



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70%
RUMPUT MUTIARA (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.)
TERHADAP SISTEM IMUN PADA TIKUS ARTRITIS
REUMATOID YANG DIINDUKSI OLEH *COMPLETE*
*FREUND'S ADJUVANT***

SKRIPSI

**DITA ANDRIANI
0806398083**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70%
RUMPUT MUTIARA (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.)
TERHADAP SISTEM IMUN PADA TIKUS ARTRITIS
REUMATOID YANG DIINDUKSI OLEH *COMPLETE*
*FREUND'S ADJUVANT***

SKRIPSI

**DITA ANDRIANI
0806398083**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

ii

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 6 Juli 2012



Dita Andriani

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Dita Andriani

NPM : 0806398083

Tanda Tangan : 

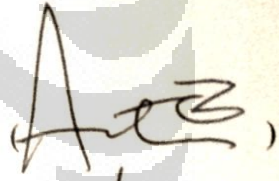
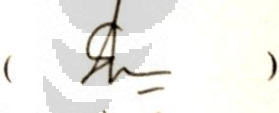


Tanggal : 6 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Dita Andriani
NPM : 0806398083
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) terhadap Sistem Imun pada Tikus Artritis Reumatoid yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed., Apt. ()
Pembimbing II : Santi Purna Sari, S.Si., M.Si. ()
Penguji I : Dra. Juheini Amin, M.Si, Apt. ()
Penguji II : Dr. Berna Elya, M.S., Apt. ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 6 Juli 2012

KATA PENGANTAR

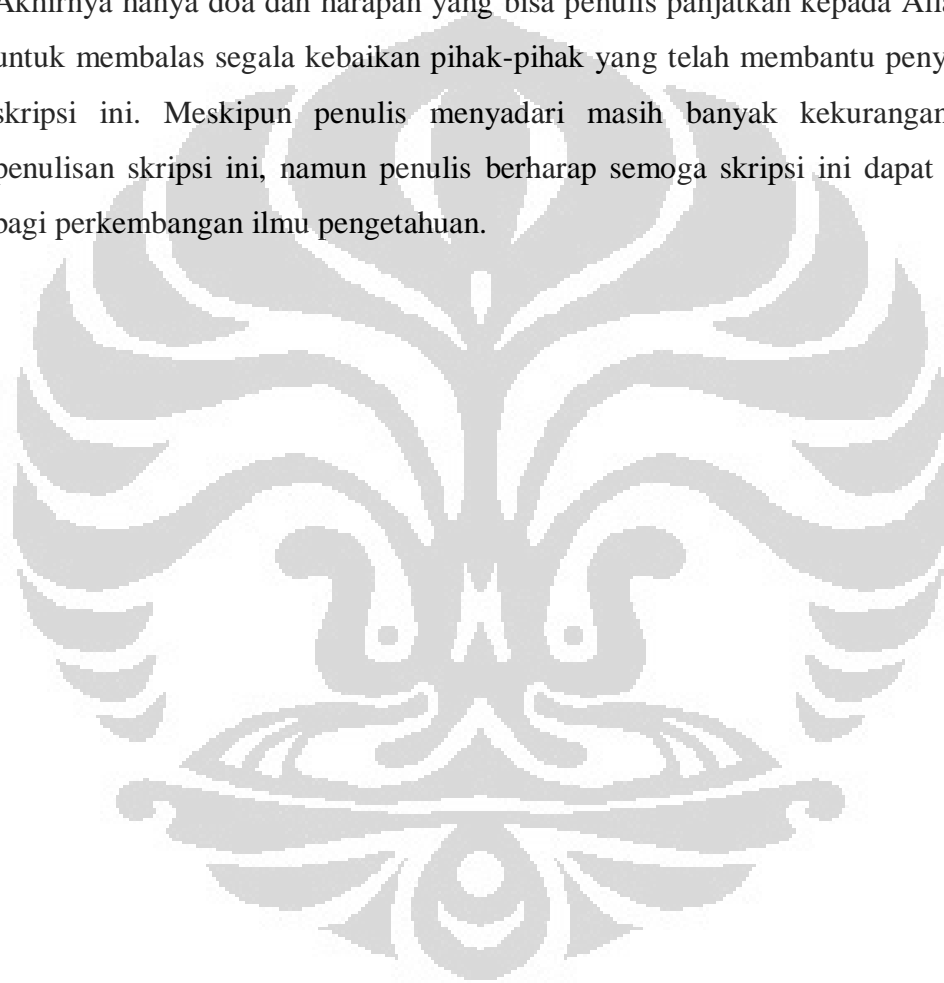
Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, kasih sayang, dan karuniaNya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini bukan hanya atas hasil usaha sendiri, melainkan karena bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak awal masa perkuliahan, penelitian, dan sampai pada penyusunan skripsi ini. Tanpa mereka, sulit rasanya penulis sampai pada tahap penyelesaian skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin sekali mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed., Apt. selaku pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktunya untuk memberikan arahan, bimbingan, nasehat, dan saran dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
2. Ibu Santi Purna Sari, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, dan bimbingan untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi;
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini;
4. Ibu Dra. Retnosari Andrajati, M.S., Ph.D, Apt. selaku Kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan nasehat dan ijin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium yang dipimpinnya.
5. Ibu Dr. Dra. Berna Elya, M.Si., Apt., selaku pembimbing akademik dan koordinator pendidikan S1 Farmasi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan ijin untuk dapat melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
6. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;

7. Papah, Mamah, Ardi dan Fachri yang telah memberikan doa, kasih sayang, semangat dan dukungan penuh selama masa perkuliahan, penelitian, penyusunan skripsi, dan seluruh keluarga besar untuk dukungan dan doa yang tiada hentinya.
8. Mawar, Ka Indana, Melda, Nada, Rizka dan Dika yang telah membantu dan menemani melewati suka duka selama masa penelitian terima kasih atas dukungan dan semangat yang sudah diberikan.

Akhirnya hanya doa dan harapan yang bisa penulis panjatkan kepada Allah SWT untuk membalas segala kebaikan pihak-pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini. Meskipun penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.



Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Dita Andriani
NPM : 0806398083
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demikian 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 :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) terhadap Sistem Imun pada Tikus Arthritis Reumatoid yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*

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 : 6 Juli 2012
Yang menyatakan



(Dita Andriani)

ABSTRAK

Nama : Dita Andriani
Program Studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) terhadap Sistem Imun pada Tikus Arthritis Reumatoid yang Diinduksi oleh *Complete Freund's Adjuvant*

Arthritis reumatoid merupakan penyakit otoimun yang ditandai dengan inflamasi kronik pada daerah persendian. Rumput mutiara sering digunakan dalam terapi inflamasi dalam praktik pengobatan herbal, tetapi belum banyak data yang mendukung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiarthritis ekstrak etanol 70% rumput mutiara diamati dari penurunan volume udem telapak kaki tikus yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) serta pengaruhnya terhadap sistem imun diamati dari jumlah leukosit, limfosit serta granulosit. Penelitian ini menggunakan 36 tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*, dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok kontrol normal dan kontrol induksi, keduanya diberikan CMC 0,5%, kelompok kontrol diklofenak diberikan suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus, kelompok variasi dosis diberikan ekstrak etanol 70% rumput mutiara dengan variasi dosis berturut-turut, 28,06 mg; 63,14 mg; dan 142,07 mg/200 g bb tikus. Semua kelompok diinduksi dengan 0,1 ml CFA pada hari ke-1 kecuali kontrol normal. Bahan uji diberikan satu kali sehari secara oral pada hari ke-2 sampai 28. Pengukuran volume telapak kaki dilakukan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28 setelah induksi, dan penghitungan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit dilakukan pada hari ke-14 dan 28. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% rumput mutiara dengan variasi dosis yang diberikan belum mampu menurunkan volume udem, tetapi mampu menurunkan jumlah leukosit, limfosit serta granulosit secara signifikan pada kelompok dosis 142,07 mg/200 g bb.

