % dari hewan coba dengan MRL/1 memperlihatkan tanda-tanda adanya kerusakan sendi seperti proliferasi sel sinovial, infiltrasi sinovium oleh limfosit dan sel plasma (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985).

f. *Formaldehyde induced arthritis*

Metode ini merupakan satu diantara metode model artritis yang cukup sederhana. Sebanyak 0,1 ml formaldehid 2% (v/v) diinjeksikan secara subkutan pada daerah telapak kaki tikus pada hari pertama dan ketiga selama percobaan. Agen antiartritis diberikan secara berturut-turut selama 10 hari. Perubahan volume telapak kaki (udem/inflamasi) dapat diukur menggunakan plethysmometer (Gupta, Bhalla, Gupta, Mitra, & Bhargava, 1971; Fotio, Nguielefack, Dimo, Asongalem, & Kamtchouing, 2004).

g. *Carrageenan induced arthritic*

Metode ini merupakan metode sederhana untuk pembentukan inflamasi artritis. Karagenin 1% diinjeksikan pada daerah subplantar telapak kaki tikus sebanyak 0,1 ml. Volume telapak kaki diukur sebelum dan 1, 2, 3, 4, 6, 10, dan 12 jam setelah penyuntikan karagenin dengan alat plethysmometer sederhana (Li Wen Guang, Zhang Xiao Yu, Wu Yong Jie, & Tian Xuan, 2001). Penelitian lain melakukan pengukuran sebelum dan setelah 1, 2, 4 jam induksi karagenin (Zhang Yi, Wang Jun-Zhi, Wu Yong-Jie, & Li Wen-Guang, 2002).

2.5 *Complete Freund's Adjuvant (CFA)*

Zat ini merupakan zat penginduksi artritis pada hewan uji yang telah digunakan secara luas sebagai model laboratorium dalam penelitian artritis reumatoid. CFA berisi *Mycobacterium tuberculosis* kering yang telah dimatikan atau komponen dari dinding selnya. Mekanisme kerja zat ini adalah adanya reaksi

inflamasi secara imunologis yang melibatkan respon antibodi (Guidelines for the research use of adjuvant, 2005 ; Billiau & Matthys, 2001) . Komponen dari CFA menyebabkan terjadinya influks dan proliferasi leukosit sehingga terbentuk proses inflamasi. CFA dapat menghasilkan inflamasi loka l dan granuloma kronik pada daerah injeksi (Guidelines for the research use of adjuvant, 2005). Reaksi imun tersebut terjadi selama kurang lebih 9 hari yang ditandai dengan pembengkakan pada telapak kaki dan kesulitan berjalan (Bendele, 2001; Bolon, Morony, Cheng, Hu, & Feige, 2004). CFA dapat disuntikan di telapak kaki (subplantar) hewan uji ataupun secara intraperitoneal. Rute pemberian CFA pada telapak kaki dapat menyebabkan artritis kronik , sedangkan secara intraperitoneal dapat menyebabkan peritonitis. Pada penyuntikan di telapak kaki, v olume injeksi maksimum yang direkomendasikan sebesar 0,01 -0,05 ml untuk mencit dan 0,1 ml untuk tikus. Secara intraperitoneal, volume injeksi maksimum dari emulsi antigen CFA sebanyak 0,2 ml pada mencit (Guidelines for the research use of adjuvant, 2005) .

2.6 Natrium Diklofenak

Rumus molekul senyawa ini adalah $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ dan bobot molekul 318,1 (Reynolds, 1982). Pemerianannya adalah serbuk kristal, higroskopis, berwarna putih, mudah larut dalam metanol, larut dalam etanol, agak sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter (United States Pharmacopoeial Convention . 2007). Obat ini merupakan obat antiinflamasi nonsteroid dari derivat fenilasetat yang memiliki aktivitas analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi (Reynolds, 1982).

Efek antiradang natrium diklofenak sangat kuat dan memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat la innya (indometasin, piroksikam), sehingga obat ini sering digunakan untuk segala macam nyeri, juga pada migrain dan encok (Tjay & Rahardja, 2002). Absorpsi natrium diklofenak melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek lintas awal sebesar 40 -50%. Secara oral, efeknya dimulai setelah 1 jam sedangkan secara rektal maupun intramuskular lebih cepat, masing - masing setelah 30 menit dan 15 meni t. Natrium diklofenak diakumulasi di cairan

sinovium yang menyebabkan efek terapi di sendi jauh lebih panjang daripada waktu paruhnya yang hanya 1 -3 jam sehingga dapat digunakan sebagai obat pilihan untuk artritis reumatoid (Wilmana & Gan, 2007). Obat ini biasanya digunakan untuk pengobatan artritis reumatoid dan kelainan rematik dengan dosis 25-50 mg sehari tiga kali (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985; Reynolds, 1982).



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia selama empat bulan mulai Februari hingga Mei 2010.

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pletismometer (Gambar 3.1), jarum suntik 27 G1/2 (Terumo (Philippines) Corporation, Filipina), spuit 1; 5 ml (Terumo (Philippines) Corporation, Filipina), sonde oral, timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan (A&D, Jepang), dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

3.3.1 Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan hewan uji tikus putih jantan (*Ratus norvegicus* L) galur *Sprague Dawley* (SD) yang berumur lebih kurang 2 bulan dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 33 ekor. Tikus putih tersebut diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.3.2 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak kulit buah *Punica granatum* L. dalam etanol 80% yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Buah yang digunakan telah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (Lampiran 1) dan telah di uji secara fitokimia di Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Lampiran 2 dan Lampiran 3).

3.3.3 Bahan Kimia

Bahan-bahan yang digunakan adalah *complete freund's adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* (Sigma-Aldrich, USA), larutan NaCl 0,9% steril (PT. Otsuka Indonesia), Natrium diklofenak (Yung Zip Chemical Ind. Co., Ltd., Taiwan), alkohol 70% (PT. Jayamas Medica Industri Indonesia), Karboksimetilselulosa/CMC (Dai-ichi Kogyo Seiyaku Co., Ltd., Jepang), dan aquadest.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode *adjuvant-induced arthritis* (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Pengamatan efek antiartritis dilakukan berdasarkan penurunan volume udem pada telapak kaki kiri (Woode et al., 2008) dan parameter pengamatan indeks artritis (Smit, 2000) pada tikus putih yang diinjeksi 0,1 ml *complete freund's adjuvant* secara subplantar pada hari ke-1 dan mendapatkan ekstrak kulit buah delima merah (*Punica granatum* L.) pada hari ke-17 sampai hari ke-30. Pengukuran volume udem pada telapak kaki tikus tersebut menggunakan alat pletismometer sederhana (Gambar 3.2) (Woode et al., 2008). Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu uji pendahuluan dan uji antiartritis sebenarnya.

3.4.1.1 Uji Pendahuluan

Pada penelitian ini, uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan volume pemberian *complete freund's adjuvant* (CFA) yang menunjukkan gejala artritis yang jelas dan dapat diamati. Tikus putih jantan dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing terdiri dari tiga ekor. Tiap kelompok diberikan injeksi CFA secara subplantar dengan volume berturut-turut sebanyak 0,05; 0,1; 0,2 ml pada hari pertama. Pengamatan terjadinya artritis reumatoid dilakukan selama 16 hari.

3.4.1.2 Uji Antiarthritis

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan. Tiga kelompok tikus mendapatkan suspensi obat uji dalam CMC 0,5 % secara oral dengan variasi dosis yang ditentukan, satu kelompok diberi obat pembanding natrium diklofenak dalam CMC 0,5 % sebagai kontrol positif, satu kelompok sebagai kontrol negatif diberikan CMC 0,5 %, dan satu kelompok sebagai kontrol normal yang tidak diinduksi CFA, hanya mendapatkan CMC 0,5 %. Masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor tikus putih jantan.

