

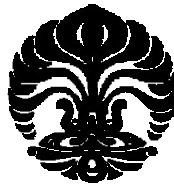
UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL 80%
KULIT BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum*, L)
TERHADAP UDEM PADA TELAPAK KAKI TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI OLEH KARAGINAN**

SKRIPSI

**SANDY CAHYADI
0606070951**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL 80%
KULIT BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum*, L)
TERHADAP UDEM PADA TELAPAK KAKI TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI OLEH KARAGINAN**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**SANDY CAHYADI
0606070951**

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Sandy Cahyadi

NPM : 0606070951

Tanda Tangan :

Tanggal : Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
 Nama : Sandy Cahyadi
 NPM : 0606070951
 Program Studi : Farmasi
 Judul Skripsi : Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum*, L) Terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh Karaginan

Telah berhasil dipertahankan dihadapan dewan penguji dan diterima sebagai 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. Retnosari Andrajati, MS, Apt ()
 Penguji II : Drs. Umar Mansyur, M.Sc ()
 Penguji III : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc. ()

Ditetapkan di : Depok
 Tanggal : Juli 2010

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena kasih dan anugerahNya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun 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 kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Ibu Dra. Juheini Amin, M. Si dan Ibu Santi Purna Sari, S. Si., M. Si selaku pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasehat, dan saran dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, M.S selaku Kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan nasehat dan ijin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium yang dipimpinnya.
4. Bapak Hayun, M. Si selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan ijin untuk dapat melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Berna Elya, M.S selaku Koordinator Pendidikan Departemen Farmasi FMIPA UI atas diperkenankannya penulis melakukan penelitian ini.
6. Seluruh staff pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan di Departemen FMIPA UI.
7. P. T Kalbe Farma atas pemberian natrium diklofenak untuk penelitian ini.

8. Mama, Papa, koko Dheni, Lena dan seluruh keluarga yang telah memberikan motivasi, nasehat dan saran serta dukungan doa.
9. Teman – teman angkatan 2006 yang mendukung dan menemani selama ini dalam perkuliahan di Departemen Farmasi.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.



HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Sandy Cahyadi
NPM : 0606070951
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 Eek Antiinflamasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum*, L) Terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh Karaginan

beserta 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 : Juli 2010
Yang menyatakan

(Sandy Cahyadi)

ABSTRAK

Nama : Sandy Cahyadi
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima Merah (*Punica granatum*, L.) terhadap Udem pada telapak Kaki Tikus Putih Jantan yang Diinduksi oleh Karaginan

Inflamasi umumnya diterapi dengan obat–obat konvensional yang memiliki efek samping serius, seperti gangguan saluran cerna, sehingga perlu dicari terapi lain yang memiliki efek samping yang lebih ringan, salah satunya dengan menggunakan kulit buah *Punica granatum* L. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan dosis optimal yang dapat memberikan efek penghambatan udem terbesar pada telapak kaki tikus putih yang diinduksi oleh karaginan. Pada penelitian ini digunakan metode Winter yang telah dimodifikasi pada 25 ekor tikus putih jantan, yang dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok pertama diberikan CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, kelompok II, III, dan IV diberikan variasi dosis ekstrak, yaitu 20, 40, dan 80 mg/200 g bb, serta kelompok V yang diberikan natrium diklofenak sebagai kontrol positif secara per oral. Berdasarkan uji tersebut terlihat bahwa ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah memiliki persentase penghambatan tertinggi pada dosis 80 mg/200 g bb sebesar 29,58%. Data statistik ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara dosis 80 mg/200 g bb dengan kontrol negatif pada jam kedua hingga keempat.

Kata Kunci : antiinflamasi, karaginan, kulit buah delima merah, metode Winter natrium diklofenak.

xiii + 67; 5 gambar; 9 tabel; 13 lampiran
daftar Pustaka : 40 (1962 - 2010)

ABSTRACT

Name : Sandy Cahyadi
Program Study : Pharmacy
Title : Study on Anti inflammatory Effect of 80% Ethanolic Extract of Pomegranate (*Punica granatum*, L) Fruit Peel in Hind Paw Edema of Male Rats Induced by Carrageenan

Inflammation is usually cure by conventional medicine that has seriously side effect in gastrointestinal tract. So, we need to find another therapy that has lower side effect than them, which is Pomegranate fruit peel. The aim of this study was to determine the optimal dose that had greatest inhibition edema effect in plantar of male rats induced by carrageenan. This study used Winter method that had modified at 25 male rats which had been divided into five groupes. First groupe had been given with CMC 0.5% as negative control, groupe II, III, and IV had been given with variation dose, 20, 40, and 80 mg/200 BW. Groupe V had been given diclofenac sodium as positive control, and each of them had been given orally. The result showed that 80% ethanolic extract of pomegranate peel at dose 80 mg/200 g BW has greatest inhibition percentage at second hour after induced by carrageenan, about 29.58 %. Statitical value ($p < 0.05$) showed significant differences between dose at 80 mg/200 g BW with negative control at second until fourth hour after injection carrageenan.

Keyword : anti inflammatory, carrageenan, diclofenac sodium, pomegranate peel extract, Winter method
xiii + 67; 5 pictures ; 9 tables; 13 appendix
Bibliography : 40 (1962 - 2010)

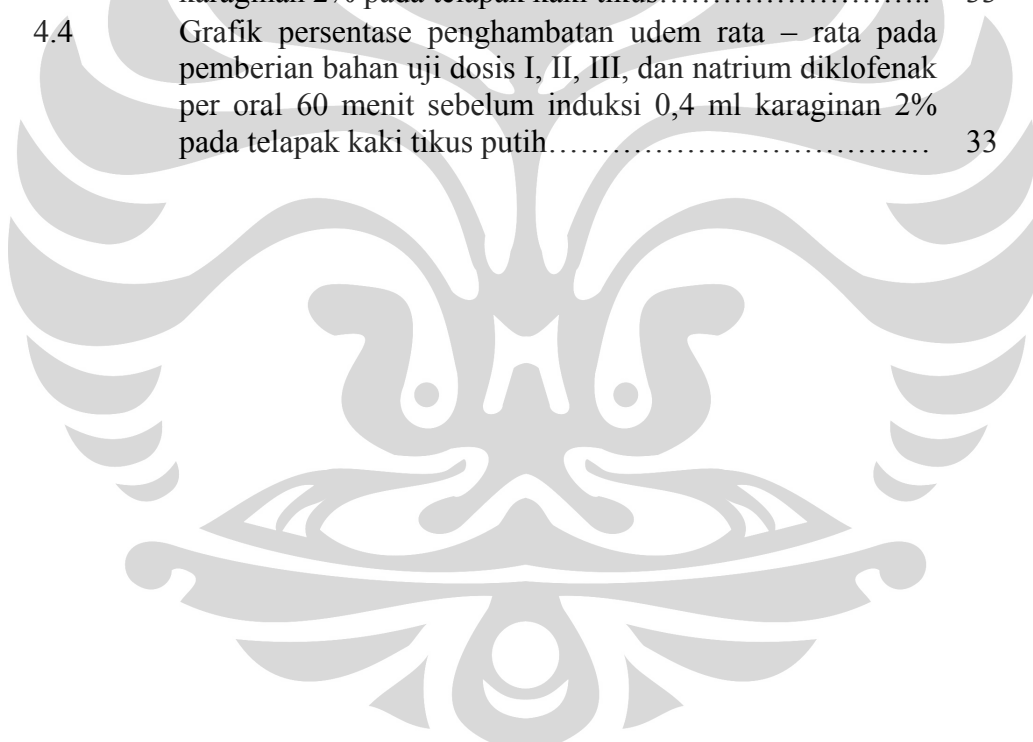
DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB.1. PENDAHULUAN	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Hipotesis	2
BAB. 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Delima Merah (<i>Punica granatum</i> , L.)	3
2.2. Inflamasi	4
2.3. Pengobatan Inflamasi.....	6
2.4. Pengujian Efek Antiinflamasi	9
2.5. Karaginan.....	11
BAB. 3. METODE PENELITIAN.....	13
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.2. Alat.....	13
3.3. Bahan	13
3.4. Cara Kerja	14
BAB. 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4. 1. Uji Pendahuluan.....	19
4. 2. Uji Sebenarnya.....	21
BAB. 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1. Kesimpulan	25
5.2. Saran	25
DAFTAR ACUAN	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
3.1	Cara pengukuran volume udem pada kaki tikus dengan Pletismometer.....	31
4.1	Grafik volume udem rata – rata pada telapak kaki tikus setelah injeksi 0,2; 0,3; dan 0,4 ml karaginan 2%.....	32
4.2	Grafik volume udem rata – rata pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	32
4.3	Grafik persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I peroral 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	33
4.4	Grafik persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian bahan uji dosis I, II, III, dan natrium diklofenak per oral 60 menit sebelum induksi 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus putih.....	33



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
3.1	Kelompok perlakuan uji antiinflamasi metode induksi karagenin.....	15
4.1	Volume udem rerata pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,2; 0,3; 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar.....	19
4.2	Volume udem rerata pada pemberian dosis I, II, III, kontrol positif dan kontrol negatif per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	21
4.3	Volume udem pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,2; 0,3; 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar.....	35
4.4	Volume udem pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah dan 30 serta 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	36
4.5	Rata – rata volume udem pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah dan 30 serta 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	37
4.6	Persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I per oral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah diinduksi oleh 0,4 ml karaginan 2%.....	37
4.7	Volume udem pada pemberian dosis I, II, III, kontrol positif dan kontrol perlakuan per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	38
4.8	Persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I, II, III, dan kontrol positif per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Sertifikat Analisis Natrium Diklofenak dari PT. Kalbe Farma.....	41
2	Sertifikat Determinasi Serbuk Kulit Buah Delima Merah dari LIPI Cibinong.....	42
3	Sertifikat Analisa Kandungan Ekstrak Kulit Buah Delima Merah dari Balitro.....	43
4	Penentuan Dosis uji dan Jumlah Penggunaan Hewan Coba.....	44
5	Pembuatan Larutan Uji dan CMC 0,5%.....	45
6	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 0.....	46
7	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 1.....	49
8	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 2.....	52
9	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 3.....	55
10	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 4.....	58
11	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 5.....	61
12	Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke – 6.....	64
13	Skema Kerja Pelaksanaan Uji Antiinflamasi.....	67

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Inflamasi merupakan gejala penyakit yang prevalensinya cukup tinggi dan sangat mengganggu apabila tidak diobati, sehingga perlu ditangani dengan pengobatan yang tepat (Anderson and Kissane, 1977). Pengobatan inflamasi dengan menggunakan senyawa kimia sintetik, seperti kortikosteroid dan Anti Inflamasi Non-Steroid (AINS) memiliki reaksi obat yang tidak diinginkan (ROTD) cukup serius, diantaranya adalah gangguan pencernaan (Wilmana, 2007). Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian untuk mencari terapi alternatif yang memiliki ROTD ringan.

Akhir-akhir ini dunia Barat mengalihkan perhatiannya ke alam, yang terkenal dengan semboyan “*back to nature*”, mengikuti jejak dunia Timur, khususnya Asia yang sampai saat ini pun masih tetap memanfaatkan obat – obat alam dalam upaya pelayanan kesehatan di samping obat–obat farmasetik (Sriwidodo, 1996). Indonesia merupakan satu diantara negara–negara yang memiliki banyak tanaman obat yang secara turun temurun telah digunakan sebagai media penyembuhan penyakit atau memelihara kesehatan. Sejumlah 1200 dari 30.000 jenis tanaman obat Indonesia, telah dimanfaatkan dan diteliti sebagai obat tradisional (Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan, 2007).

Satu diantara tanaman obat di Indonesia yang telah digunakan secara tradisional sebagai penyembuh luka adalah delima merah (*Punica granatum*, Linn) (Wiryowidagdo, 2006). Melalui penelitian terdahulu dijelaskan bahwa tanaman ini memiliki efek antiinflamasi secara *ex vivo*, *in vitro*, dan *in vivo*, namun kurang kuat (Shukla et al., 2008; Ross, 1999). Penelitian lain menunjukkan aktivitas antimikroba dari ekstrak metanol 80% secara *in vitro* pada *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Yersinia enterocolitica* dalam medium agar dan *in situ* pada makanan (Al – Zoreky, 2009). Selain itu, ekstrak metanol buah delima yang belum masak memiliki efek

antiplasmodial secara *in vitro* (Mario et al., 2009). Penelitian lain juga menyatakan bahwa jus buah dan minyak dari bijinya memiliki efek antitumor dan antikanker secara *ex vivo* pada kultur organ *mammae* tikus (Lansky and Newman, 2007), dan terkenal memiliki efek antioksidan yang kuat (Ricci, et al., 2006; Schubert, Lansky, and Neeman, 1998).

Pada penelitian terdahulu telah diketahui bahwa *Punica granatum*, L., memiliki efek antiinflamasi yang terjadi karena kandungan penting dalam buah (jus) yaitu elagitanin dan flavonoid. Golongan senyawa–senyawa ini bekerja menghambat siklooksigenase pada metabolisme asam arakidonat yang berperan dalam pembentukan mediator–mediator inflamasi (Lansky et al., 2005). Pada penelitian lain dikatakan bahwa ekstrak etanol 80% kulit buah delima memiliki efek antiinflamasi, namun kurang kuat pada dosis 20 mg/200g bb tikus (Ross, 1999). Dengan demikian, penelitian mengenai khasiat atau efek antiinflamasi kulit buah delima merah tersebut perlu dilakukan dengan variasi dosis hingga didapat dosis optimum.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi dari ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah dengan variasi dosis, yaitu 20, 40, dan 80 mg/200g bb yang diberikan secara peroral, ditinjau dari penurunan volume udem pada telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi oleh karaginan.