Kata kunci : arthritis, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Hedyotis corymbosa* L. Lamk., rumput mutiara, sistem imun
xiii+111 halaman; 13 gambar; 11 tabel; 19 lampiran
Daftar Pustaka : 60 (1980-2012)

ABSTRACT

Name : Dita Andriani
Program Study : Pharmacy
Title : Effect of 70% Ethanolic of Pearl Grass Extracts (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) on Immune System in Rheumatoid Arthritis Rat Induced by Complete Freund's Adjuvant

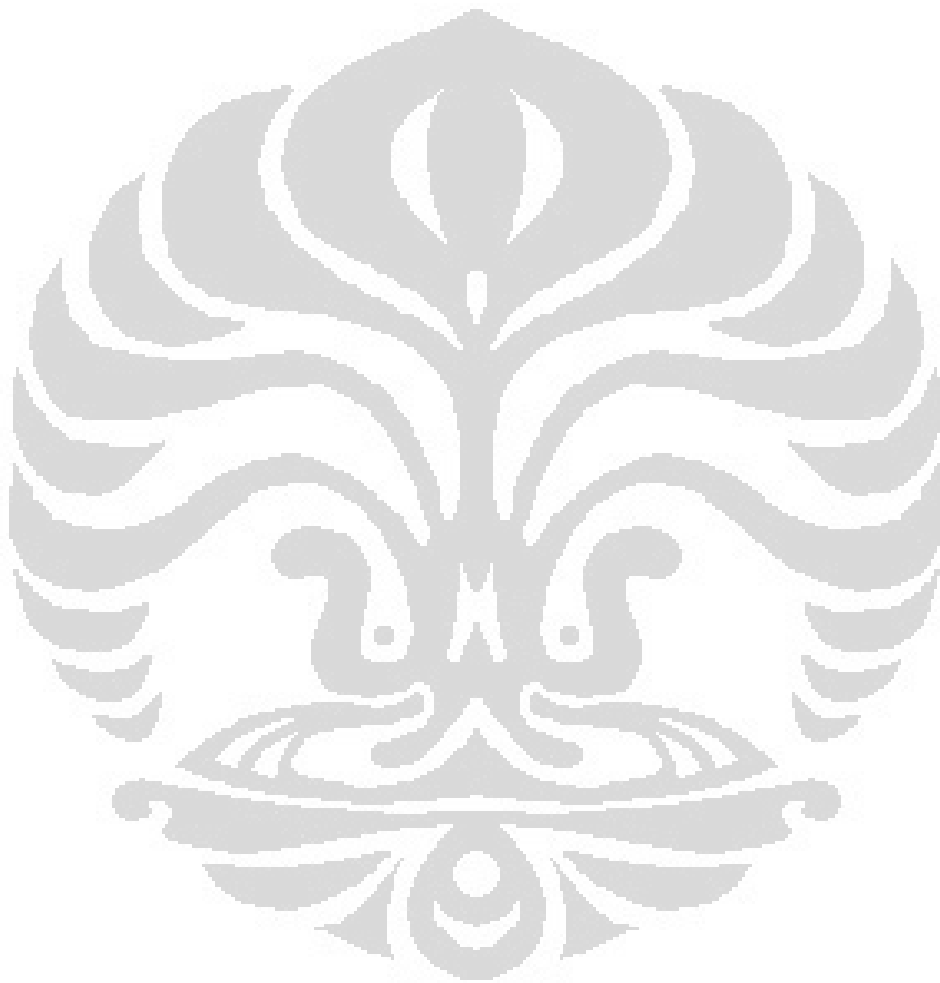
Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease characterized by chronic inflammation in the joints. Pearl grass are often used in inflammation therapy in the practice of herbal medicine, but not a lot of data that support. This study aimed to determine the anti-arthritic effect of 70% ethanolic extract of pearl grass in terms of reduction in edema volume on rat foot induced by Complete Freund's Adjuvant (CFA) and its influence on the immune system in terms of the number of leukocytes, lymphocytes and granulocytes. This study used 36 male white rats Sprague-Dawley strain, were divided into 6 groups. Normal control and induction control group, both given 0.5% CMC, the diclofenac control group given a suspension of sodium diclofenac 1 mg/200 g bw, the dose variation is given by the variation of pearl grass extract consecutive doses, 28,06 mg; 63,14 mg; dan 142,07 mg/200 g bw. All the groups induced with 0,1 ml of CFA on day-1 except for the normal controls. Test material administered orally once daily on days 2 through 28. Foot-pad volume measurements performed on days 7, 14, 21 and 28 after induction, and the number of leukocytes, lymphocytes and granulocytes counted on day 14 and 28. The results showed that the extract of pearl grass with a given dose variations have not been able to reduce the volume of edema, but can decrease leukocytes, lymphocytes and granulocytes in a significant at 142,07 mg/200 g bw dose groups.

Keywords : arthritis, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), *Hedyotis corymbosa* L. Lamk., immune system, pearl grass
xiii+111 pages ; 13 pictures; 11 tables; 19 appendices
Bibliography : 60 (1980-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Jenis dan Metode Penelitian	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Rumput Mutiara	4
2.2 Arthritis Reumatoid	6
2.3 Inflamasi	13
2.4 Sistem Imun	14
2.5 Metode Induksi Arthritis Reumatoid	17
2.6 Pengukuran Udem	20
2.7 Penghitungan Jumlah Sel Darah	20
2.8 Metode Ekstraksi	21
BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1 Tempat dan Waktu	24
3.2 Alat	24
3.3 Bahan	24
3.4 Hewan Uji	24
3.5 Prosedur Kerja	25
3.6 Analisis Data	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Penyiapan Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara	33
4.2 Penetapan Rendemen dan Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Rumput Mutiara	33
4.3 Uji Efek Antiarthritis	35
4.4 Uji Pengaruh Pada Sistem Imun	41
4.5 Hubungan Arthritis Reumatoid dengan Sistem Imun	49

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR ACUAN	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Rumput mutiara (<i>Hedyotis corymbosa</i> L. Lamk.) (a), bagian rumput mutiara yang berbunga (b)	5
Gambar 2.2.	Mekanisme patogenesis artritis reumatoid dan hubungannya dengan sistem imun.....	9
Gambar 3.1.	Pengukuran volume udem pada telapak kaki tikus menggu- nakan pletismometer	59
Gambar 3.2.	Pengambilan sampel darah dari sinus orbital	59
Gambar 3.3.	<i>Hematology analyzer</i> (Medonic M-series)	60
Gambar 4.1.	Ekstrak kental etanol rumput mutiara	33
Gambar 4.2.	Grafik volume udem rata-rata pada hari ke-1 (sebelum induksi), 7, 14, 21 dan 28 setelah induksi	36
Gambar 4.3.	Perbandingan persentase penghambatan udem tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah induksi	40
Gambar 4.4.	Perbandingan jumlah rata-rata leukosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	43
Gambar 4.5.	Perbandingan jumlah rata-rata limfosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	46
Gambar 4.6.	Perbandingan jumlah rata-rata granulosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	48
Gambar 4.7.	Limfa tikus.....	60
Gambar 4.8.	Perbandingan telapak kaki tikus normal (a) dan yang diinduksi dengan <i>Complete Freund's Adjuvant</i> (b)	50

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Kelompok perlakuan hewan uji.....	30
Tabel 4.1.	Hasil uji kualitatif ekstrak etanol 70% rumput mutiara.....	34
Tabel 4.2.	Volume udem rata-rata tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28 setelah induksi	35
Tabel 4.3.	Persentase penghambatan udem tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28 setelah induksi.....	38
Tabel 4.4.	Jumlah rata-rata leukosit pada tiap kelompok perlakuan pada pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	42
Tabel 4.5.	Jumlah rata-rata limfosit dari tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	45
Tabel 4.6.	Jumlah rata-rata granulosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi	47
Tabel 4.7.	Berat rata-rata limfa pada tiap kelompok perlakuan.....	49
Tabel 4.8.	Volume telapak kaki tikus pada hari ke-1 hingga hari ke-28.....	61
Tabel 4.9.	Jumlah leukosit, limfosit dan granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14.....	63
Tabel 4.10.	Jumlah leukosit, limfosit dan granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Penentuan dosis dan pembuatan suspensi natrium diklofenak	67
Lampiran 2.	Perhitungan dosis dan pembuatan suspensi ekstrak etanol 70% rumput mutiara.....	68
Lampiran 3.	Penentuan persentase penghambatan volume udem rata-rata.....	69
Lampiran 4.	Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-7 (SPSS 18.0).....	70
Lampiran 5.	Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0).....	74
Lampiran 6.	Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-21 (SPSS 18.0).....	78
Lampiran 7.	Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0).....	82
Lampiran 8.	Uji statistik terhadap data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)	86
Lampiran 9.	Uji statistik terhadap data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)	88
Lampiran 10.	Uji statistik terhadap data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)	92
Lampiran 11.	Uji statistik terhadap data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)	94
Lampiran 12.	Uji statistik terhadap data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)	98
Lampiran 13.	Uji statistik terhadap data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)	100
Lampiran 14.	Uji statistik terhadap berat limfa seluruh kelompok hewan uji (SPSS 18.0).....	104
Lampiran 15.	Sertifikat analisis natrium diklofenak dari PT. Kimia Farma.....	106
Lampiran 16.	Sertifikat analisis <i>Complete Freund's Adjuvant</i> (CFA) dari Sigma-Aldrich.....	107
Lampiran 17.	Sertifikat determinasi tanaman rumput mutiara.....	108
Lampiran 18.	Sertifikat hewan uji	110
Lampiran 19.	Skema kerja pelaksanaan uji antiarthritis dan penghitungan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit	111

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem imun dalam tubuh manusia berfungsi dalam melindungi individu dari patogen yang menginfeksi. Meskipun sistem imun berguna dalam pertahanan tubuh, tetapi peningkatan sensitivitas atau hiperaktivasi dari sistem imun dapat berakibat buruk bagi individu. Reaksi alergi merupakan contoh hipersensitivitas yang paling sederhana, sementara penyakit lain yang terkait dengan hipersensitivitas adalah penyakit otoimun. Penyakit otoimun merupakan penyakit yang belum diketahui penyebab pastinya. Peningkatan sensitivitas berupa penyerangan antibodi terhadap antigen diri sendiri merupakan salah satu karakteristik pada penyakit otoimun. Penyakit ini muncul dengan berbagai gejala. Arthritis reumatoid, lupus eritematosus sistemik dan *multiple sclerosis* merupakan contoh dari penyakit otoimun (Khurana & Berney, 2005; Lipsky, 2006).