Tabel 3.1 Kelompok perlakuan uji antiarthritis

No.	n (ekor)	Kelompok	Perlakuan
1.	4	Uji I	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 20 mg/200 g bb per oral
2.	4	Uji II	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 40 mg/200 g bb per oral
3.	4	Uji III	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 80 mg/200 g bb per oral
4.	4	Kontrol Positif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi natrium diklofenak dalam CMC 0,5% dosis 9 mg/200 g bb per oral
5.	4	Kontrol Negatif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5%
6.	4	Kontrol Normal	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml larutan salin, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5%

3.4.2 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan enam kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 4 ekor tikus putih jantan. Hal ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer (Jusman & Halim, 2009) sebagai berikut

$$(t-1)(n-1) \geq 15 \quad (3.1)$$

Dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, $t = 6$, maka $n \geq 4$, sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 4 ekor.

Tikus putih dipilih karena lebih adaptif (How do albino rats differ from pigmented rats?, 2004). Selain itu, ukuran telapak kaki tikus lebih mudah diamati dan diukur volume kakinya. Untuk mengurangi terjadinya variasi biologis maka hewan uji dipilih dengan galur, umur dan jenis kelamin yang sama. Selain itu, perlakuan dan kondisi penelitian harus sama. Tikus yang digunakan adalah galur *Sprague Dawley* karena mekanisme patofisiologinya terhadap iritasi dan inflamasi mirip dengan manusia (Conforti & Bellavite). Tikus dengan jenis kelamin jantan dipilih karena untuk menghindari adanya banyak variasi onset dan keparahan artritis yang biasanya terjadi pada tikus betina akibat pengaruh hormonal (Bendele, 2001).

Sebelum digunakan, tikus diadaptasikan (di aklimatisasi) selama dua minggu di dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Tikus diberi makan dan minum yang seragam dan dilakukan pengamatan rutin terhadap keadaan umum dan penimbangan berat badan tikus. Tikus yang sehat memiliki ciri-ciri bulu bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar, dan berat badan bertambah setiap hari. Tikus yang dinyatakan sehat dikelompokkan secara acak dengan jumlah empat ekor untuk tiap kelompoknya.

3.4.3 Penetapan Dosis Uji

3.4.3.1 Dosis Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima

Dosis uji didapatkan berdasarkan literatur. Dosis ekstrak kulit buah delima dalam etanol 80% yaitu 20 mg/200 gram berat badan tikus (Ross, 1999). Dosis II dan III dibuat dengan kelipatan 2 dan 4 dari dosis I.

Hasil perhitungan dosis:

Dosis I = 20 mg/ 200 g bb

Dosis II = 40 mg/ 200 g bb

Dosis III= 80 mg/ 200 g bb

3.4.3.2 Dosis Natrium Diklofenak

Dosis harian obat pembanding natrium diklofenak setelah dikonversi dari manusia ke tikus adalah sebesar 27 mg/200 gram berat badan tikus, namun karena obat tersebut diberikan selama 14 hari maka dosis yang digunakan adalah dosis untuk satu kali minum yaitu sebesar 9 mg/200 gram berat badan tikus. Masing-masing dosis obat uji disuspensikan dengan CMC 0,5%. Adapun perhitungan selengkapnya tertera di Lampiran 6.

3.4.4 Pembuatan Suspensi Bahan Uji

Ekstrak kulit buah delima merah disuspensikan dalam CMC 0,5% dengan dosis III, kemudian diencerkan dengan CMC 0,5% menjadi dosis I dan dosis II. Tikus dengan berat badan 200 gram diberikan suspensi larutan uji sebanyak 3 ml per oral untuk tiap perlakuan.

Cara dan volume pembuatan suspensi bahan uji dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.5 Pelaksanaan Percobaan

3.4.5.1 Prinsip Metode

Penelitian ini menggunakan metode *adjuvant-induced arthritis* (Mulyaningsih & Darmawan, 2006) dengan menyuntikan *complete freund's adjuvant* (CFA) pada daerah plantar aponeurosis (subplantar) di kaki kiri belakang tikus. Pengamatan efek antiarthritis ditunjukkan berdasarkan penurunan volume udem pada telapak kaki dengan menggunakan alat pletismometer (Woode et al.,

2008). Selain itu, pada percobaan ini diamati pula efek penurunan indeks artritis reumatoid dengan menghitung persentase indeks artritis pada setiap kelompok selama percobaan (Smit, 2000). Pengamatan volume kaki dilakukan pada hari ke-1 sebelum induksi dengan CFA, hari ke-17, 20, 23, 26, 29, dan 31 (Asomas, Prasad, Thomas, & Kamath, 2007). Pengukuran indeks artritis dilakukan pada hari ke-17 dan ke-31 (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

3.4.5.2 Prosedur Uji Antiartritis (Mulyaningsih & Darmawan, 2006)

- a. Pada hari pengujian, tikus ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak; ada enam kelompok tikus dengan jumlah tikus masing-masing kelompok adalah 4 ekor.
- b. Setiap tikus dalam semua kelompok, pada hari ke-1, diukur volume kaki kiri belakang yang akan disuntik CFA, kecuali saline untuk kontrol normal.
- c. Pada kelompok kontrol negatif, setiap tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5% secara oral.
- d. Pada kelompok kontrol positif, setiap tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi obat standar natrium diklofenak 9 mg/200 g dalam CMC 0,5% berat badan tikus secara oral.
- e. Pada kelompok obat uji dosis I, II, dan III, setiap tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi obat uji dalam CMC 0,5% sesuai dosis yang diinginkan secara oral.
- f. Pada kelompok kontrol normal, masing-masing tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 ml larutan saline pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5%.
- g. Volume kaki diukur dengan cara mencelupkannya ke dalam alat pletismometer pada hari ke-1 sebelum induksi dengan CFA, hari ke-17, 20,

23, 26, 29, dan hari ke -31. Selain itu, indeks artritis ditetapkan pada hari ke -17 dan ke-31 berdasarkan parameter pengamatan indeks artritis pada telapak kaki yang disuntik CFA.

- h. Semua data yang diperoleh dianalisis dengan statistik terhadap volume udem dan persentase indeks artritis.

3.4.6 Pengolahan Data

Data yang diperoleh yaitu volume udem dan indeks artritis. Data volume udem tiap kelompok perlakuan dianalisis secara statistik dengan menggunakan SPSS 15.0. Data ini diuji dengan metode *Saphiro-Wilk* untuk melihat distribusi data dan metode Levene untuk melihat homogenitas data. Untuk menganalisis data yang terdistribusi normal dan homogen digunakan metode Analisis Varian (ANAVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak (Dahlan, 2009).

Efek obat antiartritis dinilai dari persentase penghambatan udem yang ditimbulkan oleh *complete freund's adjuvant* yang dihitung dengan cara sebagai berikut (Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik, 1993) ; Okonogi, Duangrat, Anuchpreeda, Tachakittirungrod, & Chow wanapoonpohn, 2007).

$$\% \text{ Penghambatan udem rata-rata} = \left[1 - \frac{(a-x)}{b-y} \right] \times 100\% \quad (3.2)$$

Keterangan:

- a adalah rata-rata volume kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang diberi obat
- x adalah rata-rata volume kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang diberi obat
- b adalah rata-rata volume kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol negatif)
- y adalah rata-rata volume kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol negatif)

Selain itu, masing-masing tikus dari tiap kelompok diamati indeks skala terjadinya artritis. Kemudian, dibuat persentase tikus yang mengalami indeks artritis terhadap kontrol normal (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Hasil pengamatan dari persentase indeks artritis yang didapatkan untuk tiap kelompok kemudian dibandingkan dengan menggunakan analisis statistika Analisis Varian (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji t sehingga dapat disimpulkan apakah perbedaan yang diperoleh bermakna. Adapun parameter pengamatan indeks artritis dapat dilihat pada Tabel 3.2.

$$\text{Persentase tikus artritis} = \frac{\sum \text{Tikus dengan indeks artritis} \geq 1}{\sum \text{Tikus dalam kontrol normal}} \times 100\% \quad (3.3)$$

Tikus dinyatakan artritis reumatoid jika memiliki indeks artritis ≥ 1 .