1.3. Hipotesis

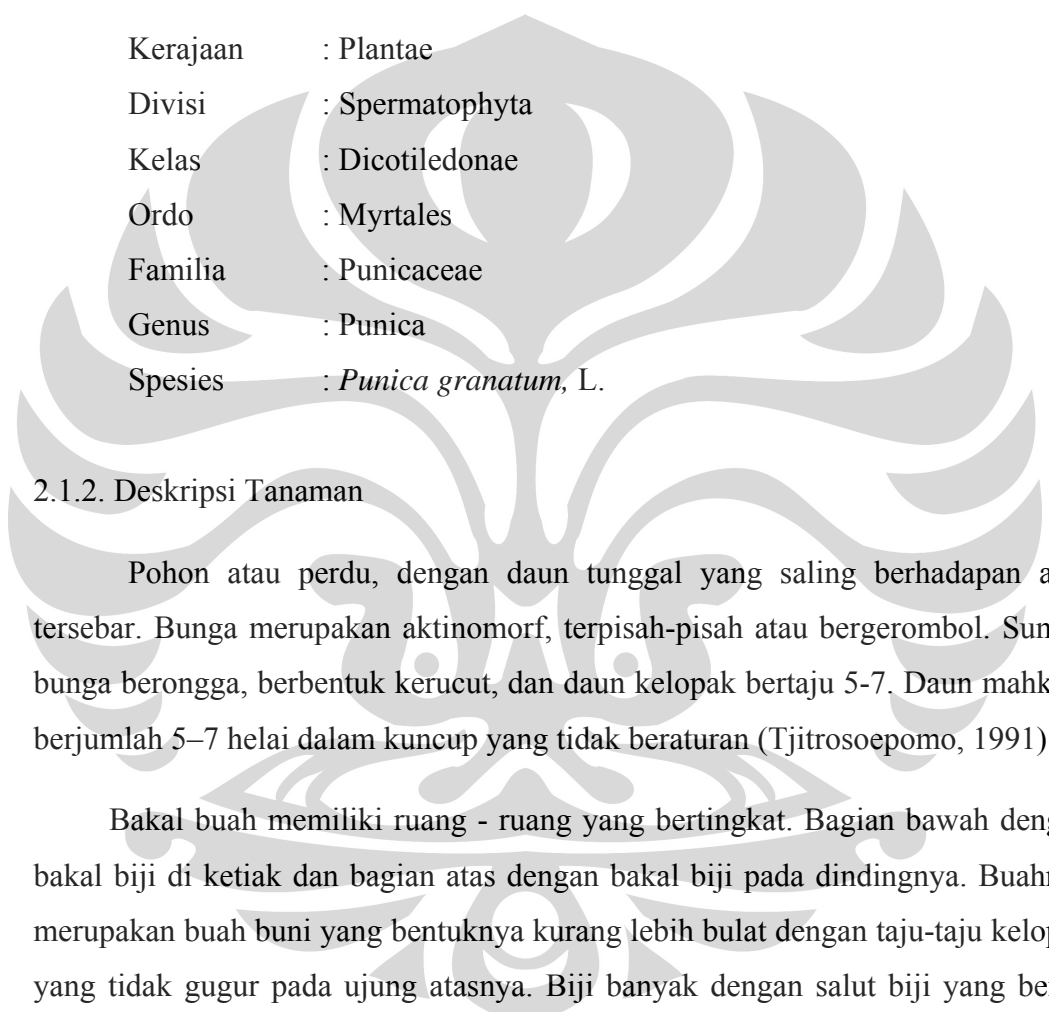
Ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah yang diberikan secara peroral memiliki efek antiinflamasi ditinjau dari penurunan udem pada telapak kaki tikus putih yang diinduksi oleh karaginan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Delima Merah (*Punica granatum*, L.) (Tjitrosoepomo, 1991)

2.1.1. Taksonomi



Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Punicaceae
Genus	: Punica
Spesies	: <i>Punica granatum</i> , L.

2.1.2. Deskripsi Tanaman

Pohon atau perdu, dengan daun tunggal yang saling berhadapan atau tersebar. Bunga merupakan aktinomorf, terpisah-pisah atau bergerombol. Sumbu bunga berongga, berbentuk kerucut, dan daun kelopak bertaju 5-7. Daun mahkota berjumlah 5-7 helai dalam kuncup yang tidak beraturan (Tjitrosoepomo, 1991).

Bakal buah memiliki ruang - ruang yang bertingkat. Bagian bawah dengan bakal biji di ketiak dan bagian atas dengan bakal biji pada dindingnya. Buahnya merupakan buah buni yang bentuknya kurang lebih bulat dengan taju-taju kelopak yang tidak gugur pada ujung atasnya. Biji banyak dengan salut biji yang berair dan dapat dimakan. Endosperma tidak memiliki lembaga dengan daun lembaga yang tergulung (Tjitrosoepomo, 1991).

Tanaman buah delima merupakan tanaman asli dari Asia Barat yang dapat ditemukan di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini juga digunakan untuk tujuan pengobatan di negara Spanyol, Maroko, Mesir, Afghanistan, dan Iran (Ross, 1999).

2.1.3. Kandungan Kimia

Kulit buah delima mengandung gula-gula sederhana (glukosa, fruktosa, sukrosa), asam-asam organik alifatik, asam askorbat, asam galat, asam-asam lemak bebas, antosianin, antosianidin, katekin, epikatekin, epigalokatekin 3-galat, quersetin, rutin, flavon, flavonon, ellagitanin (*punicalin*, *punicalagin*, *granatin*) mineral-mineral terutama Fe, dan asam-asam amino (Jurenka, 2008; Lansky and Newman, 2006).

2.1.4. Kegunaan

Punica granatum L. atau buah delima banyak digunakan masyarakat untuk pengobatan kanker, antitumor, menurunkan kadar kolesterol total, obat pelangsing, antiseptik, antimikroba, penyembuh luka, menurunkan tekanan darah tinggi, obat diare, disentri, obat cacing dan suplemen makanan (Jurenka, 2008; Wiryowidagdo, 2010; Ahmed et al., 1995).

2.1.5. Mekanisme Kerja Elagitannin dan Flavonoid

Pada penelitian terdahulu telah diketahui bahwa elagitanin bekerja menurunkan sinyal yang berkaitan dalam pembentukan inflamasi pada kanker kolon (Adam et al., 2006). Flavonoid, bekerja menurunkan ekspresi TNF – α dan IL – β (Kowalski et al., 2005), kaemferol dan kuersetin bekerja sinergis menghambat proliferasi kanker payudara (Ackland et al., 2005). Selain itu, kaemferol dapat menurunkan aktivitas kinase dalam adhesi lokal dan menurunkan aktivitas asam lemak sintase pada sel tumor manusia (Brusselman et al., 2005; Huang et al., 2005).

2.2. Inflamasi

Reaksi pertahanan terhadap organisme dan jaringan yang mengalami jejas (*injury cell*) disebut dengan inflamasi. Tujuannya adalah untuk memperbaiki atau membatasi kerusakan. Penyebab inflamasi dapat berupa mikroorganisme, seperti bakteri, virus, jamur, atau parasit. Selain itu, benda asing (protein asing), misalnya serbuk sari, asbestos atau kristal silikon; serta destruksi jaringan yang disertai dengan pembentukan debris jaringan, contohnya melalui kerusakan mekanik

seperti terpotong, atau tertusuk; bahan kimia, seperti asam atau basa; pengaruh fisika seperti, dingin, panas, radiasi (UV, sinar X, dan radioaktif); dan penyebab endogen seperti disintegrasi sel tumor, darah ekstrasvaskular, reaksi autoimun, atau senyawa yang mengkristal dan mengendap di dalam tubuh (asam urat, kalsium oksalat, kalsium fosfat, dan kolesterol) dapat menyebabkan terjadinya inflamasi (Silbenrnagl and Lang, 2000). Inflamasi akut merupakan reaksi lokal yang berkaitan dengan berbagai gejala yang dikenal dengan *antiquity*, yaitu sakit (*dolor*), pembengkakan (*tumor*), kemerahan (*rubor*), dan panas (*calor*), serta kehilangan fungsi (*functio laesa*) (Silbenrnagl and Lang, 2000; Wilmana, 2007).

Inflamasi dapat terjadi pada saat antibodi berikatan dengan antigen. Proses berikatannya antibodi dengan antigen dapat menyebabkan terjadinya pelepasan *second messenger* (cGMP, inositol fosfat, dan Ca^{2+}) di dalam sel mast yang selanjutnya dapat menjadi *trigger* terjadinya degranulasi sel mast tersebut. Proses degranulasi sel mast ini dapat menyebabkan terjadinya pelepasan mediator inflamasi dan kemokin yang tersimpan di dalam granul-granul sel mast secara eksositosis (Silbenrnagl and Lang, 2000).

Mediator inflamasi dan kemokin yang terdapat di dalam granul sel mast di antaranya adalah histamin, interleukin 8 (IL – 8), eotaksin, *neutrophilic chemotactic factor* (NCF). *Second messenger* seperti Ca^{2+} , dapat mengaktivasi fosfolipase A_2 yang berperan dalam pelepasan asam arakidonat dari fosfolipid pada membran sel. Asam arakidonat merupakan substansi awal untuk mediator inflamasi penting lainnya, seperti prostaglandin dan leukotrien. Leukotrien C4, D4, dan E4 bersama-sama disebut sebagai *slow reacting substance of anaphylaxis* (SRS–A), seperti halnya B4. Selain itu, melalui asam arakidonat dapat juga terbentuk PAF (*platelet activating factor*), yaitu mediator inflamasi dan hemostatik lainnya yang berasal dari membran sel mast (Silbenrnagl and Lang, 2000).

Secara *in vitro*, terbukti bahwa prostaglandin E_2 (PGE_2) dan prostasiklin (PGI_2) dalam jumlah nanogram, dapat menimbulkan eritema, vasodilatasi, dan peningkatan aliran darah lokal. Histamin, PAF, dan leukotrien C4, D4, serta E4 bersama – sama dengan mediator inflamasi lainnya seperti prostaglandin E_2 dan

bradikinin menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas endothelium paraselular, dan stimulasi nosiseptor (Silbenrnagl and Lang, 2000; Wilmana, 2007).

Vasodilatasi merupakan penyebab terjadinya kemerahan dan peningkatan suhu pada daerah inflamasi. Selain itu, vasodilatasi dapat menyebabkan penurunan kecepatan aliran darah. Kemudian, terjadi proses peningkatan permeabilitas endotelium paraselular yang dapat membantu pergerakan leukosit melewati endothelium menuju ruang ekstrasvaskular (diapedesis). Selanjutnya, cairan kaya protein (eksudat inflamasi) mencapai ruang interstisial yang menyebabkan edema. Pada kasus yang lebih berat, eritrosit dapat meninggalkan pembuluh darah (inflamasi hemorhagik). Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa prostaglandin menyebabkan sensitisasi reseptor nyeri terhadap stimulasi mekanik dan kimiawi. Prostaglandin hanya berperan pada nyeri yang berkaitan dengan kerusakan jaringan atau inflamasi. Jadi, prostaglandin menimbulkan keadaan hiperalgesia, kemudian mediator seperti bradikinin dan histamin merangsangnya dan menimbulkan rasa nyeri (Wilmana, 2007).

2.3. Pengobatan Inflamasi

Secara umum pengobatan inflamasi dibagi menjadi dua golongan besar, yaitu:

2.3.1. Anti Inflamasi Non–Steroid (AINS)

2.3.1.1. Deskripsi

AINS merupakan obat yang secara luas telah digunakan sebagai terapi penyakit yang berkaitan dengan proses inflamasi. Selain memiliki efek antiinflamasi, sebagian besar AINS juga memiliki efek antipiretik dan analgesik (Randall and Neil, 2009).

AINS merupakan suatu kelompok obat yang heterogen, bahkan beberapa obat sangat berbeda secara kimia. Walaupun demikian obat–obat ini ternyata memiliki banyak persamaan dalam efek terapi maupun efek samping. Penelitian terdahulu memberi penjelasan mengapa kelompok heterogen tersebut memiliki

kesamaan efek terapi dan efek samping. Ternyata sebagian besar efek terapi dan efek sampingnya didasarkan pada mekanisme kerjanya, yaitu penghambatan biosintesis prostaglandin (Wilmana, 2007).

2.3.1.2. Mekanisme Kerja

Golongan obat ini menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin terganggu. Setiap obat menghambat enzim siklooksigenase dengan cara yang berbeda khususnya parasetamol, hambatan biosintesis prostaglandin hanya terjadi bila lingkungannya rendah kadar peroksida seperti di hipotalamus (Wilmana, 2007).

Sampai saat ini, terdapat dua isoform *cyclooxygenase* (COX) yang sudah diakui oleh para ilmuwan yaitu COX-1 dan COX-2, sedangkan isoform COX-3 masih dalam penelitian lebih. COX-1 bermanfaat untuk mempertahankan integritas mukosa lambung dan duodenum, aliran darah ginjal, dan aktivitas koagulasi. Jika aktivitas COX-1 dihambat oleh obat AINS, maka timbul risiko efek samping yaitu perdarahan lambung dan duodenum, insufisiensi ginjal, dan perdarahan pada tempat lain. Ekspresi COX-2 meningkat seiring dengan beratnya proses inflamasi. Jika aktivitas COX-2 dihambat dengan obat AINS, maka proses inflamasi akan berkurang (Simon, 2001; Seibert, et al., 1994).

Sebagian besar obat AINS dimanfaatkan sebagai antiinflamasi pada pengobatan kelainan muskuloskeletal, seperti arthritis rheumatoid, osteoarthritis, dan spondilitis ankilosa. Sebenarnya, obat AINS hanya digunakan untuk meringankan gejala nyeri dan inflamasi yang berkaitan dengan penyakit secara simptomatik (Wilmana, 2007).

2.3.2. Kortikosteroid

2.3.2.1. Deskripsi

Kortikosteroid mempunyai berbagai macam aktivitas biologis karena kortikosteroid mempengaruhi metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak, serta mempengaruhi fungsi organ di dalam tubuh. Pada umumnya, potensi sediaan

alamiah maupun yang sintetik ditentukan oleh besarnya efek retensi natrium dan penyimpanan glikogen di hati atau besarnya khasiat antiinflamasi (Wilmana, 2007).