Arthritis reumatoid merupakan penyakit otoimun yang paling umum, menyerang 1-1,5% populasi seluruh dunia (Khurana & Berney, 2005). Arthritis reumatoid merupakan penyakit inflamasi kronik, sistemik, dan otoimun yang belum diketahui penyebabnya (Lipsky, 2006; Cushnaghan & McDowell, 2007). Pada tahun 2000, Poliklinik Reumatologi RSUPN Cipto Mangunkusumo melaporkan arthritis reumatoid merupakan 4,1% dari seluruh kasus baru (Nasution, Sumariyono, 2007).

Arthritis reumatoid disebabkan oleh sistem imun yang terinisiasi tanpa sebab yang jelas. Reaksi imun yang terinisiasi ini yang menyebabkan timbulnya inflamasi pada sendi melalui mekanisme pengaktifan faktor-faktor pencetus inflamasi, seperti limfosit dan makrofag. Meskipun arthritis reumatoid bukan merupakan penyakit yang memiliki angka mortalitas yang tinggi, tetapi RA dapat mengganggu produktivitas dari penderita (Khurana & Berney, 2005).

Terapi untuk RA umumnya hanya menyembuhkan gejala dari inflamasi tersebut, tetapi tidak mengobati penyebab penyakit tersebut. Terapi umum yang dilakukan pada pasien dengan arthritis reumatoid adalah dengan aintinflamasi non-

steroid (AINS) dengan tujuan menghilangkan rasa nyeri dan inflamasi yang ditimbulkan oleh artritis reumatoid. Terapi AINS yang sering digunakan dalam pengobatan adalah penghambat siklooksigenase (*COX-inhibitor*) karena harganya yang terjangkau dan mampu memberikan tujuan terapi seperti yang diharapkan yaitu menghilangkan rasa nyeri serta inflamasi. Akan tetapi, terapi ini banyak menghasilkan reaksi obat yang tidak diinginkan akibat rentang keamanan yang tidak terlalu lebar, sehingga menyebabkan toksisitas terutama pada saluran cerna berupa tukak dan perdarahan (Health Professions Division, 1996; Wilmana & Gan, 2007).

Pengobatan untuk artritis reumatoid saat ini banyak dikembangkan, baik sintetis maupun herbal. Obat yang selektif untuk artritis reumatoid telah banyak dikembangkan, tetapi harganya masih belum terjangkau untuk masyarakat. Oleh karena itu, penderita artritis reumatoid memilih pengobatan herbal sebagai pengobatan alternatif, terutama setelah mengetahui efek samping yang disebabkan oleh penggunaan obat golongan AINS.

Pengobatan herbal yang dipilih berdasarkan efek antiinflamasi yang dihasilkan. Salah satu klinik pengobatan herbal di daerah Depok banyak meresepkan serbuk rumput mutiara dalam bentuk kapsul sebagai terapi antiinflamasi (wawancara dengan dr. Ipak Ridmah Rikenawaty, 18 Januari 2012). Rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di Indonesia. Penelitian mengenai efek antiinflamasi dari ekstrak metanol pada beberapa spesies *Hedyotis* pernah dilakukan, tetapi masih sebatas uji *in vitro* (Ahmad et al., 2005).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% rumput mutiara terhadap artritis reumatoid. Efek penghambatan dilihat dari ukuran udem pada telapak kaki dan penurunan jumlah leukosit, granulosit serta limfosit total sebagai parameter antiartritis yang disebabkan oleh reaksi otoimun pada artritis reumatoid.

1.2 Perumusan Masalah

Masalah dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol 70% rumput mutiara memiliki efek sebagai antiartritis dan berpengaruh terhadap sistem imun diamati dari penurunan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit.

1.3 Jenis dan Metode Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan termasuk ke dalam penelitian farmakologi eksperimental. Penelitian ini menggunakan metode induksi artritis dengan menggunakan *adjuvant*. Tikus diinduksi secara subplantar dengan menggunakan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) sebagai model artritis reumatoid dan diberi perlakuan hingga hari 28. Parameter antiartritis diperoleh dari hasil pengamatan volume udem pada telapak kaki yang diinduksi menggunakan pletismometer dan penghitungan leukosit, limfosit dan granulosit dari sampel darah menggunakan *hematology analyzer*.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% tanaman rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) terhadap sistem imun pada tikus model artritis reumatoid yang diinduksi dengan CFA (*Complete Freund's Adjuvant*) ditinjau dari volume udem kaki dan jumlah leukosit, granulosit dan limfosit total.

1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol 70% rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) mampu menurunkan udem pada kaki dan menurunkan jumlah leukosit, granulosit dan limfosit total dalam darah tikus model artritis reumatoid yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant*.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Mutiara

2.1.1 Klasifikasi dan Tata Nama (United States Department of Agriculture, 2000)

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: <i>Hedyotis</i> / <i>Oldenlandia</i>
Jenis	: <i>Hedyotis corymbosa</i> L. Lamk.
Sinonim	: <i>Oldenlandia corymbosa</i> L. Lamk.

2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing

Rumput siku – siku, bunga telur belungkas; lidah ular [Jawa]; daun mutiara, rumput mutiara [Jakarta]; katepan, urek-urek pulo [Jawa]; pengka [Makassar]; Shu xian cao [Cina]; (Wijayakusuma et al., 1992; Depkes RI, 1995).

2.1.3 Deskripsi Tanaman

Rumput tumbuh rindang berserak, tinggi 15 – 50 cm, tumbuh subur pada tanah lembab, mempunyai banyak percabangan. Batang bersegi, daun berhadapan bersilang, tangkai daun pendek/hampir duduk, panjang daun 2 – 5 cm, ujung runcing, tulang daun satu di tengah. Ujung daun mempunyai rambut yang pendek. Bunga keluar dari ketiak daun, bentuknya seperti payung berwarna putih, berupa majemuk 2 – 5, tangkai bunga (induk) keras seperti kawat, panjangnya 5 – 10 mm. Buah bulat, ujungnya pecah-pecah (Wijayakusuma et al., 1992). Morfologi rumput mutiara dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 2.1.



[Sumber: Mishra, Dash, Swain & Dey, 2009, telah diolah kembali]

Gambar 2.1. Rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) (a), bagian rumput mutiara yang berbunga (b)

2.1.4 Kandungan Kimia

Beberapa studi fitokimia pada spesies *Hedyotis* termasuk *H. corymbosa*, menunjukkan hasil untuk alkaloid indol, antrakinon, lignin, triterpen, iridoid sebagai flavonoid (Kim et al., 2001; Lu et al., 2000; Phuong et al., 1999; Peng et al., 1998; Otsuka et al., 1991). *Hedyotis corymbosa* juga mengandung senyawa kimia stigmasterol, asam ursolat, asam oleonolat, β -sitosterol, stisterol-D-glukosida, asam p-kumarat dan glikosida (Wijayakusuma et al., 1992). Herba rumput mutiara mengandung flavonoid, tanin < 1%, triterpenoid, glikosid iridoid (Depkes RI, 1995).

2.1.5 Khasiat dan Penggunaan Tradisional

Rumput mutiara digunakan dalam pengobatan herbal di Indonesia untuk pengobatan: tonsilitas; faringitis; bronkitis; pneumonia; gondongan (*mumps*); radang usus buntu (*acute appendicitis*); hepatitis; *cholecystitis*; penyakit radang panggul (*pelvic inflammatory*); bisul (*carbuncle*); borok, kanker: lymphosarcoma, kanker lambung, kanker serviks, kanker payudara, kanker rektum, fibrosarcoma dan kanker nasofaring (Wijayakusuma, 1992; Ahmad; 2005). Selain itu, herba rumput mutiara digunakan juga untuk tukak lambung, disentri, habis bersalin, gangguan pencernaan dan antipiretik (Depkes RI, 1995).

Lin et al. (2002) menyatakan bahwa pengobatan tradisional Cina menggunakan campuran *Hedyotis corymbosa* dan *Hedyotis diffusa* untuk digunakan dalam pengobatan kanker. Campuran herbal tersebut juga dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dan hepatoprotektif dalam bentuk ekstrak metanol (Ahmad et al., 2005). *H. corymbosa* juga terbukti efektif sebagai hepatoprotektif (Sadasivan et al., 2006).

2.2 Arthritis Reumatoid

2.2.1 Definisi

Arthritis reumatoid merupakan penyakit otoimun sistemik. Inflamasi poliartritis secara simetris merupakan manifestasi klinik utama. Arthritis biasanya dimulai dari sendi kecil di tangan dan kaki, kemudian menyebar ke sendi yang lebih besar. Lapisan sendi yang mengalami inflamasi atau sinovium meluas kemudian menyebabkan erosi pada tulang rawan dan keras menyebabkan deformitas sendi dan kelainan fisik progresif (Symmons, Mathers & Pflger, et.al. 2006).