Tabel 3.2 Parameter pengamatan indeks artritis

No.	Gejala artritis yang nampak pada tikus	Skor
1.	Bengkak dan merah pada 1 jari kaki	0,25
2.	Bengkak dan merah sedikitnya 2 jari kaki	0,50
3.	Bengkak pada telapak kaki	0,75
4.	Bengkak dan merah pada jari kaki dan perubahan bentuk pada telapak kaki	1,00
5.	Bengkak dan merah pada jari kaki dan telapak kaki	1,25
6.	Bengkak dan merah pada jari kaki dan sedikit bengkak pada sebagian telapak dan pergelangan kaki	1,50
7.	Bengkak dan merah pada jari dan telapak kaki serta bengkak pada hampir seluruh telapak dan pergelangan kaki	1,75
8.	Bengkak dan merah pada jari kaki, telapak, dan pergelangan kaki	2,00

[Sumber: Smit, 2000]

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui volume *complete freund's adjuvant* yang menghasilkan artritis yang jelas dan mudah diamati. Masing-masing kelompok diinduksi CFA secara subplantar dengan volume berturut-turut sebanyak 0,05; 0,1; dan 0,2 ml. Volume kaki rata-rata yang dihasilkan tiap kelompok perlakuan pada hari ke-8, 10, 13, 14, dan 16 dapat dilihat pada Tabel 4.1, Tabel 4.4, dan Gambar 4.2.

Tabel 4.1

Volume kaki rata-rata pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar

Perlakuan	Volume Kaki (ml)				
	Hari-8	Hari-10	Hari-13	Hari-14	Hari-16
0,05 ml	0,0308	0,0337	0,0332	0,0327	0,0338
0,1 ml	0,0368	0,0362	0,0363	0,0352	0,0392
0,2 ml	0,0426	0,0423	0,0403	0,0457	0,0429

Volume udem terbesar dihasilkan oleh injeksi CFA sebanyak 0,2 ml, namun pada kelompok ini tikus mengalami kematian sehingga volume CFA yang dipilih sebesar 0,1 ml karena artritis yang terbentuk cukup jelas dan mudah diamati. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa volume maksimum injeksi CFA sebesar 0,1 ml (Guidelines for the research use of adjuvant, 2005).

Pada penelitian ini terlihat bahwa onset terjadinya artritis reumatoid terjadi pada hari ke-8 yang ditandai dengan telapak dan pergelangan kaki yang bengkak dan merah serta adanya bengkak di sendi-sendi jari kaki (Gambar 4.1). Berdasarkan literatur, onset terjadinya artritis reumatoid adalah pada hari ke-9 setelah diinduksi CFA (Bendele, 2001). Perbedaan ini dikarenakan oleh adanya perbedaan galur tikus dan variasi biologis. Menurut Woode et.al., ada dua fase

terjadinya artritis yaitu fase akut dan fase kronis. Fase akut terjadi pada hari 0-10 dan terjadi puncak udem sekitar hari ke -4 sampai 6. Fase kronis dimulai hari ke -10 hingga hari ke-28 yang ditandai dengan terjadinya poliartritis dan udem pada daerah kaki.

4.2 Uji Antiartritis

Pada uji antiartritis ekstrak kulit buah delima ini, tikus dibagi menjadi enam kelompok (n=4) yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga kelompok mendapatkan suspensi ekstrak kulit buah delima. Pada hari pertama, tikus diinduksi *complete freund's adjuvant* sebanyak 0,1 ml dan dibiarkan hingga hari ke -16. Hal ini bertujuan agar tikus mengalami artritis dengan indeks artritis 2/1 dengan gejala yaitu bengkak dan merah di jari kaki, serta terjadi perubahan bentuk pada telapak kaki (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

Pada penelitian ini, kontrol positif natrium diklofenak dengan dosis 9 mg/200 gram berat badan tidak dapat digunakan sebagai pembanding aktivitas antiartritis ekstrak kulit buah delima karena tikus dalam kelompok tersebut mengalami kematian (Tabel 4.5). Tikus ini mati karena efek penghambatan sintesis prostaglandin yang kuat sehingga efek samping yang dihasilkan cukup besar, satu diantaranya adalah perdarahan yang terjadi di hidung. Perdarahan yang terjadi pada tikus disebabkan oleh penghambatan siklooksigenase -1 yang berperan terhadap pembentukan trombosit sehingga terjadi penurunan agregasi trombosit (Wilmana & Gan, 2007). Efek samping ini bertambah parah karena pemberian natrium diklofenak dilakukan setiap hari selama 14 hari. Dalam hal ini, perlu dilakukan pemilihan obat antiartritis reumatoid yang tepat dan aman untuk penggunaan jangka panjang, seperti ibuprofen. (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985).

Pengukuran volume udem dilakukan pada hari ke-17, 20, 23, 26, 29, dan 31. Hal ini bertujuan agar perubahan volume udem yang terjadi akibat pemberian larutan uji dapat diamati secara signifikan. Penetapan indeks artritis dilakukan pada hari ke-17 dan ke-31 untuk mengamati perubahan persentase tikus yang mengalami indeks artritis sebelum dan setelah mendapatkan perlakuan selama 14

hari. Volume udem yang dihasilkan oleh tiap kelompok perlakuan pada hari ke - 17, 20, 23, 26, 29, dan 31 dapat dilihat pada Tabel 4.2, Tabel 4.6, dan Gambar 4.3. Selain itu, untuk persentase penghambatan udemnya dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.4.

Tabel 4.2

Volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Kelompok	Rata-rata Volume Udem (ml)					
	Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Uji I	0,0121	0,0106	0,0098	0,0094	0,0090	0,0087
Uji II	0,0116	0,0101	0,0089	0,0086	0,0081	0,0076
Uji III	0,0117	0,0105	0,0089	0,0086	0,0080	0,0071
Kontrol Negatif	0,0094	0,0093	0,0094	0,0101	0,0102	0,0104

Tabel 4.3

Persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Kelompok	Persentase Penghambatan udem					
	Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Uji I	-28,72%	-13,98%	-4,26%	6,93%	11,76%	16,35%
Uji II	-23,40%	-8,60%	5,32%	14,85%	20,59%	26,92%
Uji III	-24,47%	-12,90%	5,32%	14,85%	21,57%	31,73%