Dalam klinik umumnya kortikosteroid dibedakan menjadi dua golongan besar yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Efek utama glukokortikoid ialah penyimpanan glikogen hepar dan memiliki efek antiinflamasi, sedangkan efek keseimbangan air dan elektrolit kecil. Senyawa awal untuk golongan ini adalah kortisol. Golongan mineralokortikoid efek utamanya terhadap keseimbangan air dan elektrolit, sedangkan pengaruhnya pada penyimpanan glikogen hepar sangat kecil. Senyawa awal golongan ini adalah desoksikortikosteron (Wilmana, 2007).

2.3.2.2. Mekanisme Kerja

Kortikosteroid menghambat jalur sintesis eikosanoid, yang mungkin disebabkan oleh stimulasi sintesis beberapa protein penghambat yang disebut aneksin atau lipokortin. Keduanya menghambat aktivitas fosfolipase A₂, karena gangguan pengikatan fosfolipid sehingga mencegah terjadinya pelepasan asam arakidonat (Katzung, 2000).

2.3.3. Natrium diklofenak

Pemerannya berupa serbuk kristal, higroskopis, berwarna putih hingga kekuningan, mudah larut dalam metanol, larut dalam etanol, agak larut dalam air, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter (United State of Pharmacopoeia 30, 2007). Natrium diklofenak merupakan obat AINS turunan fenilasetat yang memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik, serta memiliki daya antiinflamasi yang kuat dan efek samping yang lebih rendah jika dibandingkan dengan indometasin, piroksikam, dan naproksen. Obat ini juga dapat digunakan untuk mengatasi radang karena artritis (Wilmana, 2007).

Diklofenak diabsorpsi cepat dan sempurna setelah pemberian peroral. Konsentrasi plasma tercapai dalam 2 sampai 3 jam. Pemberian bersama makanan akan memperlambat laju absorpsi tetapi tidak mengubah jumlah yang diabsorpsi.

Bioavailabilitasnya sekitar 50% akibat metabolisme lintas pertama yang cukup besar. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan waktu paruhnya berada pada rentang 1–3 jam (Wilmana, 2007).

2.4. Pengujian Efek Antiinflamasi

Metode uji efek antiinflamasi suatu bahan obat dilakukan berdasarkan pada kemampuan obat dalam mengurangi atau menekan derajat udem yang dihasilkan oleh induksi hewan uji. Ada beberapa macam teknik pengujian yang telah diperkenalkan untuk mengevaluasi efek antiinflamasi. Perbedaannya terletak pada bahan penginduksinya, baik kimia, fisika, maupun dengan menggunakan *adjuvant Freund*, yaitu larutan yang berisi Mycobacterium yang telah mati (Kelompok Kerja Ilmiah, 1983).

Terdapat beberapa metode yang telah diketahui hingga saat ini, antara lain:

a. Inflamasi Model Akut

Model ini didisain untuk menguji obat–obatan yang dapat memodulasi terjadinya eritema, perubahan permeabilitas vaskuler, migrasi dan kemotaksis leukosit, fagositosis-polimorfonuklear, serta sel fagositik lainnya. Selain itu, model akut juga didesain untuk mengukur rasa nyeri lokal, aktivitas antipiretik, aksi analgesik lokal dan induksi edema pada tikus (Singh, et al., 2008). Terdapat beberapa metode inflamasi model akut, diantaranya (Suralkar, 2008):

1) Induksi Karaginan

Volume telapak kaki kiri tikus diukur dengan pletismometer. Kemudian, tikus diberikan larutan uji. Setelah 1 jam, tikus tersebut diinduksi oleh 0,1 ml injeksi karaginan 1% secara subplantar. Selanjutnya, dilakukan pengukuran volume udem pada jam ke-2, 3, 4 dan 5 setelah induksi.

2) Induksi Histamin

Metode yang digunakan hampir sama dengan metode induksi karagenin, namun penginduksi yang digunakan adalah 0,1 ml larutan histamin 1%.

3) Induksi Asam Asetat

Hewan uji yang digunakan diinjeksi dengan 0,25 ml larutan asam asetat 0,6% secara intraperitoneal. Segera setelah pemberian, 10 mg/kg *Evan's Blue* 10% diinjeksikan secara intravena melalui vena ekor. Lalu, 30 menit setelah injeksi *Evan's Blue*, hewan coba dibedah bagian perutnya. Kemudian, isi perutnya dialiri aquadest yang selanjutnya ditampung pada cawan petri. Eksudat tersebut kemudian difiltrasi hingga mencapai 10 ml. Selanjutnya, melalui filtrat tersebut dapat diukur *dyes* yang melekat di dalam ruang abdomen dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang visibel, lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol.

4) Induksi Xilena pada udem daun telinga

Inflamasi terjadi karena pelepasan substansi P dari neuron sensori pada saraf perifer. Mencit dipuaskan, hanya diberikan air, lalu diberikan bahan uji. Satu jam kemudian, tiap hewan uji mendapatkan 30 μ l xilena dengan menggunakan mikropipet pada bagian luar dan dalam telinga kanan mencit. Telinga kiri digunakan sebagai kontrol. Terdapat dua parameter yang diukur dalam metode ini, yaitu ketebalan dan bobot daun telinga mencit.

5) Induksi asam arakidonat pada udem daun telinga

Inflamasi diinduksi oleh pemberian topikal asam arakidonat 2 mg dalam 20 μ l aseton pada kedua permukaan daun telinga kanan. Selanjutnya, tikus dikorbankan dan ditimbang daun telinganya. Kemudian, dibandingkan dengan telinga kirinya. Selain itu, dapat juga menggunakan parameter ketebalan daun telinga mencit. Ketebalan daun telinga mencit yang telah diinduksi diukur dengan menggunakan jangka sorong digital, lalu dibandingkan dengan telinga kiri.

b. Inflamasi Model Kronik

Model ini didisain untuk menemukan suatu obat yang dapat memodulasi proses penyakit, termasuk di dalamnya implantasi *pellet* dan *sponge* serta *granuloma pouches* yang terdeposit pada jaringan granulasi, arthritis yang diinduksi oleh adjuvant dan kelinci yang diinduksi mengalami arthritis mono-artikular yang memiliki etiologi imun (Singh, et al., 2008).

2.5. Karaginan

Hasil pengeringan fitokoloid yang diekstraksi dari alga merah disebut dengan karaginan. Fitokoloid untuk karaginan ini diperoleh dari genus *Euchema* dan *Kappaphycus* dari perairan tropis, termasuk Indonesia. Proses ekstraksi karaginan meliputi perendaman 10 gram alga dalam air mendidih, penghancuran, perebusan, penyaringan dengan tekanan, penambahan isopropil alkohol ke dalam filtrat, penyaringan, pengeringan serat-serat karaginan dan penimbangan karaginan kering. Metode ini menghasilkan nilai rendemen 53,9–69,4 % (Hermiati, Euis, dan Hatta, 1991).

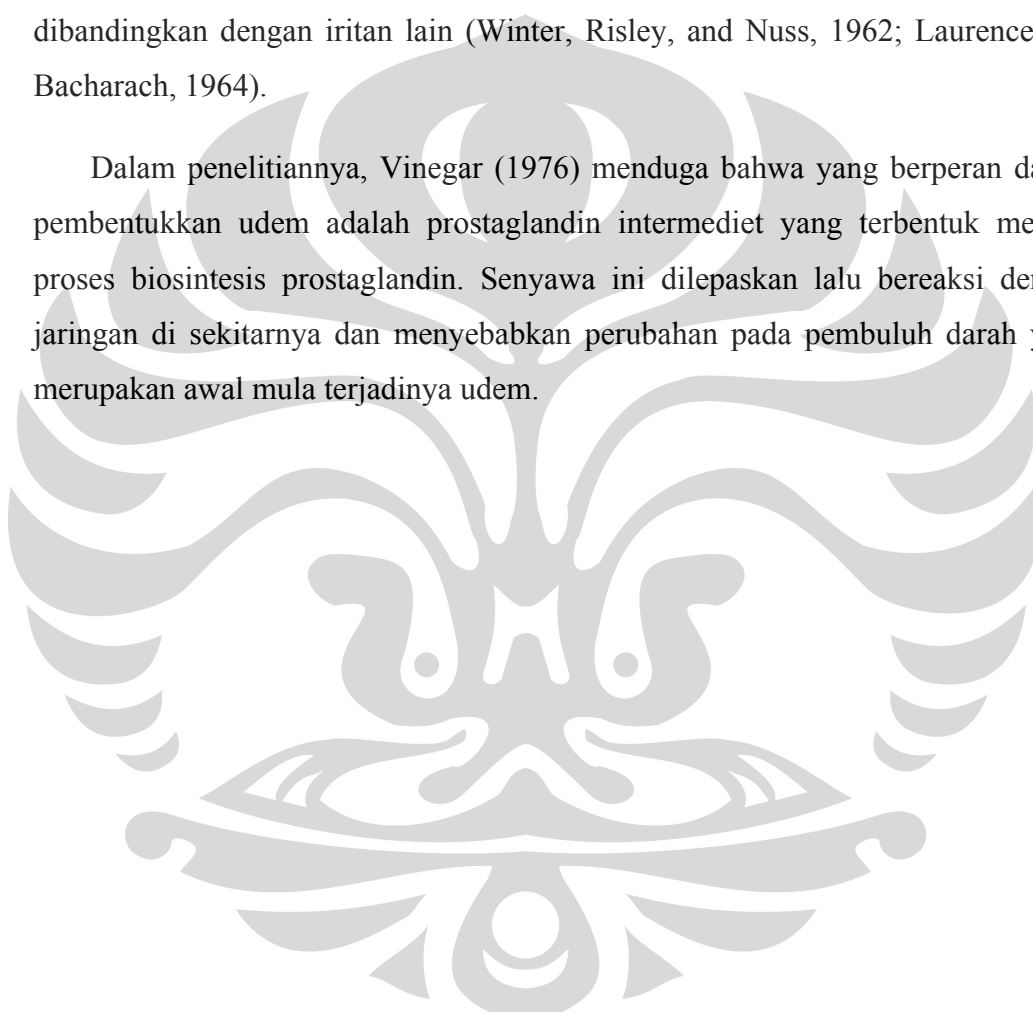
Karaginan berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta member rasa berlendir di lidah. Strukturnya terdiri dari campuran garam-garam ammonium, kalsium, kalium, natrium, dan polisakarida. Karaginan larut sempurna dalam air panas. Semua jenis karaginan, umumnya larut dalam air dingin, namun hanya lamda karaginan dan natrium karaginan yang larut sempurna dalam air dingin dan umumnya sukar larut dalam minyak dan pelarut organik (Wilkes University School of Pharmacy Wilkes-Barre, Departemen of Pharmaceutical Science, 2001).

Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentuk gelnya, karaginan dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu lamda karaginan, iota karaginan, dan kappa karaginan. Lamda karaginan merupakan tipe karaginan yang memiliki nilai kandungan sulfat tertinggi. Tipe karaginan ini digunakan karena kemampuannya dalam memberi rasa pada mulut dan sensasi seperti krim pada produk susu. Iota karaginan merupakan tipe karaginan yang memiliki nilai kandungan sulfat menengah, berada diantara lamda karaginan dan kappa karaginan. Iota karaginan membentuk gel yang elastis dengan proses pembekuan *thaw*. Kappa karaginan merupakan tipe karaginan yang paling umum digunakan. Tipe ini merupakan bahan yang penting karena kekuatan gelnya yang tinggi (Cybercolloids, LTD, 2010).

Iritan yang digunakan untuk pengujian efek antiinflamasi beragam jenisnya, satu diantaranya adalah karaginan. Senyawa ini berperan dalam pembentukan

inflamasi model akut yang didesain untuk mengukur rasa nyeri lokal, aktivitas antipiretik, aksi analgesik lokal dan induksi edema pada tikus (Singh, 2008). Karaginan yang digunakan adalah karaginan kappa karena jenis ini mudah untuk diperoleh dan masih dapat menimbulkan udem yang berarti, walaupun waktu untuk melarutkannya lebih lama dibandingkan dengan jenis lamda. Karaginan juga dipilih karena secara spesifik dapat dipengaruhi oleh obat-obatan antiinflamasi dan memiliki respon yang lebih sensitif terhadap obat-obat tersebut dibandingkan dengan iritan lain (Winter, Risley, and Nuss, 1962; Laurence and Bacharach, 1964).

Dalam penelitiannya, Vinegar (1976) menduga bahwa yang berperan dalam pembentukan udem adalah prostaglandin intermediet yang terbentuk melalui proses biosintesis prostaglandin. Senyawa ini dilepaskan lalu bereaksi dengan jaringan di sekitarnya dan menyebabkan perubahan pada pembuluh darah yang merupakan awal mula terjadinya udem.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia selama 4 bulan mulai dari bulan Februari hingga Mei 2010.

3.2. Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pletismometer, sonde oral, jarum suntik 26 G1/2 (Terumo, Filipina), dan spuit 1; 3; dan 5ml (Terumo, Filipina), timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan (And, EK – 600i) dan alat – alat gelas.

3.3. Bahan

3.3.1. Bahan Uji

Pada penelitian ini digunakan bahan uji yaitu, ekstrak kulit buah delima merah yang telah disertifikasi kandungan tannin dan flavonoidnya (Balitro). Kulit buah delima merah yang digunakan telah dideterminasi di LIPI Cibinong.

3.3.2. Bahan Kimia

Pada penelitian ini digunakan bahan kimia berupa karagenin yang diperoleh dari Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, natrium diklofenak (Yung Zip Chemical Ind. Co., LTD, Taiwan), NaCl 0,9% steril (Otsuka, Indonesia), karboksimetilselulosa (Daichi, Jepang) serta aquadest.