2.2.2 Epidemiologi

Prevalensi arthritis reumatoid rata-rata 0,8% dari populasi; wanita tiga kali lebih rentan dibandingkan pria. Umumnya arthritis reumatoid muncul pada pasien dengan umur 20 dan 60 tahun. arthritis reumatoid muncul di seluruh dunia dan berbagai macam ras (Lipsky, 2006).

2.2.3 Manifestasi Klinik

Poliartritis yang kronik merupakan karakteristik umum dari arthritis reumatoid. Inflamasi pada arthritis terjadi secara simetris, dimulai dari sendi yang kecil di tangan dan kaki kemudian menyebar ke sendi yang lebih besar (Lipsky, 2006).

2.2.4 Diagnosis

Arthritis reumatoid mudah didiagnosis pada pasien yang telah mencapai onset. Arthritis reumatoid menunjukkan karakteristik klinis yang khas setelah mencapai onset 1-2 tahun. Pada tahun 1987, *American Rheumatism Association* menyusun kriteria diagnosis untuk arthritis reumatoid (Daud, 2007):

1. Kaku pagi;
2. Arthritis pada 3 daerah persendian atau lebih;
3. Arthritis pada persendian tangan;
4. Arthritis simetris;
5. Nodul rheumatoid;
6. Faktor rheumatoid serum positif;
7. Perubahan gambaran radiologis: erosi atau dekalsifikasi tulang pada sendi.

Hasil uji laboratorium menunjukkan anemia normokromik, normositik; trombositosis atau trombositopenia; leukopenia; peningkatan laju endap eritrosit dan *C-reactive protein*; antibodi *anticyclic citrullinated peptide* positif dan antibodi antinukleat positif. Pemeriksaan cairan sinovial menunjukkan turbiditas, leukositosis, penurunan viskositas dan konsentrasi glukosa serum yang normal atau turun (Wells et al., 2009).

2.2.5 Patofisiologi dan Patogenesis

Reumatoid sinovitis ditengarai sebagai gejala awal terjadinya arthritis reumatoid. Peningkatan jumlah lapisan sinovial merupakan lesi awal dari reumatoid sinovium yang dikarakterisasi dengan peningkatan jumlah limfosit, makrofag dan fibroblast yang disekresikan. Produksi kemokin dan sitokin ini juga terlihat pada patologi dan manifestasi klinik arthritis reumatoid. Aktivitas kemokin dan sitokin, terutama fibroblast, yang berperan dalam menyebabkan inflamasi jaringan sinovial, inflamasi cairan sinovial, proliferasi sinovial, dan perusakan tulang rawan dan keras (Lipsky, 2006).

Inflamasi disebabkan adanya leukosit polimorfonukleat yang apabila berada di cairan sinovial, akan menyebabkan produksi metabolit reaktif oksigen

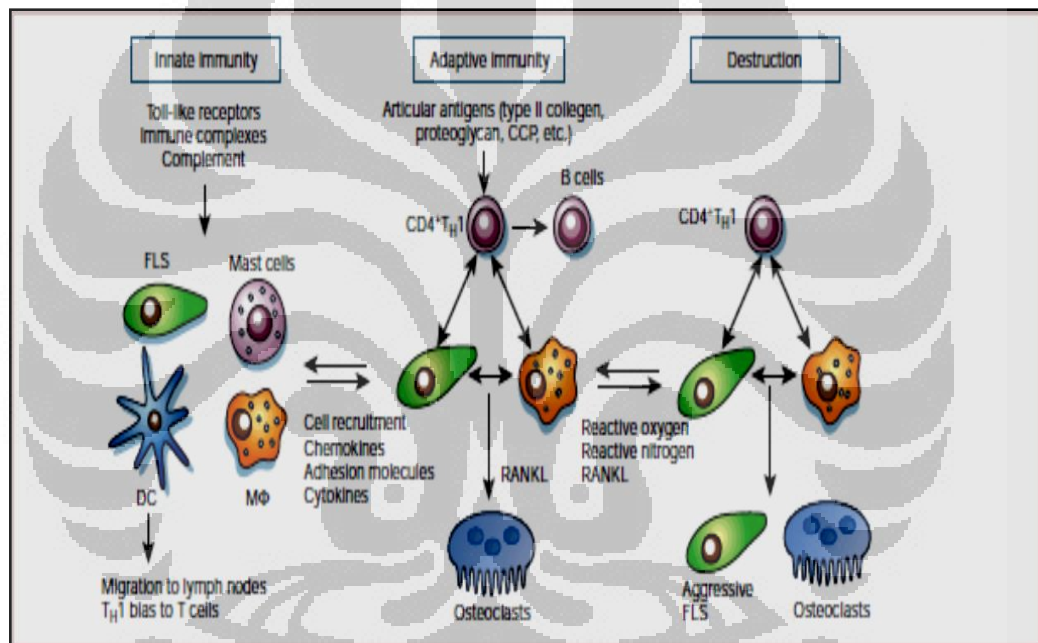
dan mediator inflamasi lain. Inflamasi ditandai oleh akumulasi sel darah putih, aktivasi komplemen, fagositosis ekstensif dan pembentukan jaringan parut. Sitokin dan kemokin yang diproduksi lokal dapat menstimulasi pembentukan leukosit polimorfonukleat. Selain itu, produksi siklooksigenase dan lipooksigenase pada cairan dan jaringan sinovial merupakan tanda dan gejala utama dari inflamasi (Lipsky, 2006; Corwin, 2008). Perubahan fase selular meliputi menepinya (marginasi) leukosit di sepanjang dinding kapiler karena aliran darah melambat (cairan dan protein bergerak keluar). Leukosit beremigrasi keluar dari pembuluh darah (*diapedesis*) dengan membentuk pseudopodia dan tertarik ke daerah peradangan (kemotaksis) (Price & Lorraine, 2003).

Inflamasi kronik, terutama pada sendi merupakan salah satu karakteristik dari artritis reumatoid. Terjadinya inflamasi kronik ini akibat terjadinya respon imun nonspesifik oleh suatu stimulus yang tidak diketahui dan dikarakterisasi melalui akumulasi makrofag dan sitokin lainnya (Lipsky, 2006). Umumnya konsentrasi limfosit cairan sendi pada pasien artritis reumatoid yang mengalami peningkatan ditemukan dalam darah (Winchester et al., 1974). Beberapa penelitian membuktikan bahwa pada hewan model artritis, neutrofil juga berkontribusi dalam menginisiasi dan meningkatkan keparahan dari artritis. Meskipun makrofag memiliki peranan penting dalam mengaktivasi sel T, tetapi jumlahnya pada tempat inflamasi lebih sedikit dibandingkan neutrofil (Wright, Moots, Bucknall & Edwards, 2010).

Mekanisme terjadinya inflamasi dan kerusakan pada sendi dimulai dari antigen. Akibat adanya suatu antigen, maka limfosit T akan terinduksi. Limfosit T yang teraktivasi menghasilkan sitokin yang mampu mengaktivasi limfosit B dan membentuk faktor reumatoid, sehingga terbentuk kompleks imun. Kompleks imun yang terbentuk menyebabkan kerusakan sendi. Aktivasi makrofag oleh sitokin menghasilkan fibroblas, *condrocyte* dan sel sinovial yang mampu merangsang pelepasan enzim-enzim yang menyebabkan inflamasi. Perusakan pada sendi serta aktivasi enzim-enzim inflamasi menyebabkan pembentukan *pannus*, penyerangan pada tulang rawan dan keras, fibrosis serta ankilosis (Rossenberg, 2005).

Pengendapan kompleks imun yang terjadi akibat pembentukan faktor reumatoid akan menyebabkan masuknya sel T ke dalam membran sinovial yang akan merangsang terbentuknya pannus yang bersifat destruktif. *Pannus* adalah jaringan granulasi yang terdiri dari makrofag yang teraktivasi, sel fibroblas yang berproliferasi dan jaringan mikrovaskular (Daud, 2007).

Perusakan tulang rawan dan tulang keras merupakan salah satu gejala yang disebabkan oleh inflamasi kronik. Kehilangan tulang inti akibat kelebihan resorpsi tulang dan/atau gangguan pada pembentukan tulang pada tempat erosi merupakan karakteristik dari penyakit inflamasi sendi, seperti artritis reumatoid (Lipsky, 2006; Bahtiar et al. 2011).



[sumber: Firestein, 2003, telah diolah kembali]

Gambar 2.2. Mekanisme patogenesis artritis reumatoid dan hubungannya dengan sistem imun

Perusakan tulang rawan dan keras berhubungan dengan keseimbangan antara resorpsi tulang dan pembentukan tulang oleh osteoklas dan osteoblas (Schett & Redlich, 2009). Ketidakseimbangan antara resorpsi tulang dengan pembentukan tulang disebabkan sekresi sitokin IL-1 dan TNF yang berperan dalam menstimulasi sel untuk memproduksi kolagenase dan protease. IL-1 dan

TNF juga berkontribusi dalam demineralisasi lokal dari tulang melalui pengaktifan osteoklas yang terakumulasi pada tulang. Erosi tulang disebabkan jumlah osteoklas yang terakumulasi pada tulang dalam jumlah yang sangat banyak. Peningkatan Prostaglandin E₂ yang diproduksi oleh fibroblas juga berperan dalam demineralisasi tulang. Ketidakmampuan osteoblas dalam untuk meningkatkan pembentukan tulang menyebabkan ketidakseimbangan resorpsi dan pembentukan tulang, sehingga terjadi pengeroposan tulang (Lipsky, 2006; Schett & Redlich, 2009).