Pengamatan indeks artritis dilakukan hari ke -17 dan 31. Pada hari ke-17, persentase indeks semua kelompok perlakuan adalah 100%. Hal ini menunjukkan bahwa tikus dalam setiap kelompok menderita artritis reumatoid, kecuali pada kelompok kontrol normal yaitu 0% karena tidak diinduksi CFA. Hari ke -31, kelompok yang mendapatkan suspensi larutan uji I, II, dan III tetap memiliki persentase indeks artritis sebesar 100 % (Tabel 4.7). Hal ini menunjukkan bahwa

ekstrak kulit buah delima merah dengan dosis 20, 40, dan 80 mg/200 gram berat badan tikus tidak dapat menurunkan persentase tikus yang mengalami artritis.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima merah dengan dosis 20, 40, dan 80 mg/ 200 g bb menunjukkan persentase penghambatan volume udem yang semakin meningkat hingga hari ke-31 mencapai 16,35% untuk larutan uji I, 26,92% untuk larutan uji II, dan 31,73% untuk larutan uji III, namun tidak memberikan perubahan yang signifikan terhadap volume udem selama 14 hari pemberian ekstrak. Selain itu, pada persentase indeks artritis sebelum (hari ke -17) dan sesudah (hari ke-31) pemberian ekstrak juga menunjukkan jumlah yang sama yaitu 100% sehingga tidak dilakukan analisis statistik. Hal ini dapat disebabkan kelipatan dosis yang kurang besar sehingga efek yang dihasilkan kurang optimal dan waktu pemberian ekstrak kulit buah delima yang kurang lama sehingga tidak mampu untuk mengobati inflamasi yang bersifat kronis dengan efektif. Selain itu, kadar senyawa berkhasiat ekstrak kulit buah delima yang digunakan cukup kecil, 0,25 % untuk flavonoid yang dihitung sebagai kuersetin dan 9,34 % untuk tanin total sehingga aktivitas antiartritis yang dihasilkan pun kecil.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lansky & Newman (2006) dihasilkan bahwa kandungan polifenol yaitu elagitanin dan antosianidin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah *Punica granatum* L. memiliki aktivitas penghambatan TNF- α yang menginduksi ekspresi dari siklooksigenase -2 yang menyebabkan inflamasi. Secara *in vitro*, kulit buah delima merah dapat menghambat fosfolipase A₂ pada sel kanker prostat manusia. Selain itu, ekstrak buah delima dapat menghambat pelepasan mediator inflamasi dan penyakit persendian degeneratif yaitu p38 -MAPK dan NF- κ B yang berhubungan dengan pembentukan TNF- α , IL-1 β , iNOS, dan COX-2 (Shukla, Gupta, Rasheed, Khan, & Haqqi, 2008).

Berdasarkan analisis statistik, data volume udem pada hari ke -17, 20, 23, 26, 29, dan 31 untuk uji I, II, III, dan kontrol negatif memenuhi persyaratan uji distribusi normal (Lampiran 7) dan terdistribusi homogen (Lampiran 8). Analisis ini dilakukan untuk kelayakan data pada uji parametrik, yaitu data berasal dari populasi yang terdistribusi normal dan varians data harus sama. Apabila kedua

persyaratan terpenuhi maka uji parametrik yang sesuai adalah analisis varians satu arah (Dahlan, 2009). Setelah dilakukan uji ANAVA satu arah didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara volume udem tiap kelompok perlakuan ($p > 0,05$) (Lampiran 9). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas antiartritis yang dihasilkan oleh ekstrak kulit buah delima pada tiap kelompok perlakuan.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji antiarthritis dengan metode *adjuvant induced arthritis*, diketahui bahwa pemberian suspensi ekstrak etanol 80% kulit buah *Punica granatum* L. dalam CMC 0,5% yang diberikan secara oral dengan dosis 20, 40, 80 mg/200 g ram bb tikus tidak memiliki efek anti arthritis yang bermakna ($p > 0,05$) ditinjau dari penurunan volume udem dan persentase indeks arthritis. Pada penelitian ini dihasilkan penurunan volume udem rata-rata yang meningkat dengan bertambahnya dosis.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan uji antiarthritis kulit buah delima merah dengan menggunakan ekstraksi dan isolasi senyawa berkhasiatnya yaitu polifenol. Selain itu, untuk melihat aktivitas antiarthritisnya dapat digunakan parameter-parameter yang lain yaitu hematologi dan histopatologi sendi.

DAFTAR ACUAN

- Adnan, H., & Daud, R. (1996). Arthritis reumatoid. Dalam S. Noer, *Buku ajar ilmu penyakit dalam* (3 ed., Vol. I, hal. 62-65). Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Ahmed, R., Ifzal, S., Saifyddin, A., & Nazeer, M. (1995). Studies on *Punica granatum* isolation and identification of some constituents from the seeds of *Punica granatum*. *Pak. J.Pharm, Vol.8, No.1*, 69-71.
- Asomas, M., Prasad, K., Thomas, L., & Kamath, J. (2007). Evaluation of analgesics and anti-inflammatory activity of Sudard, a poly-herbal formulation. *IJPT, Vol.6, No. 1*, 71-75.
- Bendele, A. (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact., Vol.1, No.4*, 377-385.
- Billiau, A., & Matthys, P. (2001). Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *J. Leukocyte Biol., Vol.70*, 849-860.
- Bolon, B., Morony, S., Cheng, Y., Hu, Y., & Feige, U. (2004). Osteoclast numbers in Lewis rats with adjuvant-induced arthritis: Identification of preferred sites and parameters for rapid quantitative analysis. *Vet. Pathol., Vol.41*, 30-36.
- Buah delima ampuh tangkal kanker payudara*. (2010). Juni 15, 2010. http://www.waspada.co.id/index.php?option=com_content&view=article&id=79399:buah-delima-ampuh-tangkal-kanker-payudara
- Carter, M. (2005). Arthritis reumatoid. Dalam S. Price, & L. Wilson, *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit* (6 ed., Vol. II, hal. 1385-1387). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Conforti, A., & Bellavite, P. (n.d.). *Rat model of acute inflammation a randomized controlled study on the effect homeopathic remedies*. Mei 26, 2010. Department of Medicine-Public Health University of Verona. [http://www.biomedcentral.com/1472\(-\)6882/7/1](http://www.biomedcentral.com/1472(-)6882/7/1)
- Corwin, E. (2000). *Buku saku patofisiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 307-309.

- Dahlan, M. (2009). *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: Deskriptif, bivariat, dan multivariat dilengkapi program SPSS*. Jakarta: Salemba Medika. 84-89.
- Fotio, A., Nguiefack, T., Dimo, T., Asongalem, E., & Kamtchouing, P. (2004). Acute and chronic anti-inflammatory properties of *Kalanchoe crenata* Andr. (Crassulaceae) extracts. *Pharm.Med.Trad.Afr.*, Vol.13, 57-66.
- Guidelines for the research use of adjuvant*. (2005). Januari 5, 2010. <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/freunds.pdf>.
- Gupta, M., Bhalla, T., Gupta, G., Mitra, C., & Bhargava, K. (1971). Anti inflammatory activity of Taxifolin. *Japan.J.Pharmacol.*, Vol.21, 377-382.
- Harmita & Radji, M. (2004). *Buku ajar analisis hayati*. Depok: Departemen Farmasi UI Depok. 179-184.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia III*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. 1478.
- How do albino rats differ from pigmented rats?* (2004). Juni 28, 2010. <http://www.ratbehavior.org/AlbinoPigmented.htm>
- Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.) :A Review. *Altern. Med. Rev.*, Vol.13,No.2, 128-144.
- Jusman, S. W., & Halim, A. (2009). Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara kesehatan* ,Vol.13, No.1, 34-38.
- Lansky, E., & Newman, R. (2006). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol*, 1-30.
- Lansky, E., Shubert, S., & Neeman, I. (n.d.). Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. *CIHEAM-Options Mediterraneennes* , 231-235.
- Li Wen-Guang, Zhang Xiao Yu, Wu Yong Jie, & Tian Xuan. (2001). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol. Sin.*, Vol.22,No.12, 1117-1120.
- Machadoa, T., Leal, I., Amaral, A., Santos, K., Silva, M., & Kuster, R. (2002). Antimicrobial ellagitannin of *Punica granatum* fruits. *J.Braz.Chem.Soc.*, Vol.13,No.5, 606-610.