3.3.3. Hewan Uji

Untuk penelitian antiinflamasi model induksi karagenin, digunakan hewan uji tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* (SD) dengan berat badan 150 – 200 gram yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor sejumlah

52 ekor. Galur SD dipilih karena galur ini memiliki mekanisme patologis terhadap iritasi, udem dan aktivitas asam arakidonat dalam sintesis prostaglandin dan tromboksan yang mirip dengan manusia (Conforti, 2008). Pemilihan tikus jantan didasarkan pada fungsi hormonal yang kurang berperan dalam menimbulkan respon inflamasi (Barkley, Zalcman, and Simon, 2006).

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Rancangan Penelitian

3.4.1.1. Uji Pendahuluan

Pada penelitian ini dilakukan dua uji pendahuluan. Uji pertama dilakukan untuk menentukan konsentrasi karaginan yang menghasilkan udem terbesar. Uji ini dilakukan pada 1 kelompok tikus yang berjumlah 9 ekor. Melalui penelitian terdahulu, konsentrasi karaginan 2% menghasilkan udem terbesar pada telapak kaki tikus, sehingga untuk penelitian kali ini juga digunakan karaginan 2%. Kemudian, kelompok tersebut dibagi menjadi 3 kelompok sehingga masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Tiga kelompok tersebut diberikan injeksi suspensi karaginan 2% secara subplantar dengan volume berturut – turut sebanyak 0,2; 0,3; 0,4 ml.

Uji kedua dilakukan untuk menentukan waktu pemberian bahan uji dengan dosis 20 mg/200 g bb sebelum tikus diinjeksi karaginan. Uji dilakukan pada 18 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok, sehingga masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok pertama diberikan bahan uji, lalu sesaat kemudian diinjeksi karaginan. Lima kelompok lainnya diberikan bahan uji dengan lima variasi waktu pemberian, yaitu 30; 60; 90 menit sebelum induksi dan 30; 60 menit setelah diinduksi oleh karaginan, serta kontrol negatif digunakan sebagai pembanding, hanya diberikan CMC 0,5%.

3.4.1.2. Uji Sebenarnya

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Tiga kelompok diberikan larutan uji dengan dosis larutan bahan uji yang telah

ditentukan. Satu kelompok sebagai kontrol negatif diberikan larutan CMC 0,5% dan satu kelompok lagi sebagai kontrol positif diberikan obat antiinflamasi natrium diklofenak.

Tabel 3.1.

Kelompok perlakuan uji antiinflamasi metode induksi karagenin

Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan
Kontrol Negatif	5	CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g tikus
Kontrol Positif	5	Natrium diklofenak 27 mg/200 g tikus dalam CMC 0,5%.
Bahan Uji I	5	Ekstrak kulit buah delima merah 20 mg/200 g tikus dalam CMC 0,5%.
Bahan Uji II	5	Ekstrak kulit buah delima merah 40 mg/200 g tikus dalam CMC 0,5%.
Bahan Uji III	5	Ekstrak kulit buah delima 80 mg/200 g tikus dalam CMC 0,5%.

3.4.2. Persiapan Hewan Uji

Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen FMIPA UI agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Selama masa aklimatisasi, tikus diberikan makanan dan minuman yang seragam dan dilakukan pengamatan yang rutin terhadap keadaan umum serta penimbangan berat badan tikus. Tikus yang sakit dengan ciri – ciri bulu berdiri, kurang aktif, dan mata tidak jernih tidak diikutsertakan dalam penelitian.

3.4.3. Pembuatan Suspensi Karaginan 2 %

Sebanyak 0,2 gram karaginan ditimbang lalu dilarutkan dalam natrium klorida 0,9% steril di dalam labu ukur sampai 10,0 ml.

3.4.4. Penetapan Dosis Formula Obat Uji

Dosis berdasarkan penelitian terdahulu kulit buah *Punica granatum* adalah 20 mg/200g bb tikus. Berdasarkan dosis tersebut dibuat tingkatan dosis berdasarkan deret ukur sebagai berikut (lampiran 4):

- a. Bahan Uji I
Ekstrak kulit buah delima merah 20 mg/ 200 g bb tikus.
- b. Bahan Uji II
Ekstrak kulit buah delima merah 40 mg/ 200 g bb tikus.
- c. Bahan Uji III
Ekstrak kulit buah delima merah 80 mg/ 200 g bb tikus.

3.4.5. Pembuatan Larutan CMC 0,5%

Sejumlah CMC ditimbang lalu dikembangkan dengan aquadest hangat (60°) sejumlah 20 kalinya. Setelah mengembang, CMC digerus dengan ditambahkan aquadest hingga jumlah tertentu.

3.5. Metode

Penelitian ini menggunakan metode Winter yang dimodifikasi berdasarkan uji pendahuluan yaitu induksi dilakukan pada kaki tikus percobaan dengan cara menyuntikkan 0,4 ml suspensi karaginan 2% secara subplantar pada kaki kiri belakang tikus. Ukuran udem pada telapak kaki tikus diukur dengan alat yang bekerja berdasarkan hukum Archimedes yaitu pletismometer. Aktivitas antiinflamasi obat uji ditunjukkan oleh kemampuannya dalam mengurangi udem yang dihasilkan akibat induksi pada telapak kaki hewan uji (Kelompok Kerja Ilmiah, 1983; Winter, Risley and Nuss, 1962).

Prosedur Uji Antiinflamasi:

1. Tikus dipuaskan \pm 18 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan.
2. Pada hari pengujian, tikus ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak; ada 5 kelompok tikus dengan jumlah tikus masing – masing kelompok adalah 5 ekor.
3. Volume kaki kiri belakang setiap tikus yang akan diinduksi, diberi tanda pada mata kaki lalu diukur terlebih dahulu dengan cara mencelupkan kaki tikus ke dalam raksa hingga batas tanda.
4. Pada kelompok kontrol negatif, setiap tikus diberi larutan CMC 0,5% sebanyak 3 ml/200 g tikus, setelah 1 jam kemudian telapak kaki kiri belakang tikus diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar.
5. Pada kelompok kontrol positif, setiap tikus diberi suspensi obat antiinflamasi natrium diklofenak dengan dosis 27 mg/200 g berat badan tikus, 1 jam kemudian telapak kaki kiri belakang setiap tikus diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar.
6. Pada masing – masing kelompok uji bahan I, II, dan III diberikan bahan uji yang telah diatur sedemikian rupa sehingga sesuai dengan dosis yang diinginkan setelah dikonversi ke dosis tikus.
7. Setelah 1 jam, telapak kaki kiri belakang tikus pada masing – masing kelompok diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar.
8. Kaki tikus dicelupkan ke dalam alat pletismometer hingga batas mata kaki. Lalu, volume udem diukur pada jam ke – 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 setelah diinduksi dengan karaginan.
9. Semua data yang diperoleh dianalisa secara statistik terhadap volume udem dan dihitung persentase penghambatan udem.

3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Saphiro - Wilk* untuk melihat distribusi data dan dianalisis dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak. Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji Kruskal – Wallis untuk melihat adanya perbedaan, selanjutnya dilakukan uji Mann - Whitney (Dahlan, 2009) dan dihitung persentase penghambatan udem rata – rata yang terjadi pada kelompok uji metode induksi karaginan dengan rumus (Das et al., 2003):

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

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)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4. 1. Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan pertama didapat hasil udem rata – rata pada pemberian 0,2; 0,3; 0,4 ml karaginan 2%, secara berturut – turut dari jam pertama hingga jam keenam, yaitu:

Tabel 4.1.
Volume Udem Rerata pada Telapak Kaki Tikus yang ditimbulkan oleh Induksi 0,2; 0,3; 0,4 ml Karaginan 2% secara subplantar

Perlakuan	Volume Udem (ml)						
	Jam 0	Jam I	Jam II	Jam III	Jam IV	Jam V	Jam VI
0,2 ml	0,0050	0,0083	0,0113	0,0136	0,0142	0,0113	0,0096
0,3 ml	0,0064	0,0099	0,0154	0,0176	0,0178	0,0136	0,0110
0,4 ml	0,0058	0,0117	0,0195	0,0232	0,0205	0,0157	0,0132

Data tersebut menggambarkan peningkatan volume udem terbesar pada pemberian 0,4 ml karaginan 2% hingga mencapai volume maksimum pada jam ketiga sebesar, 0,0232 ml dan selanjutnya menurun hingga jam keenam. Dengan demikian, berdasarkan hasil tersebut, pada uji selanjutnya digunakan karaginan 2% dengan volume injeksi 0,4 ml. Metode Winter sebenarnya menggunakan 0,2 ml suspensi karaginan 1% dalam NaCl 0,9% (Kelompok Kerja Ilmiah, 1983). Perbedaan ini mungkin disebabkan karena jenis karaginan yang berbeda atau kondisi perlakuan yang berbeda.

Volume udem telapak kaki tikus diukur selama enam jam setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2%. Hal ini dilakukan untuk menemukan volume udem maksimum yang dapat terjadi akibat penginduksian oleh karaginan. Sintesis prostaglandin akibat induksi oleh karaginan umumnya terjadi pada saat volume udem yang terbentuk maksimal (Wulandari, 2009; Green, 1999). Penelitian ini menunjukkan terbentuknya volume udem maksimum pada jam ketiga sampai jam

keempat. Hal tersebut terjadi sesuai dengan mekanisme pembentukan udem oleh karaginan yang terbagi atas tiga fase (Zubaidi, 1975). Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan kinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian udem berkembang cepat dan bertahan hingga beberapa jam. Hal ini diduga karena peran *intermediate prostaglandin* yang dibentuk melalui proses biosintesa prostaglandin. Senyawa ini dilepaskan dan bereaksi dengan jaringan di sekitarnya menyebabkan perubahan pembuluh darah yang jadi awal pembentukan udem.

Uji pendahuluan kedua dilakukan untuk membandingkan volume udem tiap jam selama enam jam pada pemberian bahan uji pertama, yaitu dengan dosis ekstrak 20 mg/200 g bb dengan variasi waktu pemberian 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah induksi, 30 dan 60 menit setelah induksi karaginan. Perbedaan waktu dilakukan untuk mengetahui kerja dari ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah, apakah sebagai terapi pengobatan atau preventif. Pada waktu pemberian 60 menit sebelum induksi menunjukkan volume udem rata – rata yang terkecil jika dibandingkan dengan kontrol negatif, yaitu secara berturut – turut mulai dari jam pertama hingga jam keenam sebesar 0,0077; 0,0102; 0,0115; 0,0094; 0,0073; dan 0,0062 ml (Tabel 4.2). Volume udem rata – rata tersebut kemudian dihitung nilai persentase penghambatannya.

Persentase penghambatan udem yang diperoleh pada pemberian bahan uji pertama saat 60 menit sebelum induksi karaginan menunjukkan nilai penghambatan udem rata – rata secara berturut – turut adalah 34,19; 47,69; 50,43; 54,15; 53,50; dan 53,03 % (Tabel 4.3 dan Gambar 4.3). Hasil tersebut menunjukkan penghambatan udem terbesar pada jam keempat kemudian menurun hingga jam keenam. Berdasarkan hasil tersebut, waktu pemberian bahan uji 60 menit sebelum induksi karaginan menjadi pilihan untuk uji selanjutnya dan berdasarkan waktu pemberian pilihan, ekstrak ini dapat digunakan untuk tindakan pencegahan inflamasi.

Pengukuran volume udem dengan pletismometer dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, sulitnya mengkondisikan hewan coba dan kejelasan

pada saat pembacaan skala. Hal ini dapat dikurangi dengan menenangkan hewan coba pada saat memasukkan kakinya ke dalam raksa, pemberian batas yang jelas dengan penanda permanen yang tidak mudah hilang, serta melakukan pengukuran secara triplo untuk tiap hewan coba dan waktu pengukuran.

4. 2. Uji Sebenarnya

Pada uji sebenarnya didapat hasil udem rata – rata pada pemberian dosis I, II, dan III, kontrol positif dan kontrol negatif per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2%, secara berturut – turut dari jam ke - 0 hingga jam keenam, yaitu:

Tabel 4.2.

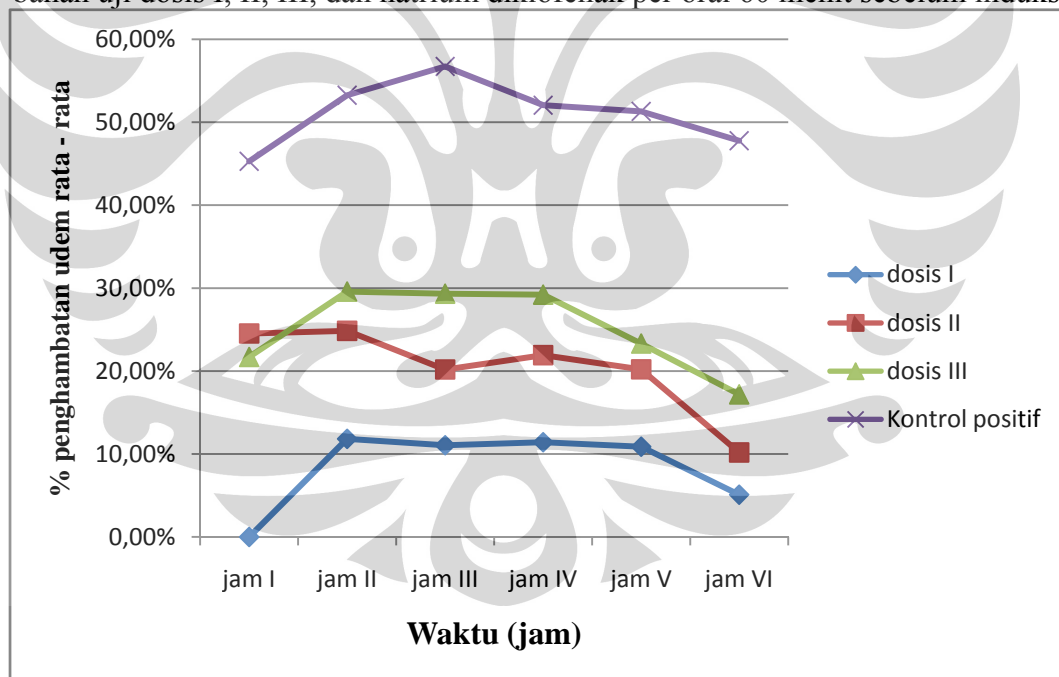
Volume Udem Rerata pada pemberian dosis I, II, III, kontrol positif dan kontrol negatif per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus

Perlakuan	Volume udem rata – rata \pm SD						
	Jam 0	Jam 1	Jam 2	Jam 3	Jam 4	Jam 5	Jam 6
Kontrol	0,0084	0,0106	0,0169	0,0208	0,0219	0,0193	0,0157
Negatif	$\pm 0,001$	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$	$\pm 0,003$	$\pm 0,002$	$\pm 0,003$
Dosis I	0,0073	0,0106	0,0149	0,0185	0,0194	0,0172	0,0149
	$\pm 0,001$	$\pm 0,003$	$\pm 0,004$	$\pm 0,005$	$\pm 0,005$	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$
Dosis II	0,0060	0,0080	0,0127	0,0166	0,0171	0,0154	0,0141
	$\pm 0,0008$	$\pm 0,001$	$\pm 0,003$	$\pm 0,004$	$\pm 0,004$	$\pm 0,004$	$\pm 0,003$
Dosis III	0,0066	0,0083	0,0119	0,0147	0,0155	0,0148	0,0130
	$\pm 0,0005$	$\pm 0,001$	$\pm 0,003$	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$	$\pm 0,004$	$\pm 0,002$
Kontrol	0,0046	0,0058	0,0079	0,0090	0,0105	0,0094	0,0082
Positif	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$	$\pm 0,001$	$\pm 0,0007$	$\pm 0,003$	$\pm 0,001$

Pemberian CMC 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif yang nantinya digunakan sebagai pembanding dalam mengukur persen penghambatan udem. CMC 0,5% digunakan sebagai agen penyuspensi karena ekstrak etanol 80% kulit buah delima tidak larut dalam air, selain itu karena CMC tidak membutuhkan enzim selulase untuk mencernanya, maka CMC dapat segera dikeluarkan dari

dalam tubuh tikus. Berdasarkan hasil uji sebenarnya didapat bahwa natrium diklofenak memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak kulit buah delima dengan variasi dosis (Gambar 4.4 dan Tabel 4.7). Natrium diklofenak disuspensikan dalam CMC 0,5% untuk menyetarakan perlakuan dan pemberiannya dilakukan 1 jam sebelum induksi, namun persentase penghambatannya terbesar pada jam ketiga karena absorpsi obat ini di saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini juga memiliki waktu paruh yang singkat, yaitu sekitar 1 – 3 jam (Wilmana, 2007), maka pada pemberian 1 jam sebelum induksi terjadi pergeseran efek terapi terhadap waktu pembentukan udem maksimum, yaitu pada jam keempat. Besarnya persen penghambatan berbanding terbalik dengan besarnya volume udem. Semakin kecil volume udem, maka semakin besar persen penghambatannya, atau sebaliknya.

Gambar 4.4. Grafik persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian bahan uji dosis I, II, III, dan natrium diklofenak per oral 60 menit sebelum induksi



0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus putih

Hasil uji dosis I menunjukkan efek penghambatan terbesar pada jam kedua kemudian menurun pada jam ketiga dan naik pada jam keempat, lalu turun hingga jam keenam (Gambar 4.4). Berdasarkan analisa statistik, dosis pertama tidak

berbeda bermakna dengan kontrol negatif dari jam ke-0 hingga jam keenam (Lampiran 6-12), sehingga dapat dikatakan bahwa dosis pertama tidak memiliki efek antiinflamasi yang bermakna. Hasil persen penghambatan yang fluktuatif, terutama penurunan pada jam ketiga dan naik pada jam keempat mungkin dikarenakan kondisi ketenangan tikus pada saat perlakuan, dimana pada jam ketiga diduga prostaglandin sudah mulai terbentuk yang dapat mengakibatkan timbulnya rasa nyeri. Rasa nyeri ini, ternyata kurang ditahan oleh tikus, sehingga tikus sering menghentakkan kakinya. Hal ini yang mungkin menyebabkan pengukuran menjadi tidak presisi.

Pada dosis II, hasil menunjukkan efek penghambatan terbesar pada jam kedua kemudian menurun pada jam ketiga dan naik pada jam keempat, lalu turun hingga jam keenam (Gambar 4.4). Berdasarkan analisa statistik, dosis kedua berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada jam ke-0 dan 2 (Lampiran 6-12), sehingga dapat dikatakan bahwa dosis kedua (40 mg/200g bb) memiliki efek antiinflamasi yang bermakna pada jam kedua setelah induksi karaginan. Kemungkinan yang sama juga terjadi pada saat pemberian dosis II ini. Pada jam keempat, persentase penghambatan udem meningkat kembali. Berdasarkan uji pendahuluan, hal ini mungkin terjadi karena efek antiinflamasi dari ekstrak kulit buah delima merah masih memperlihatkan penghambatannya pada jam keempat, lalu turun sampai jam keenam.

Hasil uji dosis III menunjukkan efek penghambatan terbesar pada jam kedua kemudian menurun hingga jam keenam (Gambar 4.4). Berdasarkan analisa statistik, dosis ketiga berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada jam ke-0 dan 2 hingga jam ke-6 (Lampiran 6-12), sehingga dapat dikatakan bahwa dosis III memiliki efek antiinflamasi yang bermakna pada jam kedua setelah induksi karaginan hingga jam keempat. Perbedaan persentase penghambatan antara dosis II dan III pada jam ke-1, dimana dosis II lebih tinggi dibandingkan dengan dosis III mungkin diakibatkan oleh kondisi tikus pada saat perlakuan yang kurang tenang, sehingga terjadi penyimpangan dalam pengukurannya.

Dosis yang diberikan ditentukan berdasarkan deret ukur, dengan perbandingan 1: 2: 4 sehingga didapat dosis – dosisnya sebesar 20, 40, dan 80

mg/200 g bb. Dosis ini masih di bawah LD_{50} dari ekstrak buah delima yang diberikan secara peroral, yaitu sekitar 135-189 mg/200 g bb, sehingga masih aman untuk digunakan (Vidal, et al., 2003). Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol 80% kulit buah delima (Ross, 1999) masih lebih rendah daripada aktivitas natrium diklofenak. Senyawa yang berperan dalam menimbulkan efek antiinflamasi adalah flavanoid dan tanin yang terkandung di dalam kulit buah delima merah (Singh, 2008). Aktivitas antiinflamasi diperkirakan berkaitan dengan penghambatan pembentukan mediator–mediator inflamasi, baik dari jalur siklooksigenase maupun penghambatan langsung pada fosfolipase A_2 (Singh, 2008).



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji antiinflamasi menggunakan metode *Winter* yang telah dimodifikasi, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah secara peroral pada tikus putih jantan dengan dosis 80 mg/200 g bb menunjukkan aktivitas antiinflamasi bermakna ($p < 0,05$) pada jam kedua hingga keempat, ditinjau dari penurunan volume udem, walaupun masih lebih rendah daripada natrium diklofenak.

5.2. Saran

Untuk memperoleh keakuratan hasil yang lebih baik, perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan lebih dari satu metode, misalnya dengan induksi karaginan dan xilena.

DAFTAR ACUAN

- Ackland, M.L., van de Waarsenburg, S., Jones, R. (2005). Synergistic anti proliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol incultured human cancer cellines. *In Vivo* 19, 69–76.
- Adams ,L.S., Seeram, N.P., Aggarwal,B.B., Takada,Y., Sand,D., Heber,D.(2006). Pomegranate juice total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 980–985.
- Al – Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 244 – 248.
- Anderson W. A. D & Kissane, J. (1977). *Pathology* 7th edition : 25 – 28.
- Badan Litbang Kesehatan. (2007). *Tanaman Obat Asli Milik Masyarakat, Bangsa, dan Negara RI*. Dikutip dari www.bmf.litbang.depkes.go.id 12 Januari 2010, pk. 12.41.
- Brusselmans, K., Vrolix, R., Verhoeven, G., Swinnen, J.V. (2005). Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 5636–5645.
- Conforti, A., Bellavatite, P. Rat model of acute inflammation a randomized controlled study on the effect homeopathic remedies. Departemen of Medicine – Public Health. University of Verona. [http://www.biomedcentral.com/1472\(-\)6882/7/1](http://www.biomedcentral.com/1472(-)6882/7/1) on May 8, 2008 at 13.32 WIB.
- Cybercolloids LTD. *Introduction to Carrageenan*. Diunduh dari www.cybercolloids.net/library/carrageenan/intro.php. pada tanggal 12 Januari 2010 pk 12.47 WIB.
- Dahlan, M. S. (2009). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan, ed 4*. Jakarta : Salemba Medika.
- Das, A. K., F. Ahmed, S. C. Bachar, J. Kundu & S. Dev. (2003). Antiinflammatory effect of *Albizzia lebbek* _(Benth.) bark. *Online Journal Biology of Science*. 3 (8):685 – 687.

- Dell'Agli, Mario, et al., (2009). Antiplasmodial activity of *Punica granatum*, L. fruit rind. *Journal of Ethnopharmacology*, 279 – 285.
- Departemen of Pharmaceutical Science, Wilkes University School of Pharmacy Wilkes – Barre. (2001). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 3rd edition. WashingtonDC: America Pharmaceutical Association: 91 – 93.
- Green, Paul et al., (1999). Sex steroid regulation of the inflammatory response: sympathoadrenal dependence in the female rats. *The Journal of neuroscience*, 19 (10), may 15, 4082 – 4089.
- Hermiati, Euis dan Agus M. Hatta. (1991). Ekstraksi dan pengujian kualitas karaginan dan agar. Buku Panduan dan Kumpulan Abstrak :*Seminar Ilmiah dan Kongres Nasional Biologi XI*. : 1 – 11.
- Jurenka, Julie. 2008. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum*, L.): A Review. *Alternative Medicine Review*. 13 (2): 128-144.
- Katzung, Bertram G. (2000). *Basic and Clinical Pharmacology* 9th edition.
- Kelompok Kerja Ilmiah. (1983). *Penapisan Farmakologi, Pegujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka. Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Ohyto Medica: 43 – 45.
- Kowalski, I., Samojedny, A., Paul, M., Pietsz, G., Wilczok, T. (2005). Effect of kaempferol on the production and gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in J774.2 macrophages. *Pharmacological Reports*: PR 57, 107–112.
- Lansky, E.P. and R.A. Newman. 2006. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*: 1 – 30.
- Laurence, DR., AL. Bacharach. (1964). *Evaluation of Drugs activities: Pharmacometrics*. Vol. 2. London: Academic Press, 814 – 825.
- Randall, Michael and Neil, Karen E. (2009). *Disease Management :A guide to clinical pharmacology* 2nd edition. Cambridge : Cambridge University Press. 329.
- Ricci, D., Giamperi, L., Bucchini, A., and Fraternali, D. (2006). Antioxidant activity of *Punica granatum* fruits. *Fitoterapia* (77), 310–312.

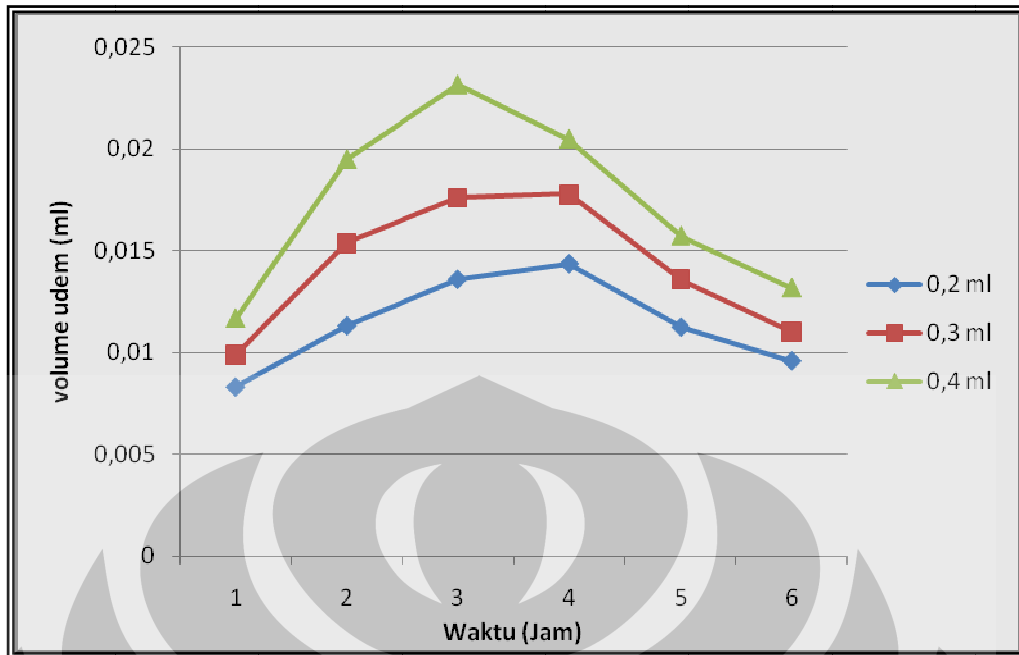
- Ross, I.A. (1999). *Medicinal plants of the world*, Vol.1. New Jersey: Humana Press Inc, 274, 277-281.
- Schubert, S. Y., Lansky, E. P., and Neeman, Ishak. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology* (66), 11–17.
- Seibert, Karen et al., (1994). Pharmacological and Biochemical Demonstration of the Role of Cyclooxygenase – 2 in Inflammation and Pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol 9: 12013 – 12017.
- Shukla, M., K. Gupta, Z. Rasheed, K. A Khan, & T. M Haqqi. (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. *Journal of Inflammation*. 5 (9): 1-10.
- Silbenrnagl, Stefan, Lang, Florian. (2000). *Color Atlas of Pathophysiology*. USA: Thieme New York, 48 – 50.
- Simon, LE. (2001). Nonsteroidal Anti – inflammatory Drugs in Klippel, J. H., Crofford, L.j., Stone, J. H., Weyand, C.M (eds) *Primer on The Rheumatic Diseases* 12th edition, Georgia:Arthritis Foundation, 583 – 591.
- Singh, Amritpal., S. Maholtra., R. Subban . (2008). Antiinflammatory and Analgesic Agents from Indian Medicinal Plants. *International Journal of Inegrative Biology*, Volume 3, No. 1: 58.
- Suralkar, Aupama A. (2008). In – vivo Animal Models for Evaluation of Atiinflammatory Activity. Vol 6, *Article Review*, Issue 2.
- Tjitrosoepomo, Gembong. (1991). *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 1, 90, 99, 211 – 212, 223.
- United State of Pharmacopoeia 30th edition. (2007).
- Vinegar, R., J.L. Truax., and J.L. Selph. (1976). Quantitative Studies of The Pathway to Acute Carrageenan Inflammation. *Federation Proceefing*. Volume 35, no. 13, 228.
- W. S, Sriwidodo. (1996). *Cermin Dunia Kedokteran: Obat Tradisional*, no. 108. Jakarta: P. T. Kalbe Farma, 5.