2.2.6 Pengobatan Arthritis Reumatoid

Secara umum, tujuan terapi arthritis reumatoid adalah mengurangi gejala yang ditimbulkan akibat inflamasi berupa rasa sakit, pembengkakan dan kekakuan, serta melindungi sendi dari kerusakan lebih lanjut. Dikarenakan etiologi arthritis reumatoid yang tidak jelas dan patogenesis belum sepenuhnya dapat dijelaskan, terapi hanya bersifat mengurangi gejala bukan untuk menyembuhkan (Lipsky, 2006).

Berbagai terapi bekerja melalui supresi nonspesifik terhadap proses inflamasi atau imunologi dengan tujuan memperbaiki gejala dan mencegah kerusakan struktur artikular lebih lanjut. Terapi farmakologi yang umum dilakukan pada pasien arthritis reumatoid antara lain dengan pemberian Anti Inflamasi Non-steroid (AINS), glukokortikoid dan *Disease Modifying Antirheumatic Drugs* (DMARD) (Lipsky, 2006; Schett & Redlich, 2009).

2.2.6.1 Anti Inflamasi Non-steroid (AINS)

Obat golongan AINS merupakan obat yang paling banyak digunakan dalam terapi arthritis reumatoid. AINS umumnya merupakan pilihan obat utama dalam terapi arthritis reumatoid sebab sesuai dengan tujuan terapi yaitu mengurangi inflamasi yang terjadi. Obat-obat AINS merupakan obat dengan struktur kimia yang heterogen, tetapi memiliki banyak persamaan dan dalam efek terapi maupun efek samping. Mekanisme kerja AINS yang paling penting adalah menghambat produksi prostaglandin melalui kompetisi dengan asam arakidonat untuk berikatan

dengan sisi katalitik dari siklooksigenase (COX). Mekanisme penghambatan ini akan menyebabkan berkurangnya prostaglandin. Hal tersebut berperan dalam menghasilkan efek antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik dari obat golongan AINS (Health Professions Division, 1996; Wilmana & Gan, 2007).

Obat-obat golongan AINS menunjukkan kemampuan menghambat pelekatan neutrofil. Penurunan jumlah limfosit yang tersirkulasi atau pengaruh pada reaksi sistem imun aliran darah perifer dapat terlihat pada pasien artritis reumatoid dengan terapi AINS. Ini terjadi berkaitan dengan sistem imun lokal pada penyakit sendi yang diatur oleh AINS melalui pengurangan produksi prostaglandin (Førre et al., 1983). Pada dosis rendah, indometasin, aspirin, natrium salisilat, flurbiprofen dan fenilbutazon berpotensi menurunkan migrasi leukosit secara signifikan sebesar 20-70% (Higgs et al., 2002). Penggunaan AINS juga mampu menurunkan penghitungan leukosit, termasuk neutrofil, limfosit, monosit dan eosinofil (Behal, Singh Kanwar, Sharma & Sanyal, 2009). Obat golongan AINS menunjukkan kemampuan dalam menghambat pelekatan neutrofil, penurunan degranulasi dan produksi antioksidan, menginhibisi aktivitas elastase neutrofil, serta menginduksi apoptosis neutrofil (Wright, Moots, Bucknall & Edwards, 2010).

Berdasarkan mekanisme penghambatan enzim siklooksigenase, AINS dikelompokkan menjadi 2, yaitu non-selektif dan selektif. AINS selektif inhibitor bekerja secara spesifik pada sisi inflamasi (COX-2). AINS penghambat COX-2 menunjukkan keefektifan seperti AINS non-selektif, tetapi mampu mengurangi efek ulserasi pada saluran cerna. AINS penghambat COX-2 antara lain selekoksib, rofekoksib, etorikoksib, dan lumirakoksib.

Salah satu obat golongan AINS yang sering digunakan untuk mengatasi inflamasi dan nyeri adalah natrium diklofenak. Natrium diklofenak merupakan AINS derivat fenil asetat yang memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik serta memiliki potensi efek antiinflamasi kuat dengan efek samping yang lebih rendah jika dibandingkan dengan indometasin, naproxen dan piroxikam. Obat ini sering digunakan untuk mengatasi radang pada penyakit karena artritis (Health Professions Division, 1996).

Universitas Indonesia

Diklofenak diabsorpsi cepat dan sempurna setelah pemberian peroral. Konsentrasi plasma tercapai dalam 2-3 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. Diklofenak diakumulasi di cairan sinovial setelah pemberian oral, ini menjelaskan bahwa efek terapi di sendi jauh lebih panjang daripada waktu paruhnya. Dosis untuk radang akibat artritis adalah 100-150 mg sehari terbagi dalam 2 atau 3 dosis. Efek samping berdasarkan penghambatan pada prostaglandin yang terjadi pada lambung, usus, ginjal seperti mual, muntah, tukak lambung usus, nyeri lambung, perpanjangan masa pendarahan, dan terganggunya keseimbangan air dan elektrolit (Health Professions Division, 1996; Wilmana & Gan, 2007).

2.2.6.2 Glukokortikoid

Terapi glukokortikoid sistemik dapat memberikan terapi simptomatik yang efektif bagi pasien dengan artritis reumatoid. Prednison dosis rendah (<7,5 mg) sebagai terapi tambahan telah dibuktikan mampu mengontrol gejala artritis. Penelitian terbaru membuktikan bahwa terapi glukokortikoid dosis rendah mampu memperlambat perkembangan dari erosi tulang (Lipsky, 2006).

Efek samping obat golongan ini perlu diperhatikan karena jika dihentikan mendadak pemberiannya maka akan terjadi insufisiensi adrenal akut seperti demam, mialgia, atralgia, dan malaise. Selain itu reaksi pendarahan juga bisa terjadi pada pasien tukak lambung, osteoporosis, dan hiperlipidemia (Wilmana & Gan, 2007).

2.2.6.3 *Disease Modifying Antirheumatic Drugs (DMARD)*

Obat – obat yang termasuk golongan ini tidak memiliki persamaan secara farmakologis maupun kimiawi. Akan tetapi, obat golongan ini memiliki karakteristik yang mirip dalam hal ini tidak memiliki efek antiinflamasi atau analgesik yang spesifik. Aktivitas antiinflamasi DMARD sangat kuat, tetapi efek

analgesiknya sangat kurang. Oleh karena itu, sering dikombinasi dengan AINS. Efek yang dihasilkan oleh obat ini muncul agak lambat. Obat-obat yang termasuk golongan ini adalah metotreksat, D-penisilamin, sulfasalazin, senyawa emas, leflunomida, TNF-inhibitor, dan antimalaria. Obat golongan ini memiliki daya antierosif yang dapat menghentikan atau memperlambat kerusakan tulang rawan (Lipsky, 2006).

2.3 Inflamasi

Respon inflamasi terjadi dalam tiga fase: (1) fase akut, dengan ciri vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler; (2) fase subakut, reaksi lambat dengan ciri infiltrasi sel leukosit dan fagositosis; dan (3) fase proliferaik kronik, dimana terjadi degenerasi dan fibrosis (Wilmana & Gan, 2007). Gejala respon inflamasi meliputi, *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas), *dolor* (nyeri), dan *turgor* (pembengkakan). Respon inflamasi dapat bersifat akut maupun kronik. Inflamasi akut terjadi segera setelah terjadi cedera, sedangkan inflamasi kronik merupakan inflamasi yang berlangsung lebih dari dua minggu dan dapat timbul setelah inflamasi akut, misalnya karena infeksi yang tidak sembuh (Corwin, 2008).

Proses inflamasi juga melibatkan sistem imun. Apabila terjadi proses inflamasi akut, faktor-faktor inisiasi akan mengaktifkan respon bawaan, melepaskan sel-sel yang bertanggungjawab sebagai respon bawaan. Jika respon bawaan gagal menyingkirkan faktor-faktor inisiasi tersebut, seperti terjadi pada inflamasi kronis, baru respon penyesuaian diaktifkan. Jika kaskade inflamasi teraktifkan, maka sistem imun bawaan dan penyesuaian berinteraksi guna mengatur perkembangan selanjutnya (Soenarto, 2007).

Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler akibatnya terjadi bengkak dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Selama berlangsungnya fenomena inflamasi, banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5HT), faktor kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin (PG). Dengan migrasi sel ke daerah inflamasi, terjadi lisis membran lisozim. Secara *in vitro* terbukti

bahwa prostaglandin E₂ (PGE₂) dan prostasiklin (PGI₂) dalam jumlah nanogram, dapat menimbulkan eritema, vasodilatasi, dan peningkatan aliran darah lokal. Histamin dan bradikinin dapat meningkatkan permeabilitas kapiler, tetapi efek vasodilasinya tidak besar. Migrasi leukosit ke jaringan radang merupakan aspek penting pada proses inflamasi. PG sendiri tidak bersifat kemotaktik, tetapi produk lain dari asam arakidonat yakni leukotrien B₄ merupakan zat kemotaktik yang sangat poten. 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 merangsang dan menimbulkan rasa nyeri (Wilmana & Gan, 2007).