- Mulyaningsih, S., & Darmawan, E. (2006). Efek anti artritis pisang ambon (*Musa paradisiacal sapientum L.*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap adjuvant-induced arthritic pada tikus. *Biodiversitas, Vol.7,No.3*, 273-277.
- Neal, M. (2006). *At a glance farmakologi medis* (V ed.). Jakarta: Penerbit Erlangga. 70-73.
- O'Dell, J. (2004). Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *New. Eng. J. Med.*, 2591-2602.
- Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem.*, 839-846.
- Patel, C., Dadhaniya, P., Hingorani, L., & Soni, M. (2008). Safety assessment of pomegranate fruit extract: Acute and subchronic toxicity studies. *Food Chem. Toxicol.,Vol.46*, 2728-2735.
- Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik.* (1993). Jakarta: Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam. 43-45.
- Priyanto. (2009). *Farmakoterapi dan terminologi medis*. Depok: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. 134-142.
- Reynolds, J. E. (Ed.). (1982). *Martindale, The extra pharmacopoeia*. London: The Pharmaceutical Press. 250.
- Ross, I. (1999). *Medicinal plants of the world* (Vol. I). New Jersey: Humana Press. 273-281.
- Schwinghammer, T. (2003). Bone and joint disorders. Dalam B. Wells, J. Dipiro, T. Schwinghammer, & C. Hamilton (Eds.), *Pharmacotherapy handbook* (5th ed., hal. 27-34). United State of America: The McGraw Hill Companies.
- Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K., & Haqqi, T. (2008). Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum L.*) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1 beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. *J. Inflamm, Vol.5,No.9*, 1-10.
- Smit, F. (2000). *Picrorhiza scrophulariiflora from traditional use to immunomodulatory*. Utrecht: Rijksuniversiteit Utrecht. 71-79.
- Standard of ASEAN herbal medicine* (Vol. I). (1993). Jakarta: ASEAN Countries. 399.

- Tjay, T., & Rahardja, K. (2002). *Obat-obat penting: Khasiat, penggunaan, dan efek-efek sampingnya* (5 ed.). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo. 303-318.
- Tjitrosoepomo, G. (1991). *Taksonomi tumbuhan spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 1, 90, 99, 211-212, 223.
- United States Pharmacopoeial Convention. (2007). *United State of Pharmacopeia* (30 ed.). Rockville: United States Pharmacopoeial Convention.
- Utsinger, P., Zvaifler, N., & Ehrlich, G. (1985). *Rheumatoid arthritis*. Philadelphia: J.B Lippincott Company. 71 -77, 555-568.
- Williams, R. (1979). Species variations in drug biotransformation. Dalam B. La Du, H. Mandel, & E. Way (Eds.), *Fundamentals of drug metabolism and drug disposition* (hal. 187-203). Huntington, New York: The Williams and Wilkins Company.
- Wilmana, P., & Gan, S. (2007). Analgesik -antipiretik analgesik anti -inflamasi nonsteroid dan obat gangguan sendi lainnya. Dalam S. Gan (Ed.), *Farmakologi dan terapi* (V ed., hal. 230-246). Jakarta: Gaya Baru.
- Wiryowidagdo, S. (n.d.). *Delima (Punica granatum L.) obat tradisional Indonesia yang merupakan sumber antioksidan*. Januari 7, 2010. <http://www.isfinational.or.id/pt-isfi-penerbitan/126/474-delima-punica-granatum-1-obat-tradisional-indonesia.html>.
- Woode, E., Ainooson, G.K., Gyasi, E. B., Ansah, C., Obiri, D.D., Koffour, G.A., Mensah, A., & Duwiejua, M. (2008). Anti-arthritis and antioxidant properties of the ethanolic stem bark extract of *Newbouldia laevis* (P.Beauv.) Seaman ex Bureau (Bignoniaceae). *J. Med. Plants Res.*, Vol.2, No.8, 180-188.
- Zhang Yi, Wang Jun-Zhi, Wu Yong-Jie, Li Wen-Guang. (2002). Anti-inflammatory effect of recombinant human superoxide dismutase in rats and mice and its mechanism. *Acta Pharmacol. Sin.*, Vol.23, No.5, 439,444.



[Sumber: Buah delima ampuh tangkal kanker payudara, 2010]