- Wilmana, P.F., dan Sulistia G.G. (2007). Analgesik-antipiretik, analgesik – antiinflamasi non steroid dan obat pirai. Dalam: Sulistia G.G. (ed.). 2007. Farmakologi dan terapi, ed. 5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 230-246, 505-506.
- Winter, CA. Risley EA & Nuss, GW. (1962). Carrageenanin - induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111 : 544 – 7.
- Wirjowidagdo, Sumali. (n.d). *Delima (Punica granatum L.) obat tradisional Indonesia yang merupakan sumber antioksidan*: 2 hlm. <http://www.isfinational.or.id/pt-isfi-penerbitan/126/474-delima-punica-granatum-l-obat-tradisional-indonesia.html>, 7 Januari 2010 pk.23.37 WIB.
- Wulandari, Retno. (2009). Uji Efek Antiinflamasi Formula Jamu “RMK” Terhadap Udem pada Telapak Kaki Tikus Putih yang Diinduksi oleh Karaginan. Skripsi Sarjana, Jurusan Farmasi FMIPA UI. Depok.
- Vidal, et al., (2003). Studies on the toxicity of Punica granatum L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology* (89), 295–300
- Zubaidi, Y. (1975). *Mekanisme Kerja Obat Antiinflamasi, Obat dan Pembangunan Masyarakat Sehat, Kuat, dan Cerdas*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, 168 – 178.

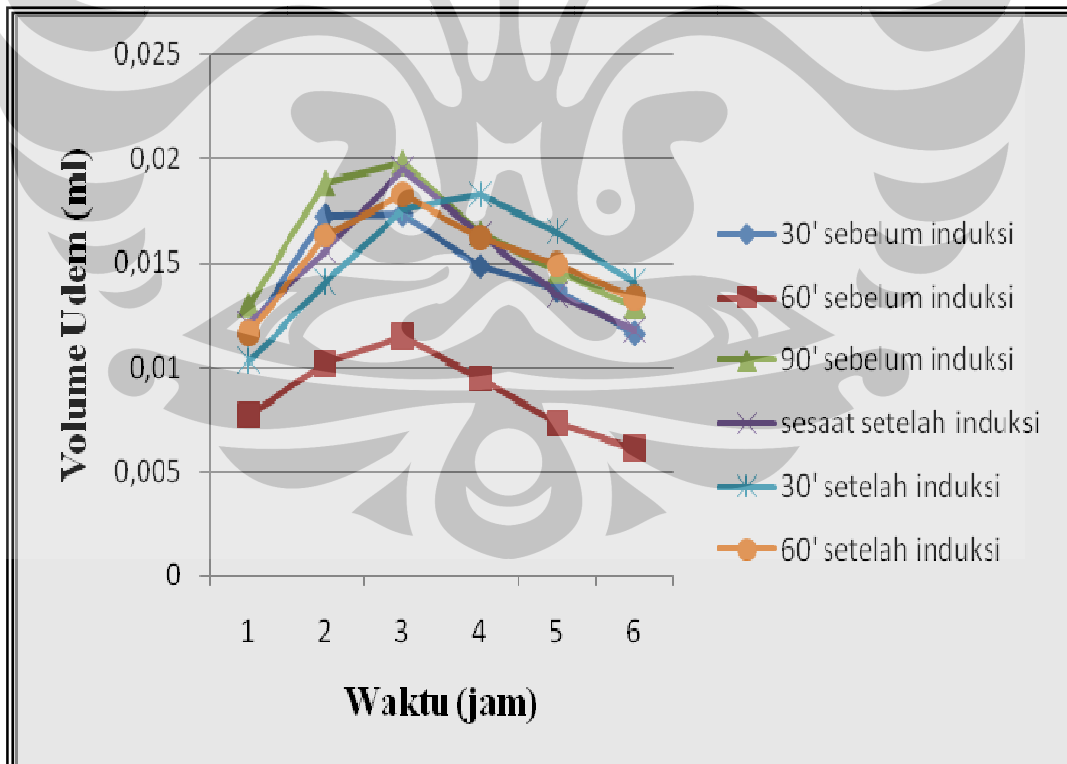




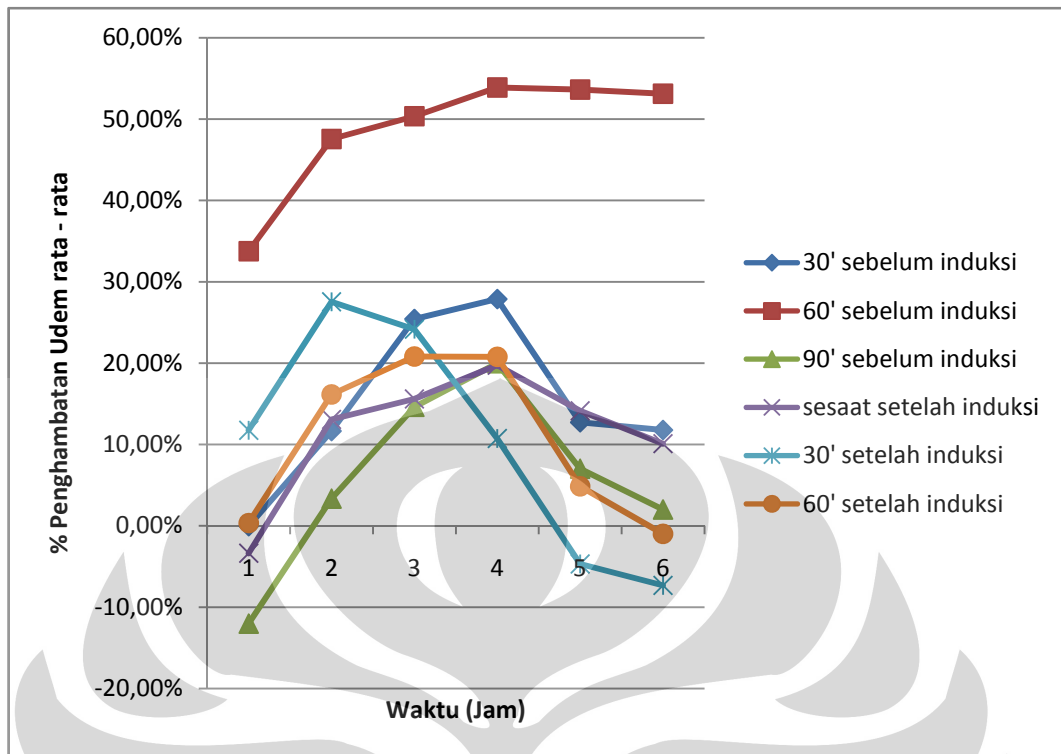
Gambar 3.1. Cara pengukuran volume udem pada kaki tikus dengan plethysmometer.



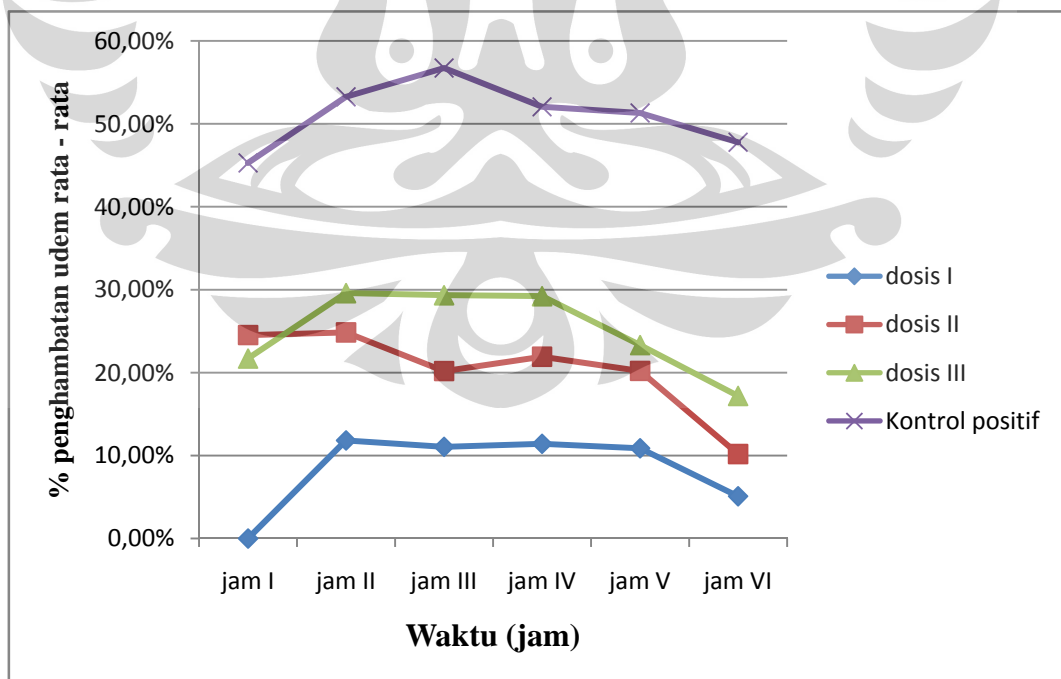
Gambar 4.1. Grafik volume udem rata – rata pada telapak kaki tikus setelah injeksi 0,2; 0,3; dan 0,4 ml karaginan 2%



Gambar 4.2. Grafik volume udem rata – rata pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus



Gambar 4.3. Grafik persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I peroral 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus



Gambar 4.4. Grafik persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian bahan uji dosis I, II, III, dan natrium diklofenak per oral 60 menit sebelum induksi 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus putih



Tabel 4.3.
Volume Udem pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,2; 0,3; 0,4 ml karaginan 2% secara subplantar

Rata - rata		Volume Udem (ml)						
Perlakuan	No	Jam 0	Jam I	Jam II	Jam III	Jam IV	Jam V	Jam VI
0,2 ml	1	0,0073	0,0113	0,015	0,0177	0,0198	0,0168	0,0142
	2	0,0043	0,0065	0,0112	0,0122	0,0133	0,0092	0,0085
	3	0,0035	0,0072	0,0078	0,0109	0,0099	0,0078	0,0061
rata - rata		0,0050	0,0083	0,0113	0,0136	0,0142	0,0113	0,0096
0,3 ml	1	0,0068	0,0117	0,0198	0,0232	0,0247	0,0205	0,0183
	2	0,0052	0,0088	0,0158	0,018	0,0188	0,0115	0,0085
	3	0,0072	0,0092	0,0105	0,0117	0,0098	0,0088	0,0063
rata - rata		0,0064	0,0099	0,0154	0,0176	0,0178	0,0136	0,0110
0,4 ml	1	0,0058	0,0125	0,0191	0,0279	0,0283	0,0218	0,0179
	2	0,0055	0,0124	0,0202	0,0217	0,0199	0,0165	0,0134
	3	0,0059	0,0101	0,0191	0,0198	0,0133	0,0088	0,0081
rata - rata		0,0058	0,0117	0,0195	0,0232	0,0205	0,0157	0,0132

Tabel 4.4.
Volume Udem pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah dan 30 serta 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus

Perlakuan	No	Volume Udem (ml)						
		Jam 0	Jam I	Jam II	Jam III	Jam IV	Jam V	Jam VI
Kontrol Negatif	1	0,0125	0,0191	0,0279	0,0283	0,0218	0,0179	0,0058
	2	0,0124	0,0202	0,0217	0,0199	0,0165	0,0134	0,0055
	3	0,0101	0,0191	0,0198	0,0133	0,0088	0,0081	0,0059
rata - rata		0,0117	0,0195	0,0232	0,0205	0,0157	0,0132	0,0058
30' sebelum induksi	1	0,0053	0,0102	0,0117	0,0155	0,0138	0,0138	0,0109
	2	0,0068	0,0142	0,0213	0,0222	0,018	0,0177	0,0152
	3	0,0063	0,0107	0,0187	0,0142	0,0125	0,0097	0,0087
rata - rata		0,0061	0,0117	0,0172	0,0173	0,0148	0,0137	0,0116
60' sebelum induksi	1	0,0040	0,0152	0,0180	0,0192	0,0162	0,0140	0,0128
	2	0,0030	0,0057	0,0088	0,0107	0,0087	0,0063	0,0043
	3	0,0018	0,0023	0,0038	0,0047	0,0035	0,0015	0,0013
rata - rata		0,0029	0,0077	0,0102	0,0115	0,0095	0,0073	0,0061
90' sebelum induksi	1	0,0070	0,0133	0,0207	0,0222	0,0167	0,0155	0,0147
	2	0,0070	0,0140	0,0180	0,0190	0,0154	0,0134	0,0120
	3	0,0085	0,0118	0,0178	0,0181	0,0171	0,0149	0,0119
rata - rata		0,0075	0,0130	0,0188	0,0198	0,0164	0,0146	0,0129
Sesaat setelah induksi	1	0,0053	0,0102	0,0117	0,0155	0,0138	0,0138	0,0109
	2	0,0063	0,0122	0,0125	0,0193	0,0148	0,0123	0,0103
	3	0,0057	0,0138	0,0227	0,0238	0,0207	0,0143	0,0142
Rata - rata		0,0058	0,0121	0,0156	0,0195	0,0164	0,0135	0,0118
30' setelah induksi	1	0,0055	0,0103	0,0133	0,0173	0,0178	0,0162	0,0137
	2	0,0055	0,0092	0,0140	0,0190	0,0205	0,0200	0,0182
	3	0,0054	0,0114	0,0150	0,0164	0,0165	0,0132	0,0105
Rata - rata		0,0055	0,0103	0,0141	0,0176	0,0183	0,0165	0,0141
60' setelah induksi	1	0,0070	0,0137	0,0180	0,0193	0,0173	0,0163	0,0147
	2	0,0065	0,0102	0,0135	0,0150	0,0139	0,0130	0,0112
	3	0,0053	0,011	0,0175	0,0207	0,0175	0,0155	0,014
Rata - rata		0,0063	0,0116	0,0163	0,0183	0,0162	0,0149	0,0133

Tabel 4.5.