Inflamasi kronis melibatkan keluarnya mediator yang tidak menonjol dalam respon inflamasi akut. Mediator tersebut antara lain : interleukin, *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, *tumor necrosis alpha*, interferon, dan *platelet-derived growth factor*. Salah satu dari kondisi patofisiologi yang melibatkan mediator tersebut adalah artritis reumatoid. Individu yang mengidap penyakit ini diawali dengan pembentukan antibodi yang menetap di kapsul sendi, yang disebut faktor reumatoid (FR). FR menimbulkan peradangan kronik dan destruksi jaringan yang menimbulkan gejala sakit pada sendi dan terjadinya kerusakan tulang di sekitar jaringan yang terinduksi FR (Corwin, 2000; Dipiro, Talbert, Gary, Weels & Posey, 2006).

2.4 Sistem Imun

Sistem imun bekerja untuk melindungi tubuh dari infeksi oleh mikroorganisme, membantu proses penyembuhan dalam tubuh dan membuang atau memperbaiki sel yang rusak apabila terjadi infeksi atau cedera. Sistem ini juga dapat mengidentifikasi sendiri faktor-faktor yang bukan berasal dari dirinya. Perubahan pada respon imun dapat menyebabkan serangan terhadap sel-sel tubuh sendiri (Corwin, 2008).

Terdapat dua bagian fungsi pertahanan tubuh, yaitu sistem imun bawaan (tidak spesifik) dan penyesuaian (spesifik). Sel-sel dari respon bawaan adalah

neutrofil fagositosis dan makrofag, bersama dengan basofil, sel-sel *mast*, eosinofil, trombosit, monosit dan sel-sel pembunuh alami (sel NK). Imun bawaan merupakan suatu mekanisme pertahanan yang ada bahkan sebelum infeksi terjadi yang bekerja untuk mengenali mikroba serta melindungi sel dari infeksi. Imun penyesuaian bekerja melalui mekanisme pengenalan yang terstimulasi oleh kemunculan mikroba juga mampu mengenali substansi nonmikroba yang disebut antigen. Imun penyesuaian terdiri dari dua tipe utama, yaitu imun selular yang berfungsi melindungi dari mikroba intraseluler serta imun humoral yang melindungi tubuh dari mikroba ekstraseluler serta toksinnya. Sel-sel yang termasuk dalam fungsi penyesuaian adalah antibodi, immunoglobulin IgG, IgM, IgA, IgE, dan IgD yang dihasilkan oleh limfosit B dan sel plasma, dan limfokin-limfokin yang kebanyakan diproduksi oleh limfosit T (Abbas, 2005; Soenarto, 2007).

Induksi sistem imun melibatkan banyak unsur, diantaranya limfosit, monosit, neutrofil, dan sel endotel. Unsur-unsur tersebut dapat berhubungan satu sama lain melalui mediator bernama sitokin. Sitokin mampu menginduksi imun bawaan dan mengaktifasi sel-sel inflamasi, contohnya neutrofil. Kemokin merupakan salah satu jenis sitokin yang berfungsi dalam pergerakan leukosit (Abbas, 2005).

2.4.1 Leukosit

Leukosit atau sel darah putih, adalah unit-unit yang dapat bergerak dalam sistem pertahanan tubuh. Terdapat lima jenis leukosit yang bersirkulasi dalam tubuh manusia, meliputi neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, serta limfosit T dan limfosit B (Corwin, 2008). Peran sel darah putih adalah untuk mengenali dan melawan mikroorganisme pada reaksi sistem imun, dan untuk membantu proses peradangan dan penyembuhan. Jumlah total leukosit manusia dalam keadaan normal berkisar dari 5 sampai 10 juta sel per millimeter darah, dengan rata-rata 7 juta sel/ml, yang dinyatakan sebagai jumlah sel darah putih rerata $7.000/\text{mm}^3$ (Sherwood, 2001; Corwin, 2008).

Leukosit terbagi menjadi dua golongan, golongan yang bergranula (granulosit) dan yang tidak bergranula (agranulosit). Golongan yang bergranula yaitu, neutrofil, basofil dan eosinofil. Sementara, yang termasuk golongan yang tidak bergranula adalah limfosit T dan B, serta monosit.

2.4.1.1 Granulosit

a. Neutrofil

Neutrofil merupakan sel pertahanan pertama pada invasi bakteri dan merupakan spesialis fagositik. Neutrofil sangat penting dalam respon peradangan. Jumlah neutrofil normal dalam tubuh adalah 40-60% dari jumlah total sel darah putih (Wright, H.L., Moots, R.J., Bucknall, R.C., Edwards, S.W., 2010). Dilihat dari fungsinya, peningkatan jumlah neutrofil dalam darah umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri akut.

b. Eosinofil

Eosinofil berperan dalam keadaan alergi dan mempengaruhi peningkatan patogenesis alergi, serta berperan dalam menghilangkan parasit dalam tubuh manusia. Eosinofil melepaskan mediator lipid, seperti leukotrien C₄, faktor aktivasi-platelet dan liposin (Kita, H., Adolphson, C.R., Gleich, G.J., 1998; Shi, HZ., 2004). Persentase eosinofil normal yang bersirkulasi dalam darah terhadap leukosit total adalah 1-4% (Sherwood, 2001).

c. Basofil

Basofil adalah jenis leukosit paling sedikit jumlahnya. Fungsi basofil masih belum jelas walaupun secara struktural mirip dengan sel mast (Sherwood, 2001). Jumlah basofil sekitar 0,3% dari jumlah total leukosit dalam tubuh (Ohnmacht & Voehringer, 2011).

2.4.1.2 Agranulosit

a. Monosit

Monosit diproduksi di sumsum tulang, kemudian keluar dalam bentuk imatur. Apabila terjadi cedera atau infeksi, maka monosit mengalami proses pematangan menjadi makrofag yang bekerja sebagai sel fagositik. Monosit ditemukan sekitar 2-10% dari jumlah leukosit dalam tubuh manusia (Sherwood, 2001; Yona & Jung, 2009).

b. Limfosit

Limfosit terbagi menjadi dua, yaitu limfosit B dan limfosit T. Persentase limfosit total dalam tubuh manusia adalah 25-33% terhadap leukosit total. Limfosit B bersirkulasi sebanyak 10-20% dibandingkan total limfosit dalam aliran darah perifer. Sementara limfosit T ditemukan beredar dalam bentuk dewasa sebanyak 60-70% dari limfosit. Limfosit disimpan dan diolah oleh jaringan limfosit, salah satunya limfa (Sherwood, 2001).

Limfosit B menghasilkan antibodi yang bertugas dalam berikatan dan memberi tanda untuk destruksi. Oleh karena itu, limfosit B dikenal sebagai sel memori. Limfosit B mampu mengenali antigen melalui kompleks reseptor antigen. Apabila limfosit B teraktivasi, maka akan berdiferensiasi menjadi sel yang mampu mensekresi antibodi, yaitu sel plasma (Abbas, 2005).

Limfosit T tidak menghasilkan antibodi, tetapi secara langsung menghancurkan sel sasaran spesifik, melalui suatu proses yang dikenal sebagai respon imun yang diperantarai sel. Limfosit T dibagi menjadi dua, yaitu limfosit T *helper* dan limfosit T *killer*.

Sel T *helper* bertugas mengingat antigen yang pernah menginfeksi dan akan teraktivasi apabila antigen tersebut muncul kembali. Sel T *helper* berperan dalam imunitas *cell-mediated* dan respon humoral (Glimcher & Murphy, 2000). Aktivasi dari sel T *helper* akan menghasilkan sitokin. Sementara sel T *killer* berfungsi dalam membunuh zat asing yang masuk, seperti bakteri atau virus.

2.5 Metode Induksi Arthritis Reumatoid

Metode yang digunakan untuk induksi arthritis reumatoid adalah induksi inflamasi kronik. Metode induksi ini bertujuan untuk menghasilkan reaksi imun yang menyebabkan inflamasi. Induksi dilakukan dengan pemberian senyawa tertentu terhadap hewan uji dengan bertujuan memperoleh hewan uji dengan model arthritis yang mirip dengan arthritis pada manusia. Induksi dapat dilakukan dengan beberapa cara menginjeksikan sejumlah antigen ke hewan uji.