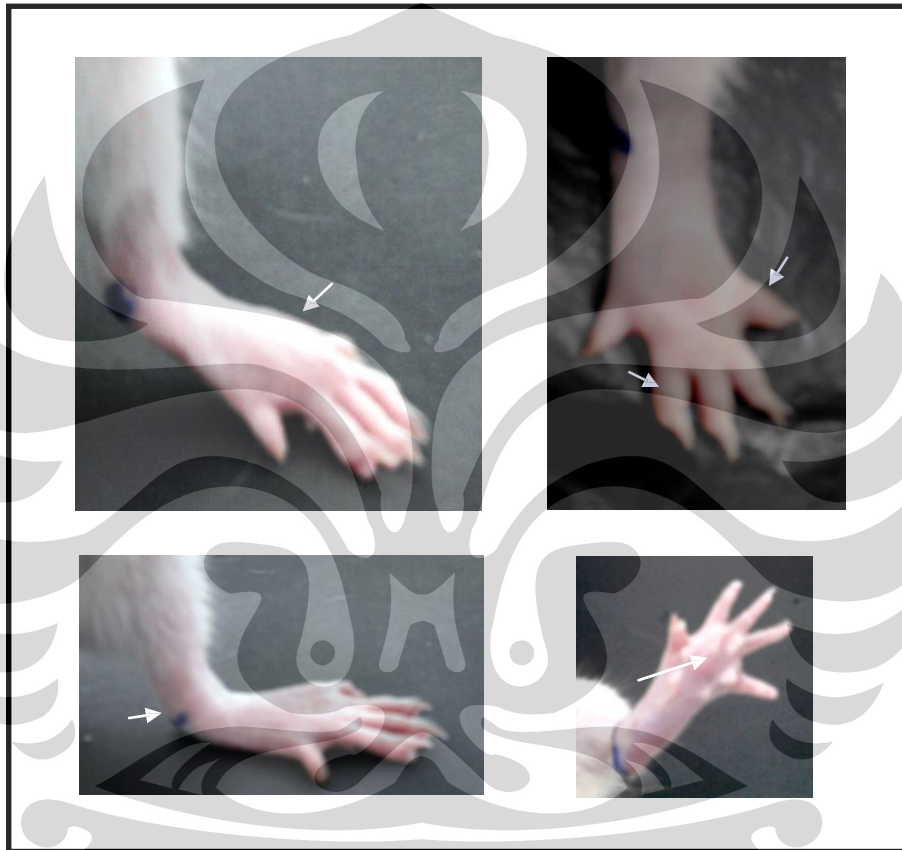
Gambar 2.1 Buah delima merah



Gambar 3.1 Pletismometer

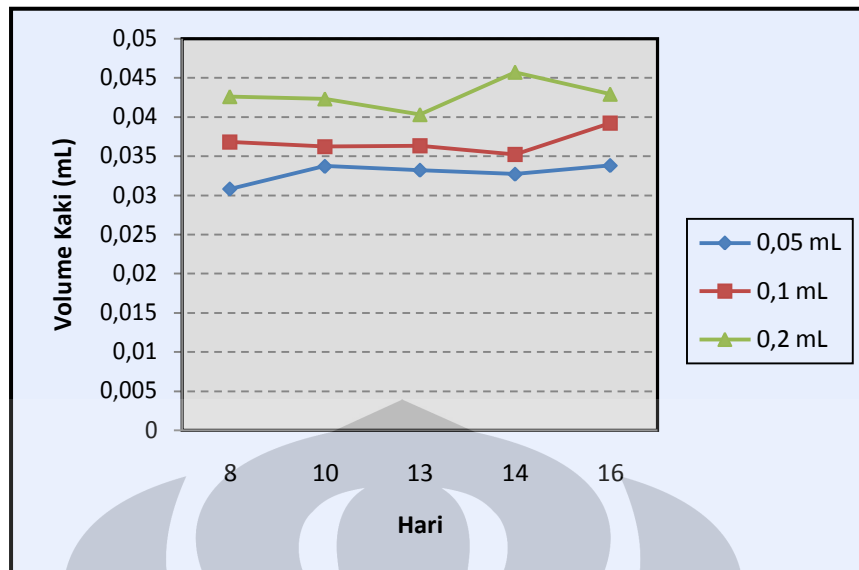


Gambar 3.2 Cara pengukuran volume udem pada kaki tikus dengan pletismometer

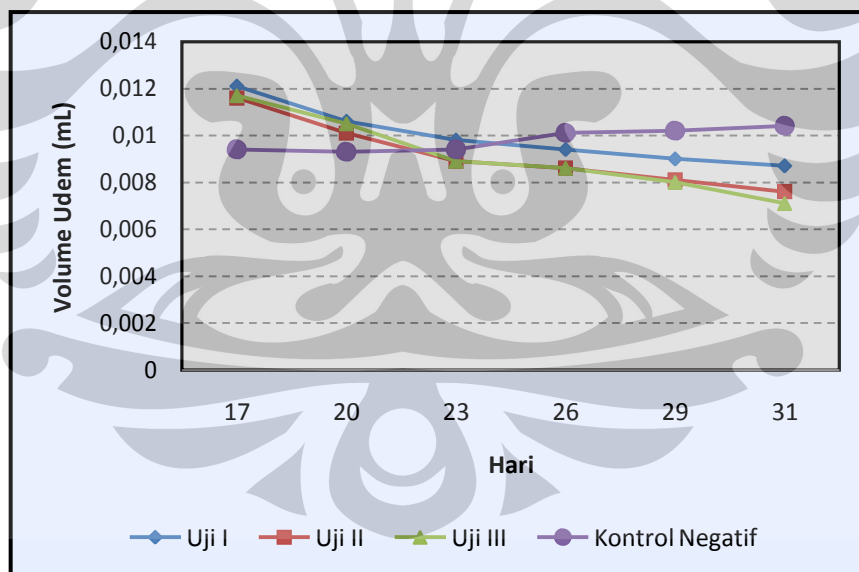


Keterangan: Tanda panah menunjukkan bengkak yang terjadi di daerah jari-jari kaki, pergelangan, dan telapak kaki.

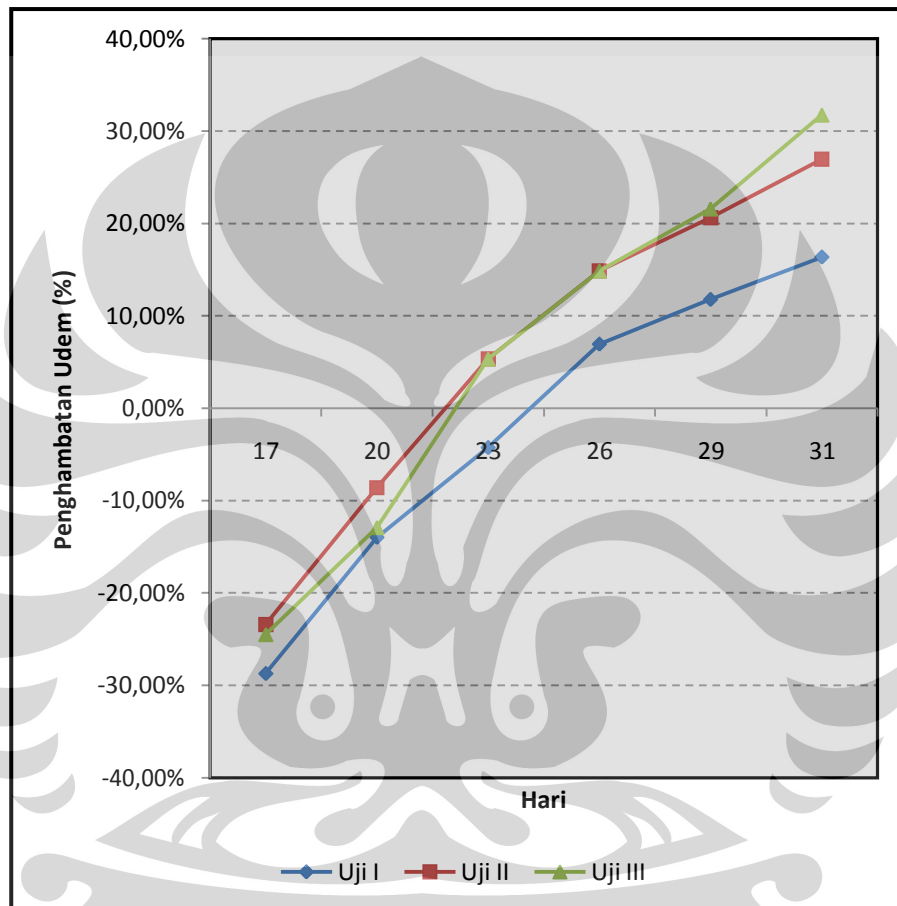
Gambar 4.1 Kaki tikus yang diinduksi *complete freund's adjuvant* (CFA)



Gambar 4.2 Grafik volume kaki pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar



Gambar 4.3 Grafik perbandingan volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus



Gambar 4.4 Grafik persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Tabel 4.4

Volume kaki pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar

Perlakuan	Ulangan (Tikus)	Volume Kaki (ml)				
		Hari-8	Hari-10	Hari-13	Hari-14	Hari-16
0,05 ml	1	0,0268	0,0312	0,0308	0,0308	0,0320
	2	0,0322	0,0350	0,0342	0,0345	0,0357
	3	0,0335	0,0350	0,0345	0,0328	0,0337
Rata-rata		0,0308	0,0337	0,0332	0,0327	0,0338
0,1 ml	1	0,0398	0,0375	0,0360	0,0367	0,0408
	2	0,0352	0,0358	0,0357	0,0342	0,0357
	3	0,0355	0,0352	0,0372	0,0347	0,0412
Rata-rata		0,0368	0,0362	0,0363	0,0352	0,0392
0,2 ml	1	0,0405	0,0390	0,0375	0,0452	0,0393
	2	0,0446	0,0455	0,0430	0,0462	0,0465
	3	-	-	-	-	-
Rata-rata		0,0426	0,0423	0,0403	0,0457	0,0429

Tabel 4.5

Volume udem pada pemberian natrium diklofenak dengan dosis 9 mg/200 gram berat badan tikus per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Perlakuan Tikus		Volume Udem (ml)					
		Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Natrium diklofenak	1	0,0140	-	-	-	-	-
	2	0,0095	0,0038	-	-	-	-
	3	0,0135	0,0073	-	-	-	-
	4	0,0110	0,0060	-	-	-	-