Rata – rata Volume Udem pada pemberian dosis 20 mg/200 g bb peroral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah dan 30 serta 60 menit setelah induksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus

Perlakuan	Volume udem rata – rata						
	Jam 0	Jam 1	Jam 2	Jam 3	Jam 4	Jam 5	Jam 6
30' sebelum	0,0061	0,0117	0,0172	0,0173	0,0148	0,0137	0,0116
60' sebelum	0,0029	0,0077	0,0102	0,0115	0,0095	0,0073	0,0061
90' sebelum	0,0075	0,0130	0,0188	0,0198	0,0164	0,0146	0,0129
Sesaat setelah	0,0058	0,0121	0,0156	0,0195	0,0164	0,0135	0,0118
30' setelah	0,0055	0,0103	0,0141	0,0176	0,0183	0,0165	0,0141
60' setelah	0,0063	0,0116	0,0163	0,0183	0,0162	0,0149	0,0133

Tabel 4.6.

Persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I per oral saat 30, 60, 90 menit sebelum, sesaat setelah, 30 dan 60 menit setelah diinduksi oleh 0,4 ml karaginan 2%

Perlakuan	Persentase Penghambatan udem rata – rata						
	Jam 0	Jam 1	Jam 2	Jam 3	Jam 4	Jam 5	Jam 6
30' sebelum	-6,52 %	-0,05%	11,65%	25,43%	27,88%	12,72%	11,78%
60' sebelum	48,99%	33,75%	47,55%	50,35%	53,89%	53,62%	53,12%
90' sebelum	-29,85%	-12,04%	3,33%	14,62%	19,99%	7,01%	2,00%
Sesaat setelah	0,17%	-3,38%	13,08%	15,60%	19,75%	14,14%	10,09%
30' setelah	5,54%	11,75%	27,55%	24,17%	10,74%	-4,68%	-7,32%
60' setelah	-8,88%	0,34%	16,15%	20,81%	20,77%	4,86%	-0,99%

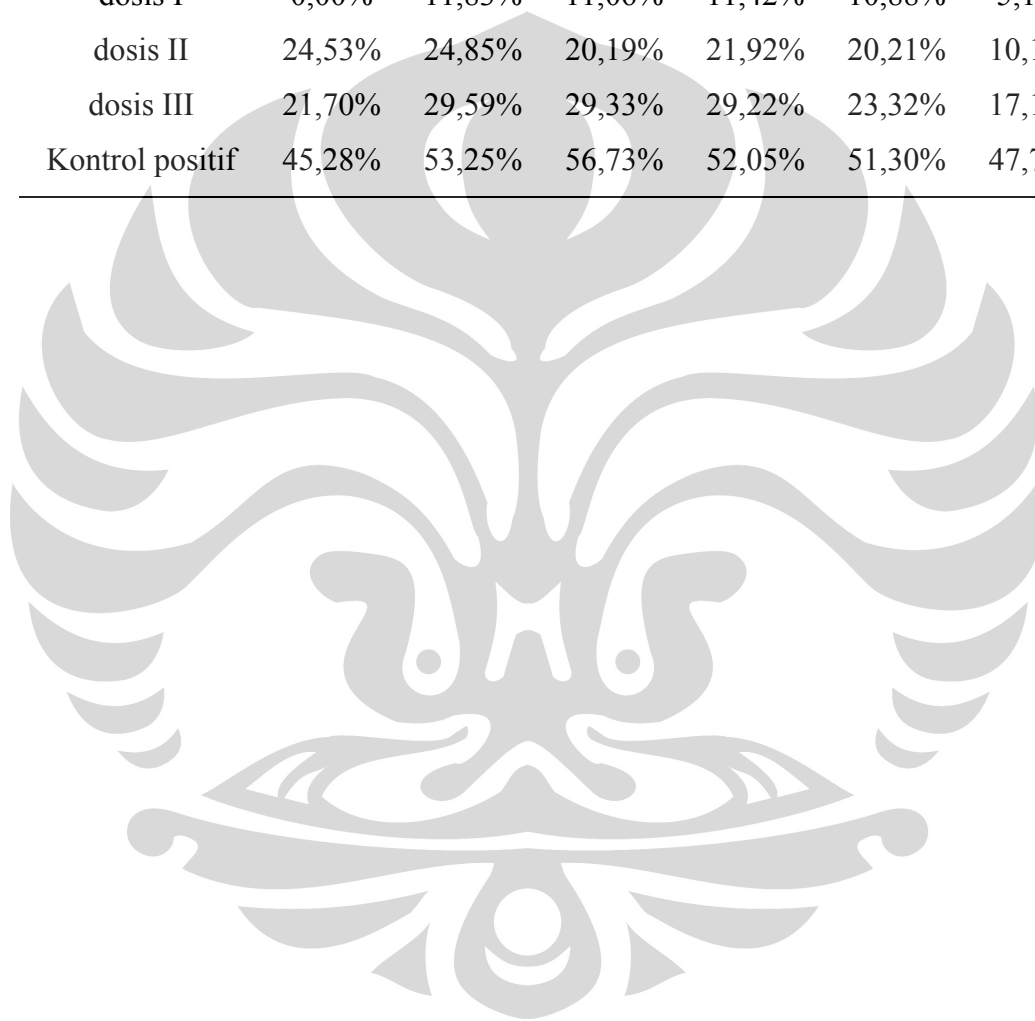
Tabel 4.7.
Volume udem pada pemberian dosis I, II, III, kontrol positif dan kontrol perlakuan per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus

Kelompok Perlakuan	N	Volume Udem (ml)						
		Jam 0	Jam I	Jam II	Jam III	Jam IV	Jam V	Jam VI
Kontrol Negatif	I	0,0090	0,0100	0,0162	0,0207	0,0210	0,0193	0,0192
	II	0,0100	0,0130	0,0190	0,0230	0,0233	0,0180	0,0180
	III	0,0067	0,0093	0,0182	0,0190	0,0210	0,0178	0,0167
	IV	0,0072	0,0082	0,0142	0,0185	0,0180	0,0185	0,0132
	V	0,0093	0,0127	0,0168	0,0230	0,0260	0,0230	0,0112
	rata - rata ± SD	0,0084 ±0,001	0,0106 ±0,002	0,0169 ±0,002	0,0208 ±0,002	0,0219 ±0,003	0,0193 ±0,002	0,0157 ±0,003
Dosis I	I	0,0063	0,0079	0,0121	0,0159	0,0160	0,0153	0,0123
	II	0,0092	0,0140	0,0200	0,0242	0,0250	0,0232	0,0202
	III	0,0069	0,0099	0,0110	0,0123	0,0132	0,0110	0,0092
	IV	0,0066	0,0079	0,0128	0,0210	0,0228	0,0198	0,0180
	V	0,0077	0,0132	0,0188	0,0190	0,0198	0,0168	0,0150
	rata - rata ± SD	0,0073 ±0,001	0,0106 ±0,003	0,0149 ±0,004	0,0185 ±0,005	0,0194 ±0,005	0,0172 ±0,005	0,0149 ±0,004
Dosis II	I	0,006	0,008	0,012	0,0177	0,0180	0,017	0,015
	II	0,007	0,01	0,018	0,0207	0,0210	0,020	0,019
	III	0,0049	0,0072	0,0092	0,0122	0,0127	0,011	0,0105
	IV	0,006	0,0063	0,0107	0,0132	0,0140	0,012	0,011
	V	0,0063	0,0083	0,0138	0,019	0,0200	0,017	0,015
	rata - rata ± SD	0,0060 ±0,0008	0,0080 ±0,001	0,0127 ±0,003	0,0166 ±0,004	0,0171 ±0,004	0,0154 ±0,004	0,0141 ±0,003
Dosis III	I	0,0068	0,0076	0,0098	0,0128	0,013	0,0118	0,0112
	II	0,0062	0,0070	0,0080	0,0125	0,0165	0,0165	0,0138
	III	0,0073	0,0095	0,0132	0,0159	0,018	0,0195	0,0160
	IV	0,0062	0,0090	0,0150	0,0165	0,016	0,0153	0,0138
	V	0,0067	0,0083	0,0135	0,0160	0,0138	0,0107	0,0098
	rata - rata ± SD	0,0066 ±0,0005	0,0083 ±0,001	0,0119 ±0,003	0,0147 ±0,002	0,0155 ±0,002	0,0148 ±0,004	0,0130 ±0,002
Kontrol Positif	I	0,0050	0,0063	0,0080	0,0100	0,0107	0,0053	0,0092
	II	0,0025	0,0033	0,0052	0,0068	0,0108	0,0090	0,0088
	III	0,0070	0,0078	0,0090	0,0100	0,0102	0,0132	0,0070
	IV	0,0042	0,0052	0,0105	0,0092	0,0114	0,0072	0,0090
	V	0,0045	0,0062	0,0070	0,0092	0,0095	0,0122	0,0072
	rata - rata ± SD	0,0046 ±0,002	0,0058 ±0,002	0,0079 ±0,002	0,0090 ±0,001	0,0105 ±0,0007	0,0094 ±0,003	0,0082 ±0,001

Tabel. 4.8

Persentase penghambatan udem rata – rata pada pemberian dosis I, II, III, dan kontrol positif per oral 60 menit sebelum diinduksi dengan 0,4 ml karaginan 2% pada telapak kaki tikus

perlakuan	jam I	jam II	jam III	jam IV	jam V	jam VI
dosis I	0,00%	11,83%	11,06%	11,42%	10,88%	5,10%
dosis II	24,53%	24,85%	20,19%	21,92%	20,21%	10,19%
dosis III	21,70%	29,59%	29,33%	29,22%	23,32%	17,19%
Kontrol positif	45,28%	53,25%	56,73%	52,05%	51,30%	47,77%





Lampiran 1.

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 <i>Diclofenac Sodium</i>			
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 %	None	
	Diclofenac related compound A		
	N-(2,6-Dichlorophenyl)indolin-2-one	None	
	Not more than 0.1 %		
Individual impurity	Not more than 0.5 %	None	
	Total impurity		
	Assay	99.0 % to 101.0 % (dried basis)	100.2 %
Conclusion : Passed			

Lampiran 2.

Sertifikat Determinasi Serbuk Kulit Buah Delima Merah dari LIPI Cibinong



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 Maret 2010

Nomor : 278/IPH.1.02/If.8/III/2010
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Sandy

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	Delima Merah	<i>Punica granatum</i> L.	Punicaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plh. Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


 Dr. Wahyu Widiyono, M.Si.
 NIP. 195703221985031002

Lampiran 3.

Sertifikat Analisa Kandungan Ekstrak Kulit Buah Delima Merah dari Balitro

**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.
Sandy Cahyadi
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.

Penentuan Dosis uji dan Jumlah Penggunaan Hewan Coba

1. Penetapan jumlah hewan coba tiap kelompok

Dengan menggunakan rumus Federer :

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

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

$$4t - 4 \geq 15$$

$$4t \geq 19$$

$$t \geq 4,75$$

$$t \approx 5$$

dimana, n merupakan jumlah kelompok perlakuan dan t merupakan pengulangan uji. Jadi, jumlah tikus yang diperlukan untuk tiap kelompok adalah 5 ekor.

2. Penetapan dosis

Disesuaikan dengan dosis pada penelitian sebelumnya mengenai efek antiinflamasi, yaitu 20 mg/200 g bb.

a) Bahan Uji I

$$20 \text{ mg}/200 \text{ g bb tiap } 3 \text{ ml} \approx 20 \text{ mg}/3 \text{ ml} = 6,7 \text{ mg/ml} = 0,67\%$$

b) Bahan Uji II

$$40 \text{ mg}/200 \text{ g bb tiap } 3 \text{ ml} \approx 40 \text{ mg}/3 \text{ ml} = 13,3 \text{ mg/ml} = 1,33\%$$

c) Bahan Uji III

$$80 \text{ mg}/200 \text{ g bb tiap } 3 \text{ ml} \approx 80 \text{ mg}/3 \text{ ml} = 26,7 \text{ mg/ml} = 2,67\%$$

d) Natrium diklofenak

Dosis lazim harian untuk natrium diklofenak adalah 150 mg/hari. Jadi, dosis pada tikus adalah:

$$150 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 27 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus.}$$

Lampiran 5.
Pembuatan Larutan Uji dan CMC 0,5%

1. Pemberian bahan uji untuk tikus ditetapkan 3 ml tiap perlakuan, maka kadar larutan induk yang dibuat dari bahan uji III adalah 2,67%. persediaan yang ingin dibuat sejumlah 40 ml, maka jumlah ekstrak kulit buah delima merah yang dibutuhkan adalah:

$$2,67\% \times 40 \text{ ml} = 1,068 \text{ g}$$

Jadi, timbang 1,068 g ekstrak kulit buah delima, lalu ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 40,0 ml. Jika 1 ekor tikus membutuhkan 3 ml bahan uji, maka untuk 5 ekor tikus (200 g) dibutuhkan volume sebesar 15 ml.