2.5.1 *Adjuvant – induced arthritis*

Metode ini menggunakan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium* atau dinding-dinding sel bakteri yang telah dilemahkan dengan menggunakan pemanasan, sebagai zat penginduksinya. *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) merupakan emulsi air-dalam-minyak mengandung mikobakteri yang telah dibunuh dengan pemanasan (*heat-killed*), atau komponen dinding sel mikobakteria, efektif dalam menginduksi respon antibodi selular dan humoral. CFA dapat menyebabkan inflamasi lokal dan reaksi granuloma pada tempat injeksi, inflamasi kronik, luka pada kulit, abses lokal atau kerusakan jaringan, difusi granuloma sistemik akibat migrasi emulsi minyak dan arthritis akibat *adjuvant*. Formulasi CFA yang tersedia secara komersial mencapai 0,5 mg/ml mikobakteria dan telah sukses digunakan dalam model arthritis pada tikus sebagai hewan uji, konsentrasi < 0,1 mg/ml direkomendasikan untuk meminimalisasi inflamasi dan nekrosis akibat konsentrasi yang tinggi (Guidelines for the Research Use of Adjuvants, 2005).

Respon inflamasi berupa tanda lesi terdiri dari lesi primer dan sekunder. Lesi primer terjadi dalam 3-5 hari dan lesi sekunder terjadi setelah 11-12 hari terhitung sejak hari ke-0 disuntik CFA (Parmar, N.S. & Prakash, 2006). Proses inflamasi terjadi pada hari 9-10 setelah penyuntikan dan volume udem yang terbentuk diukur menggunakan alat pletismometer sederhana (Mulyaningsih & Darmawan, 2006; Woode et al., 2008). Hewan uji dengan model arthritis reumatoid yang diinduksi dengan *adjuvant* merupakan model yang berhubungan dengan sel T dan neutrofil (Hegen, Keith Jr, Collins & Nickerson-Nutter, 2007). Fletcher et

al. (1998) menyebutkan bahwa karakteristik diagnostik dari inflamasi sistemik AIA ini adalah peningkatan berat limfa dua kali berat normal (splinomegali) (Paulos et al., 2006).

2.5.2 Collagen – induced arthritis

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

2.5.3 Antigen arthritis

Hewan uji diinduksi dengan menggunakan antigen, umumnya *methylated bovine serum albumin* (m-BSA) dalam *Complete Freund's Adjuvant* digunakan sebagai antigen dalam metode ini. Zat ini dapat diberikan secara intradermal atau subkutan. Antigen ini kemudian akan menstimulasi terjadinya proses inflamasi akut dan destruksi sendi (Bendele, 2001).

2.5.4 Streptococcal cell-wall induced arthritis

Injeksi suspensi mengandung dinding sel bakteri grup *A-streptococci* atau peptidoglikan diinjeksikan secara intraperitoneal. Poliartritis muncul dan hampir mirip dengan hasil induksi dengan *adjuvant* (Cromartie et al., 1977; Bendele, 2001). Dalam waktu 2 hari terbentuk tanda-tanda pembentukan artritis akut hewan uji yang kemudian berkembang menjadi artritis kronik. *Radioimmunoassay* dapat digunakan untuk mendeteksi produk di sendi dan jaringan pada tikus artritis yang diinokulasi dengan dinding sel *streptococcal* (Utsinger, Zvaifler, & Ehrlich, 1985).

2.5.5 *Formaldehyde induced arthritis*

Metode ini cukup sederhana. Secara subkutan sebanyak 0,1 ml formaldehid 2% (v/v) diinjeksikan pada telapak kaki tikus pada hari pertama dan ketiga selama percobaan. Agen antiartritis diberikan secara berturut-turut selama 10 hari. Perubahan volume telapak kaki berupa udem dapat diukur dengan pletismometer (Biradar, Kangralkal, Mandavkar, Thokur, & Chougule, 2010).

2.6 Pengukuran Udem

Metode pengukuran udem pada telapak kaki yang diinduksi dengan CFA merupakan salah satu parameter dalam mengukur efek antiartritis. Udem merupakan salah satu tanda dari inflamasi primer. Pengukuran udem kaki dibantu dengan alat pletismometer. Alat ini bekerja berdasarkan hukum Archimedes (Kelompok Kerja Ilmiah, 1983).

2.7 Penghitungan Jumlah Sel Darah

Darah sering diperiksa untuk mengetahui jumlah dan fungsi selnya. Pemeriksaan yang sering dilakukan adalah hitung darah lengkap, yang memberikan informasi jumlah, konsentrasi dan karakter fisik dari sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit yang berada dalam darah vena (Corwin, 2008).

Penghitungan jumlah sel darah dilakukan dengan mengambil sampel darah terlebih dahulu. Sampel darah dapat dikumpulkan dari pembuluh vena tikus, sehingga dapat diambil dari tempat yang berbeda, seperti sinus orbital, ekor, dan vena jugular (Hoff, 2000). Pemilihan metode dan tempat pengambilan darah tikus diputuskan berdasarkan volume darah yang dibutuhkan untuk pemeriksaan. Metode penghitungan sel darah dapat dilakukan baik secara manual atau dengan menggunakan penghitung otomatis. Prinsip keduanya sama yaitu perhitungan melalui pengenceran sampel darah yang diperoleh.

2.7.1 Metode Kamar Hitung

Metode kamar hitung merupakan metode manual dalam menghitung jumlah sel darah. Penghitungan jumlah sel darah dilakukan dengan prinsip

pengenceran dengan penambahan reagen yang berbeda untuk setiap sel darah yang akan dihitung, seperti larutan Hayem untuk penghitungan eritrosit dan larutan Turk untuk penghitungan leukosit. Pewarnaan khusus dilakukan agar mempermudah penghitungan, untuk sel darah putih, pewarnaan dilakukan dengan penambahan larutan gentian violet (WHO, 1996).

Alat khusus yang digunakan dalam metode ini adalah sebuah kamar hitung hemasitometer Neubauer yang berukuran 3 mm x 3 mm terdiri dari 9 bagian kamar hitung, di bagian tengah berukuran 1 mm x 1 mm terbagi menjadi 25 bagian dalam 16 kotak. Kamar hitung memiliki ketebalan 0,1 mm³, sehingga hasil perhitungan yang diperoleh memiliki satuan jumlah per volume (WHO, 1996). Penghitungan dilakukan secara manual dengan bantuan mikroskop.

2.7.2 Metode Penghitung Otomatis

Hematology analyzer merupakan alat yang dapat digunakan untuk mengukur jumlah sel darah secara otomatis. Alat ini secara otomatis mengeluarkan sejumlah spesimen darah, mempersiapkan penghitungan dan penambahan pelarut. Pengujian dilakukan pada tabung khusus yang mengandung antikoagulan, seperti K₃EDTA agar sampel darah tidak mengendap (Tsuruda, 1999).

Penghitungan dari *hematology analyzer* menggunakan metode pengenceran (WHO, 1996). Alat ini berprinsip pada metode spektrofotometer, jumlah sel untuk menentukan nilai leukosit dihitung dari rasio pengenceran dari jumlah seluruh darah yang diukur. Alat ini banyak digunakan dalam mendiagnosis penyakit dengan parameter yang berhubungan dengan sel darah.

2.8 Metode Ekstraksi (Depkes RI, 2000)

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan memerlukan cara yang khusus dan spesifik untuk menariknya agar diperoleh senyawa yang lebih murni. Cara penarikan senyawa khusus dan spesifik tersebut dinamakan ekstraksi.

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut dalam pelarut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Hasil dari ekstraksi adalah terbentuknya sediaan ekstrak yang dapat berupa serbuk kering, kental, dan cair. Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia bisa diperoleh dengan kadar yang tinggi sehingga mempermudah dalam hal penentuan dosis khasiatnya. Metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik senyawa aktif tersebut dapat dilakukan dengan cara dingin dan cara panas.

2.8.1 Cara Dingin

2.8.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses mengekstraksi simplisia dengan cara merendamnya menggunakan pelarut yang sesuai dan wadah yang tertutup pada suhu kamar dengan dilakukan pengadukan sesekali secara konstan untuk meningkatkan kecepatan ekstraksi. Pada prosedur maserasi, terdapat istilah remaserasi, yakni setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, ditambahkan pelarut lalu dilanjutkan maserasi berikutnya, dan seterusnya. Hal ini memakan waktu yang cukup lama bisa beberapa hari bahkan beberapa minggu. Kelemahan lain adalah ekstraksi yang tidak optimal bila ada senyawa yang kurang larut dalam suhu kamar. Namun, itu menjadi salah satu kelebihan maserasi, yakni tidak menyebabkan degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas karena dilakukan pada suhu kamar.

2.8.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan merendam tanaman dalam pelarut yang sesuai lalu dimasukan ke dalam alat yang dinamakan perkolator. Proses ekstraksi dilakukan dengan menambah pelarut yang baru sampai ekstraksi sempurna yang dilakukan pada suhu ruang. Tahapan ekstraksi meliputi pendahuluan, maserasi antara, dan perkolasi sebenarnya yang dilakukan terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Untuk meyakinkan perkolasi telah sempurna, perkolat dapat diuji apakah terdapat metabolit dengan reagen spesifik.

2.8.2 Cara Panas

2.8.2.1 Refluks

Refluks adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperature titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang umumnya konstan dengan adanya pendingin balik. Pengulangan ekstraksi pada residu pertama dilakukan 3-5 kali sehingga diperoleh hasil ekstrak yang sempurna. Refluks memungkinkan senyawa yang tidak tahan panas akan mengalami degradasi.