Keterangan: tanda (-) = tikus mengalami kematian

Tabel 4.6

Volume udem pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Kelompok	Ulangan (Tikus)	Volume Udem (ml)					
		Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Uji I	1	0,0123	0,0093	0,0093	0,0088	0,0083	0,0073
	2	0,0133	0,0117	0,0105	0,0105	0,0095	0,0095
	3	0,0128	0,0122	0,0105	0,0095	0,0095	0,0095
	4	0,0098	0,0090	0,0088	0,0087	0,0085	0,0085
Rata-rata ± SD		0,0121 ±0,002	0,0106 ±0,002	0,0098 ±0,001	0,0094 ±0,001	0,0090 ±0,001	0,0087 ±0,001
Uji II	1	0,0103	0,0080	0,0077	0,0077	0,0070	0,0058
	2	0,0153	0,0133	0,0108	0,0105	0,0098	0,0098
	3	0,0118	0,0112	0,0095	0,0087	0,0082	0,0075
	4	0,0091	0,0078	0,0076	0,0075	0,0073	0,0073
Rata-rata ± SD		0,0116 ±0,003	0,0101 ±0,003	0,0089 ±0,002	0,0086 ±0,001	0,0081 ±0,001	0,0076 ±0,002
Uji III	1	0,0130	0,0123	0,0105	0,0103	0,0090	0,0065
	2	0,0130	0,0123	0,0110	0,0107	0,0105	0,0102
	3	0,0117	0,0090	0,0075	0,0070	0,0062	0,0055
	4	0,0089	0,0082	0,0065	0,0064	0,0062	0,0060
Rata-rata ± SD		0,0117 ±0,002	0,0105 ±0,002	0,0089 ±0,002	0,0086 ±0,002	0,0080 ±0,002	0,0071 ±0,002
Kontrol Negatif	1	0,0137	0,0135	0,0132	0,0134	0,0132	0,0132
	2	0,0077	0,0077	0,0077	0,0080	0,0077	0,0077
	3	0,0070	0,0070	0,0073	0,0090	0,0100	0,0100
	4	0,0090	0,0090	0,0092	0,0098	0,0100	0,0107
Rata-rata ± SD		0,0094 ±0,003	0,0093 ±0,003	0,0094 ±0,003	0,0101 ±0,002	0,0102 ±0,002	0,0104 ±0,002

Tabel 4.7


Nilai dan persentase (%) indeks artritis pada hari ke-17 dan 31 untuk tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Ulangan (Tikus)	Indeks Artritis			
		Hari ke-17	Persentase Indeks Artritis (%)	Hari ke-31	Persentase Indeks Artritis (%)
Uji I	1	1,5		1,5	
	2	1,75	100	1,5	100
	3	1,5		1,5	
	4	1,5		1,5	
Uji II	1	1,5		1,5	
	2	1,75	100	1,5	100
	3	1,75		1,5	
	4	1,5		1,5	
Uji III	1	1,5		1,5	
	2	1,5	100	1,5	100
	3	1,5		1,5	
	4	1,5		1,5	
Kontrol Positif	1	1,5		-	
	2	1,5	100	-	-
	3	1,75		-	
	4	1,5		-	
Kontrol Negatif	1	1,5		1,5	
	2	1,5	100	1,5	100
	3	1,5		1,5	
	4	1,5		1,5	
Kontrol Normal	1	0		0	
	2	0	0	0	0
	3	0		0	
	4	0		0	

Keterangan: tanda (-) = tikus mengalami kematian

Lampiran 1

Hasil identifikasi/determinasi tumbuhan *Punica granatum L.*



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 11 Februari 2010

Nomor : 19/IPH.1.02/If.8/II/2010
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Rusmalita Pebriana Sari

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Buah Delima Merah	<i>Punica granatum L.</i>	Lythraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 195111041975011001

D:\Ident 2010\Rusmalita Pebriana Sari.doc\JJA-SP

Page 1 of 1

Lampiran 2

Laporan hasil uji fitokimia ekstrak kulit buah delima merah

LABORATORIUM
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK
 Jln. Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
 Telp (0251)8321879 Fax. (0251) 8327010 E-mail : balitro@telkom.net

DF 5.10.1.2.

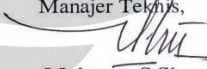
LAPORAN HASIL UJI
 No. Adm . : 43/T/LAB/I/10

Kepada Yth.
Rusmalita P. Sari
 Depok

Kondisi/Identifikasi Contoh : Ekstrak kental
 Tanggal Penerimaan : 1 Februari 2010
 Tanggal Pengujian : 2 Februari 2010

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
	Buah delima merah	Uji fitokimia : - Alkaloid - Saponin - Tanin - Fenolik - Flavonoid - Triterfenoid - Steroid - Glikosida	++++ ++++ ++++ ++ ++++ ++++ - ++++	MMI Jilid VI 1995

Keterangan :
 - : Negatif
 + : Positif lemah
 ++ : Positif
 +++ : Positif kuat
 ++++ : Positif kuat sekali

Bogor, 2 Februari 2010
 Manajer Teknis,

Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
 - Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 3

Laporan hasil uji persentase kadar flavonoid, tanin, dan air ekstrak kulit buah delima merah

**LABORATORIUM
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK**

Jln. Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
Telp (0251) 8321879 Fax. (0251) 8327010 E-mail : balitro@telkom.net

DF 5.10.1.2.

LAPORAN HASIL UJI
No. Adm. : 75/T/LAB/II/10

Kepada Yth.
Rusmalita Pebriana Sari
Depok

Kondisi/Identifikasi Contoh : Cairan
Tanggal Penerimaan : 17 Februari 2010
Tanggal Pengujian : 22 Februari 2010

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Ekstrak kulit buah delima merah	- Kadar air (%) - Kadar flavonoid sebagai Quersetin (%) - Kadar tanin (%)	18,10 0,25 9,34	

Bogor, 25 Februari 2010
Manajer Teknis,


Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
- Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 4

Sertifikat analisis natrium diklofenak dari PT. Kalbe Farma

YUNG ZIP CHEMICAL IND. CO., LTD. 59, Yu Shih Road Youth Industrial District Tachia, Taiwan, 437 R. O. C.	29 SEP 2009
TEL: 886-4-26818780, 26811344	FAX: 886-4-26812911

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Diclofenac Sodium

Lot No.: DCSC00091 ✓

Mfg. Date: Jun. 02, 2009 ✓

Analysis Following: USP 31 ; JP 15

Exp. Date: Jun. 01, 2012 ✓

ITEMS	SPECIFICATIONS	RESULTS
Description	A white to pale yellowish-white crystal or crystalline powder.	Conformed
Identification	USP 31	Conformed
Color of solution	Not more than 0.050	0.015
Clarity of Solution	USP 31	Conformed
pH	Between 7.0 and 8.5	7.2
Loss on drying	Not more than 0.5 %	0.09 %
Heavy metals	Not more than 10 ppm	Passed
Arsenic	Not more than 2 ppm	Passed
Chromatographic purity	Not more than 0.2 % Diclofenac related compound A N-(2,6-Dichlorophenyl)indolin-2-one	None
	Not more than 0.1 % Individual impurity	None
	Not more than 0.5 % Total impurity	None
Assay	99.0 % to 101.0 % (dried basis)	100.2 %

Conclusion : Passed

Lampiran 5

Sertifikat analisis *complete freund's adjuvant* (CFA) dari Sigma-Aldrich

SIGMA-ALDRICH[®] sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757

DATE: 09/09/09

-- CERTIFICATE OF ANALYSIS --


PRODUCT NAME: FREUND'S ADJUVANT COMPLETE
PRODUCT NUMBER: F5881 LOT: 029K8708 CAS NO: 9007-81-2

APPEARANCE CLEAR LIGHT YELLOW LIQUID WITH PARTICULATES

EMULSIFICATION FORMS EMULSION WITH 0.85% SODIUM CHLORIDE

NOTE EACH ML CONTAINS 1 MG MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS (H 37RA, ATCC 25177) HEAT KILLED AND DRIED, 0.85 ML MINERAL OIL AND 0.15 ML MANNIDE MONOOLEATE

QC RELEASE DATE 03 MAR 2009


QUALITY CONTROL
ST. LOUIS, MISSOURI USA
315/090909 #1/SEB0

SIGMA-ALDRICH, INC. WARRANTS THAT ITS PRODUCTS CONFORM TO THE INFORMATION CONTAINED IN THIS AND OTHER SIGMA-ALDRICH PUBLICATIONS. PURCHASER MUST DETERMINE THE SUITABILITY OF THE PRODUCT(S) FOR THEIR PARTICULAR USE. ADDITIONAL TERMS AND CONDITIONS MAY APPLY. PLEASE SEE REVERSE SIDE OF THE INVOICE OR PACKING SLIP.
SIGMA BRAND PRODUCTS ARE SOLD EXCLUSIVELY THROUGH SIGMA-ALDRICH, INC.