2. Pembuatan bahan uji II

Ambil 11,25 ml larutan induk, lalu ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 22,5 ml.

3. Pembuatan bahan uji I

Ambil 7,5 ml bahan uji II, lalu ditambahkan dengan CMC 0,5% hingga 15,0 ml.

Pembuatan *stock* CMC 0,5% untuk 5 perlakuan:

- | | |
|------------------------------------|----------------------------|
| 1. Dosis I | = 40 ml |
| 2. Dosis II | = 11,25 ml |
| 3. Dosis III | = 7,5 ml |
| 4. Na – diklofenak: 3 ml x 5 ekor | = 15 ml |
| 5. Kontrol negatif : 3 ml x 5 ekor | = 15 ml |
| Jumlah | = 88,75 ml \approx 90 ml |

Lampiran 6.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 0

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J_0

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
 H_0 = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 H_a = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak
 Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima
- Hasil :

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J0	1,00	,905	5	,441
	2,00	,889	5	,350
	3,00	,940	5	,669
	4,00	,901	5	,413
	5,00	,966	5	,851

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : H_0 diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J_0

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
 H_0 = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 H_a = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,629	4	20	,206

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem homogen

6.3. Uji ANAVA terhadap seluruh kelompok uji pada J_0

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

ANAVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	4	,000	7,461	,001
Within Groups	,000	20	,000		
Total	,000	24			

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_0

6.4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terhadap seluruh kelompok uji pada J_0

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Hipotesis :
 H_0 = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 H_a = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak
 Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima
- Hasil :

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
1,00	2,00	,0011000	,0007362	,151	-,000436	,002636
	3,00	,0024000(*)	,0007362	,004	,000864	,003936
	4,00	,0018000(*)	,0007362	,024	,000264	,003336
	5,00	,0038000(*)	,0007362	,000	,002264	,005336
2,00	1,00	-,0011000	,0007362	,151	-,002636	,000436
	3,00	,0013000	,0007362	,093	-,000236	,002836
	4,00	,0007000	,0007362	,353	-,000836	,002236
	5,00	,0027000(*)	,0007362	,002	,001164	,004236
3,00	1,00	-,0024000(*)	,0007362	,004	-,003936	-,000864
	2,00	-,0013000	,0007362	,093	-,002836	,000236
	4,00	-,0006000	,0007362	,425	-,002136	,000936
	5,00	,0014000	,0007362	,072	-,000136	,002936
4,00	1,00	-,0018000(*)	,0007362	,024	-,003336	-,000264
	2,00	-,0007000	,0007362	,353	-,002236	,000836
	3,00	,0006000	,0007362	,425	-,000936	,002136
	5,00	,0020000(*)	,0007362	,013	,000464	,003536
5,00	1,00	-,0038000(*)	,0007362	,000	-,005336	-,002264
	2,00	-,0027000(*)	,0007362	,002	-,004236	-,001164
	3,00	-,0014000	,0007362	,072	-,002936	,000136
	4,00	-,0020000(*)	,0007362	,013	-,003536	-,000464

- Kesimpulan : H_0 ditolak pada kelompok kontrol negatif terhadap keempat kelompok lainnya, namun tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis.

Lampiran 7.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 1

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₁

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J1	1,00	,895	5	,384
	2,00	,852	5	,201
	3,00	,975	5	,908
	4,00	,973	5	,896
	5,00	,963	5	,826

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₁

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,629	4	20	,039

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume udem tidak homogen

6.3. Uji Kruskal - Wallis terhadap seluruh kelompok uji pada J_1

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

	J_1
Chi-Square	13,405
Df	4
Asymp. Sig.	,009

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_1

6.4. Uji Mann - Whitney terhadap seluruh kelompok uji pada J_1

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan

- Hipotesis :
 Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 Ha = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

	Kelompok	Asymp. Sig (2 – tailed)
Kontrol Negatif	Dosis I	,917
	Dosis II	,059
	Dosis III	,076
	Kontrol Positif	,009
Dosis I	Dosis II	,249
	Dosis III	,173
	Kontrol Positif	,009
Dosis II	Dosis III	,675
	Kontrol Positif	,036
Dosis III	Kontrol Positif	,028

- Kesimpulan : Ho diterima pada kelompok kontrol negatif terhadap ketiga kelompok dosis. Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis dengan kontrol positif. Tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis.

Lampiran 8.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 2

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₂

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J2	1,00	,971	5	,884
	2,00	,841	5	,167
	3,00	,945	5	,705
	4,00	,919	5	,521
	5,00	,998	5	,999

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₂

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,629	4	20	,085

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem homogen

6.3. Uji ANAVA terhadap seluruh kelompok uji pada J_2

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

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	4	,000	6,403	,002
Within Groups	,000	20	,000		
Total	,000	24			

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_2

6.4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terhadap seluruh kelompok uji pada J_2

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan

- Hipotesis :
 Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 Ha = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
1,00	2,00	,0019400	,0018876	,316	-,001997	,005877
	3,00	,0041400(*)	,0018876	,040	,000203	,008077
	4,00	,0049800(*)	,0018876	,016	,001043	,008917
	5,00	,0089400(*)	,0018876	,000	,005003	,012877
2,00	1,00	-,0019400	,0018876	,316	-,005877	,001997
	3,00	,0022000	,0018876	,258	-,001737	,006137
	4,00	,0030400	,0018876	,123	-,000897	,006977
	5,00	,0070000(*)	,0018876	,001	,003063	,010937
3,00	1,00	-,0041400(*)	,0018876	,040	-,008077	-,000203
	2,00	-,0022000	,0018876	,258	-,006137	,001737
	4,00	,0008400	,0018876	,661	-,003097	,004777
	5,00	,0048000(*)	,0018876	,019	,000863	,008737
4,00	1,00	-,0049800(*)	,0018876	,016	-,008917	-,001043
	2,00	-,0030400	,0018876	,123	-,006977	,000897
	3,00	-,0008400	,0018876	,661	-,004777	,003097
	5,00	,0039600(*)	,0018876	,049	,000023	,007897
5,00	1,00	-,0089400(*)	,0018876	,000	-,012877	-,005003
	2,00	-,0070000(*)	,0018876	,001	-,010937	-,003063
	3,00	-,0048000(*)	,0018876	,019	-,008737	-,000863
	4,00	-,0039600(*)	,0018876	,049	-,007897	-,000023

- Kesimpulan : Ho ditolak pada kelompok kontrol negatif terhadap keempat kelompok lainnya dan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis II serta III, namun tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis.

Lampiran 9.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 3

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₃

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J3	1,00	,859	5	,226
	2,00	,992	5	,987
	3,00	,909	5	,459
	4,00	,795	5	,073
	5,00	,779	5	,054

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₃

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,183	4	20	,035

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume udem tidak homogen

6.3. Uji Kruskal - Wallis terhadap seluruh kelompok uji pada J_3

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

	J1
Chi-Square	15,876
df	4
Asymp. Sig.	,003

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_3

6.4. Uji Mann - Whitney terhadap seluruh kelompok uji pada J_3

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan

- Hipotesis :
 H_0 = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 H_a = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak
 Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima
- Hasil :

	Kelompok	Asymp. Sig (2 – tailed)
Kontrol Negatif	Dosis I	,528
	Dosis II	,073
	Dosis III	,009
	Kontrol Positif	,008
Dosis I	Dosis II	,402
	Dosis III	,295
	Kontrol Positif	,009
Dosis II	Dosis III	,347
	Kontrol Positif	,009
Dosis III	Kontrol Positif	,009

- Kesimpulan : H_0 ditolak pada kelompok kontrol negatif terhadap dosis III dan kontrol positif. Tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis. Terdapat perbedaan bermakna antara ketiga kelompok dosis dengan kontrol positif.

Lampiran 10.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 4

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₄

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
J4	1,00	,969	5	,868
	2,00	,966	5	,852
	3,00	,908	5	,459
	4,00	,950	5	,737
	5,00	,977	5	,918

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₄

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,745	4	20	,020

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume udem tidak homogen

6.3. Uji Kruskal - Wallis terhadap seluruh kelompok uji pada J₄

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

	J1
Chi-Square	16,141
df	4
Asymp. Sig.	,003

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J₄

6.4. Uji Mann - Whitney terhadap seluruh kelompok uji pada J_4

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Hipotesis :
 Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 Ha = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

	Kelompok	Asymp. Sig (2 – tailed)
Kontrol Negatif	Dosis I	,346
	Dosis II	,056
	Dosis III	,012
	Kontrol Positif	,009
Dosis I	Dosis II	,465
	Dosis III	,209
	Kontrol Positif	,009
Dosis II	Dosis III	,402
	Kontrol Positif	,009
Dosis III	Kontrol Positif	,009

- Kesimpulan : Ho ditolak pada kelompok kontrol negatif terhadap kelompok dosis III dan kontrol positif. Tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok dosis.

Lampiran 11.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 5

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₅

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J ₅	1,00	,778	5	,053
	2,00	,995	5	,994
	3,00	,903	5	,429
	4,00	,956	5	,777
	5,00	,946	5	,707

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₅

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,885	4	20	,490

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem homogen

6.3. Uji ANAVA terhadap seluruh kelompok uji pada J_5

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

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	4	,000	5,396	,004
Within Groups	,000	20	,000		
Total	,000	24			

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_5

6.4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terhadap seluruh kelompok uji pada J_5

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan

- Hipotesis :
 Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
 Ha = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
1,00	2,00	,0021000	,0022608	,364	-,002616	,006816
	3,00	,0039200	,0022608	,098	-,000796	,008636
	4,00	,0045600	,0022608	,057	-,000156	,009276
	5,00	,0099400(*)	,0022608	,000	,005224	,014656
2,00	1,00	-,0021000	,0022608	,364	-,006816	,002616
	3,00	,0018200	,0022608	,430	-,002896	,006536
	4,00	,0024600	,0022608	,289	-,002256	,007176
	5,00	,0078400(*)	,0022608	,002	,003124	,012556
3,00	1,00	-,0039200	,0022608	,098	-,008636	,000796
	2,00	-,0018200	,0022608	,430	-,006536	,002896
	4,00	,0006400	,0022608	,780	-,004076	,005356
	5,00	,0060200(*)	,0022608	,015	,001304	,010736
4,00	1,00	-,0045600	,0022608	,057	-,009276	,000156
	2,00	-,0024600	,0022608	,289	-,007176	,002256
	3,00	-,0006400	,0022608	,780	-,005356	,004076
	5,00	,0053800(*)	,0022608	,027	,000664	,010096
5,00	1,00	-,0099400(*)	,0022608	,000	-,014656	-,005224
	2,00	-,0078400(*)	,0022608	,002	-,012556	-,003124
	3,00	-,0060200(*)	,0022608	,015	-,010736	-,001304
	4,00	-,0053800(*)	,0022608	,027	-,010096	-,000664

• * The mean difference is significant at the .05 level.

- Kesimpulan : Ho ditolak pada kelompok kontrol positif terhadap keempat kelompok lainnya. Kelompok kontrol negatif dengan ketiga kelompok dosis tidak ada perbedaan bermakna.

Lampiran 12.

Uji Statistik terhadap Volume Udem Seluruh Kelompok Uji pada Jam ke - 6

6.1. Uji Normalitas (Uji Saphiro - Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada J₆

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

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
J6	1,00	,931	5	,605
	2,00	,981	5	,938
	3,00	,908	5	,455
	4,00	,950	5	,739
	5,00	,812	5	,101

Keterangan:

1. Kontrol Negatif
2. Dosis I
3. Dosis II
4. Dosis III
5. Kontrol Positif

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem terdistribusi normal.

6.2. Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada J₆

- Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- Hipotesis :
Ho = data volume udem berasal dari populasi yang terdistribusi normal
Ha = data volume udem berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,885	4	20	,140

- Kesimpulan : Ho diterima, berarti data volume udem homogen

6.3. Uji ANAVA terhadap seluruh kelompok uji pada J_6

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

ANOVA					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	4	,000	4,357	,011
Within Groups	,000	20	,000		
Total	,000	24			

- Kesimpulan : Ho ditolak, berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan pada J_6

6.4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terhadap seluruh kelompok uji pada J_6

- Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Hipotesis :
Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
Ha = terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem antara lima kelompok perlakuan
- Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- Hasil :

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	2,00	,0007200	,0019917	,722	-,003435	,004875
	3,00	,0015600	,0019917	,443	-,002595	,005715
	4,00	,0027400	,0019917	,184	-,001415	,006895
	5,00	,0074200(*)	,0019917	,001	,003265	,011575
2,00	1,00	-,0007200	,0019917	,722	-,004875	,003435
	3,00	,0008400	,0019917	,678	-,003315	,004995
	4,00	,0020200	,0019917	,323	-,002135	,006175
	5,00	,0067000(*)	,0019917	,003	,002545	,010855
3,00	1,00	-,0015600	,0019917	,443	-,005715	,002595
	2,00	-,0008400	,0019917	,678	-,004995	,003315
	4,00	,0011800	,0019917	,560	-,002975	,005335
	5,00	,0058600(*)	,0019917	,008	,001705	,010015
4,00	1,00	-,0027400	,0019917	,184	-,006895	,001415
	2,00	-,0020200	,0019917	,323	-,006175	,002135
	3,00	-,0011800	,0019917	,560	-,005335	,002975
	5,00	,0046800(*)	,0019917	,029	,000525	,008835
5,00	1,00	-,0074200(*)	,0019917	,001	-,011575	-,003265
	2,00	-,0067000(*)	,0019917	,003	-,010855	-,002545
	3,00	-,0058600(*)	,0019917	,008	-,010015	-,001705
	4,00	-,0046800(*)	,0019917	,029	-,008835	-,000525

- Kesimpulan : Ho diterima pada kelompok kontrol negatif terhadap ketiga kelompok. Kelompok kontrol positif berbeda bermakna dengan keempat kelompok dosis lainnya.

Lampiran 13.
Skema Kerja Pelaksanaan Uji Antiinflamasi