Accelerating Customers' Success through Leadership in Life Science, High Technology and Service

Lampiran 6

Penentuan dosis uji dan cara pembuatan larutan uji

A. Ekstrak kulit buah delima merah

Dosis lazim ekstrak kulit buah delima merah = 100 mg/kg berat badan tikus (Ross, 1999).

Konversi dosis tiap tikus dengan berat 200 g =

$$100 \text{ mg}/1000 \text{ g} \times 200 \text{ g} = 20 \text{ mg} / 200 \text{ g bb tikus}$$

Variasi dosis uji yang digunakan pada penelitian ini adalah:

Dosis I = 20 mg/200 g bb tikus

Dosis II = 40 mg/200 g bb tikus

Dosis III = 80 mg/200 g bb tikus

B. Natrium diklofenak

Dosis lazim natrium diklofenak untuk manusia = 150 mg/hari (Wilmana & Gan, 2007; Reynolds, 1982).

Faktor konversi dari manusia ke tikus = 0,018 (Harmita & Radji, 2004)

Faktor farmakokinetik yang digunakan = 10 (Williams, 1979)

Konversi dosis manusia ke tikus = dosis manusia x faktor konversi untuk tikus
berat badan 200 g x faktor farmakokinetik = 150 mg x 0,018 x 10 = **27 mg/200 g bb.**

C. Pembuatan larutan uji

Tikus dengan berat badan 200 gram diberikan suspensi bahan uji untuk tiap perlakuan sebanyak 3 ml. Suspensi bahan uji dibuat dengan menimbang ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah sesuai dosis yang digunakan kemudian disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%.

Dosis I : 20 mg/200 g bb tikus per hari dalam 3 ml = 6,67 mg/ml = 0,67%

Dosis II : 40 mg/200 g bb tikus per hari dalam 3 ml = 13,33 mg/ml = 1,33%

Dosis III : 80 mg/200 g bb tikus per hari dalam 3 ml = 26,67 mg/ml = 2,67%

Jumlah suspensi larutan uji yang diperlukan oleh setiap kelompok perlakuan tiap harinya sekitar 12 ml (yaitu 4 x 3 ml). Dosis I dan II diperoleh dari pengenceran dosis III, sehingga jumlah suspensi larutan uji dosis III yang dibutuhkan untuk masing-masing dosis adalah:

$$\text{Dosis I} \quad : \frac{1}{4} \times 12 \text{ ml dosis III} \quad = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis II} \quad : \frac{1}{2} \times 12 \text{ ml dosis III} \quad = 6 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis III} \quad : 1 \times 12 \text{ ml} \quad = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis III yang dibuat per hari} \quad = 21 \text{ ml} + 9 \text{ ml} = 30 \text{ ml}$$

Total suspensi larutan uji dosis III yang dibuat setiap harinya adalah 30 ml, sehingga banyaknya ekstrak kulit buah delima yang harus ditimbang adalah $26,67 \text{ mg/ml} \times 30 \text{ ml} = 800,1 \text{ mg}$. Pada pembuatan larutan uji dosis I dan II sejumlah suspensi uji dosis III yang diambil dicukupkan volumenya dengan larutan CMC 0,5% hingga masing-masing 12 ml.

Kelompok kontrol negatif dan normal diberi larutan CMC 0,5% 3 ml untuk tiap tikus dengan berat badan 200 gram. Volume larutan CMC 0,5% yang dibutuhkan adalah:

$$\text{Kontrol negatif} \quad : 4 \times 3 \text{ ml} \quad = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Kontrol normal} \quad : 4 \times 3 \text{ ml} \quad = 12 \text{ ml}$$

$$\text{Kontrol positif} \quad : 12 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis III} \quad : 30 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran dosis I} \quad : 12-3 \text{ ml} \quad = 9 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran dosis II} \quad : 12-6 \text{ ml} \quad = 6 \text{ ml}$$

$$\text{Larutan CMC 0,5\% yang dibuat perhari} = 81 \text{ ml} + 9 \text{ ml} = 90 \text{ ml}$$

Larutan CMC 0,5% dibuat dengan cara menimbang 0,45 g CMC, kemudian ditaburkan pada air hangat sebanyak lebih kurang 10 ml (suhu lebih kurang 60°C) dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya, CMC yang telah mengembang diaduk perlahan-lahan sampai larut dan cukupkan volumenya hingga 90,0 ml.

Lampiran 7

Uji distribusi normal menurut *Shapiro-Wilk* terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA
2. Hipotesis :
 Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
hari - 17	1,0000	,314	4	,854	4	,240	
	2,0000	,224	4	,939	4	,648	
	3,0000	,260	4	,821	4	,146	
	4,0000	,296	4	,852	4	,232	
hari - 20	1,0000	,278	4	,843	4	,204	
	2,0000	,283	4	,879	4	,336	
	3,0000	,304	4	,809	4	,119	
	4,0000	,291	4	,857	4	,251	
hari - 23	1,0000	,300	4	,840	4	,196	
	2,0000	,282	4	,879	4	,336	
	3,0000	,269	4	,878	4	,332	
	4,0000	,272	4	,851	4	,230	
hari - 26	1,0000	,256	4	,886	4	,365	
	2,0000	,244	4	,880	4	,340	
	3,0000	,279	4	,835	4	,182	
	4,0000	,292	4	,891	4	,387	
hari - 29	1,0000	,305	4	,799	4	,100	
	2,0000	,231	4	,906	4	,462	
	3,0000	,297	4	,853	4	,234	
	4,0000	,290	4	,932	4	,607	
hari - 31	1,0000	,278	4	,859	4	,256	
	2,0000	,274	4	,946	4	,694	
	3,0000	,351	4	,800	4	,101	
	4,0000	,197	4	,987	4	,942	

^a. Lilliefors Significance Correction

5. Kesimpulan :
 Ho diterima artinya data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal.

Lampiran 8

Uji homogenitas varians menurut Levene terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kehomogenan data sebagai syarat uji ANOVA

2. Hipotesis :

Ho = data volume udem tiap perlakuan homogen

Ha = data volume udem tiap perlakuan tidak homogen

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
hari - 17	,534	3	12	,668
hari - 20	,551	3	12	,657
hari - 23	1,819	3	12	,197
hari - 26	2,154	3	12	,147
hari - 29	1,628	3	12	,235
hari - 31	,493	3	12	,694

5. Kesimpulan :

Ho diterima artinya data volume udem tiap perlakuan homogen.

Lampiran 9

Uji analisis varians satu arah terhadap volume udem hari ke-17 sampai 31 pada tiap kelompok perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem tiap perlakuan
2. Hipotesis :
 Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem tiap kelompok perlakuan
 Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem tiap kelompok perlakuan
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hari - 17	Between Groups	,000	3	,000	1,074	,397
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			
hari - 20	Between Groups	,000	3	,000	,225	,877
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			
hari - 23	Between Groups	,000	3	,000	,191	,901
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			
hari - 26	Between Groups	,000	3	,000	,601	,626
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			
hari - 29	Between Groups	,000	3	,000	1,489	,267
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			
hari - 31	Between Groups	,000	3	,000	2,582	,102
	Within Groups	,000	12	,000		
	Total	,000	15			

5. Kesimpulan :
 Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara volume udem tiap kelompok perlakuan.

Lampiran 10

Skema kerja pelaksanaan uji antiarthritis