2.8.2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru menggunakan alat khusus agar berlangsung secara kontinyu dengan jumlah pelarut konstan dan adanya pendingin balik.

2.8.2.3 Digesti

Digesti adalah proses maserasi dengan pengadukan kontinyu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan yang pada umumnya dilakukan pada suhu 40-50⁰C.

2.8.2.4 Infus

Infus adalah proses ekstraksi dengan pelarut air pada suhu air mendidih (96-98⁰C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

2.8.2.5 Dekok

Dekok adalah proses infus dengan kondisi waktu yang lebih lama (lebih dari 30 menit) pada suhu air mendidih.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia yang berlangsung dari bulan Februari-Mei 2012.

3.2 Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, pletismometer, sonde oral, jarum suntik 27 G1/2, spuit 3 ml, timbangan analitik, timbangan hewan dan alat – alat gelas, evaporator, mikrohematokrit, *tube* yang mengandung K_3EDTA dan alat pengukur jumlah sel darah/*hematology analyzer* (Medonic M-series).

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Pada penelitian ini digunakan bahan uji yaitu, herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* L. Lamk.) dalam bentuk serbuk kering dari PT Bina Agro Mandiri.

3.3.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan berupa *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* (Sigma-Aldrich), natrium diklofenak (Kimia Farma), natrium klorida 0,9% steril, CMC (Brataco Chemical), etanol 70%, etanol 95%, eter, akuades, HCl 2N, $H_2SO_{4(p)}$, serbuk Mg.

3.4 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* (SD) dewasa, bobot 180-200 gram dan berumur 3 bulan. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas

Peternakan Institut Pertanian Bogor. Tikus yang dipilih dalam penelitian ini adalah tikus jantan sebab variabel pengganggu yang mempengaruhi onset dan keparahan artritis lebih sedikit dibandingkan dibandingkan tikus betina (Bendele, 2001).

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Penyiapan Hewan Uji

Tikus yang digunakan adalah tikus dengan umur 3 bulan. Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama dua minggu dalam kandang Laboratorium Farmakologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia agar dapat menyesuaikan diri di lingkungan baru. Tikus diberi makan dan minum seragam dan dilakukan pengamatan setiap hari dan dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum dan berat badan tikus yang dilakukan secara rutin. Hal ini bertujuan agar tikus selalu dalam keadaan sehat dan terawat.

Tikus yang sehat memiliki ciri-ciri memiliki bulu yang bersih, mata jernih, berat badan bertambah setiap hari dan tidak menunjukkan perilaku aneh. Tikus yang sehat dikelompokkan secara acak dengan jumlah tikus sebanyak enam ekor tiap kelompok.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara

Metode yang digunakan dalam membuat ekstrak etanol 70% adalah maserasi. Serbuk kering herba rumput mutiara sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan etanol 70% 1,25 liter, dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam. Pendiaman bertujuan agar diperoleh larutan ekstrak yang jenuh. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan *vacuum*, sehingga diperoleh ekstrak tanpa ampas. Proses maserasi diulang sebanyak empat kali dengan jumlah pelarut yang sama (Depkes RI, 2008). Ekstraksi dilakukan hingga warna ekstrak yang diperoleh menjadi lebih muda. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* bertekanan rendah pada suhu 50°C dengan kecepatan putar 30 rpm. Filtrat kental kemudian

diuapkan pada penangas air dengan suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental etanol rumput mutiara.

3.5.3 Penetapan Rendemen dan Uji Kualitatif Ekstrak etanol rumput mutiara

3.5.3.1 Penetapan Rendemen

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dibandingkan bobotnya dengan serbuk simplisia awal yang digunakan. Perbandingan tersebut dinyatakan dalam % (persen) (Depkes RI, 2000).

3.5.3.2 Uji Kualitatif (Depkes RI, 1995)

Uji kualitatif terhadap ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji kualitatif. Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung di dalam rumput mutiara, yaitu flavonoid, tanin, terpenoid dan glikosida. Pengujian dilakukan dengan menambahkan reagen yang spesifik untuk tiap senyawa.

a. Uji flavonoid

Sebanyak 10 ml filtrat ekstrak diuapkan hingga kering ditambah 3 ml etanol 95%, kemudian ditambah 100 mg serbuk Mg dan 10 tetes HCl_(p) menghasilkan warna merah jingga hingga merah ungu atau kuning jingga untuk flavon dan kalkon. Hasil uji dibandingkan dengan standar berupa *Ortosiphonis folium*.

b. Uji tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan 15 ml air panas kemudian dipanaskan hingga mendidih setelah itu disaring. Filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan gelatin 10%. Hasil positif menunjukkan hasil yang menggumpal. Hasil uji dibandingkan dengan standar berupa *Psidium folium*.

c. Uji terpenoid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah dengan 5 ml eter, kemudian diuapkan di atas cawan penguap dalam lemari asam. Setelah itu ditambahkan 5 tetes asetat anhidrida dan 3 tetes H₂SO_{4(p)}. Hasil reaksi positif apabila dihasilkan warna hijau. Pembanding untuk uji ini adalah *Caryophylli flos*.

d. Uji glikosida

Uji glikosida dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mollisch. Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah dengan 15 ml HCl 2 N, dipanaskan hingga tersisa setengah bagian kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, diambil 3 ml kemudian ditambah dengan menggunakan pereaksi Mollisch sebanyak 3 ml. Setelah itu ditambahkan 3 tetes $H_2SO_{4(p)}$. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin pada lapisan tengah larutan, sebagai standar pembanding dilakukan uji dengan menggunakan Centellae herba.

3.5.4 Penetapan Dosis Bahan Uji

Dosis rumput mutiara dalam penelitian ini adalah dosis bertingkat yang ditentukan berdasarkan penggunaannya sebagai antiinflamasi yang tercantum dalam sebuah produk herbal, yaitu sebesar 2 g/200 g bb. Dosis ini kemudian dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 g bb tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetika 10, maka diperoleh dosis untuk tikus sebesar 360 mg/200 g bb. Dosis tersebut digunakan sebagai dosis tengah, untuk dosis rendah sebesar 160 mg/200 g bb, sementara dosis tertinggi adalah 810 mg/200 g bb.

Dosis untuk natrium diklofenak adalah 5 mg/kg bb yang telah terbukti mampu menghasilkan efek antiinflamasi (Siddalingappa, 2011). Setelah dikonversi, diketahui dosis yang digunakan adalah 1 mg/200 g bb tikus.

3.5.5 Penyiapan Bahan Uji

3.5.5.1 Pembuatan larutan CMC 0,5%

CMC ditimbang sejumlah 350 mg lalu dikembangkan dalam akuades dengan suhu $80^{\circ}C$ sebanyak 7 ml (20 kali berat CMC) sekurang-kurangnya 15 menit lalu dihomogenkan. Volume larutan dicukupkan hingga 70 ml kemudian dihomogenkan kembali.

3.5.5.2 Penyiapan Bahan Uji

Bahan uji dalam bentuk ekstrak disuspensikan dengan menggunakan larutan CMC 0,5%. Bahan uji ditimbang sesuai dengan perhitungan (Lampiran

2). Ekstrak ditambahkan ke dalam 10 ml larutan CMC 0,5%, dan ditambahkan perlahan-lahan sambil dihomogenkan, hingga mencapai volume 20 ml. Untuk menjaga kestabilan suspensi tersebut, suspensi baru akan dibuat dan diberikan pada hewan uji menjelang percobaan. Pemberian pada hewan uji dilakukan secara oral dengan teknik sonde.

3.5.5.3 Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak yang dibutuhkan adalah 1 mg/hari dalam suspensi sebanyak 2 ml/tikus. Natrium diklofenak ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian digerus dengan penambahan 10 larutan CMC 0,5% sampai homogen dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml. Maka, diperoleh suspensi natrium diklofenak 0,5 mg/ml.

3.5.6 Pengukuran Volume Udem Hewan Uji

Pengukuran volume udem hewan uji sebagai salah satu parameter dalam efek antiartritis dilakukan pada hari ke-1 sebelum induksi. Pengukuran juga dilakukan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28. Alat yang digunakan untuk mengukur volume udem adalah pletismometer (Gambar 3.1).

3.5.7 Pengukuran Jumlah Sel Darah Hewan Uji

Pengukuran jumlah sel darah hewan uji dilakukan terhadap jumlah sel darah putih, limfosit total dan granulosit. Pengambilan darah diambil dari sinus orbital (Gambar 3.2) dengan menggunakan pipa mikrohematokrit dan ditampung dalam *tube* yang mengandung K_3EDTA . Jumlah sel darah dihitung dengan menggunakan *hematology analyzer* (Gambar 3.3). Leukosit dihitung berdasarkan jumlah per volume, sehingga memiliki satuan per liter (/L). Sementara limfosit serta granulosit dihitung berdasarkan hasil diferensiasi jumlah leukosit. Penghitungan dilakukan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi dengan CFA.

3.5.8 Pelaksanaan Percobaan

Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok kontrol, kontrol normal, positif, induksi serta 3 kelompok variasi dosis bahan uji. Pemilihan hewan uji dalam tiap

kelompok dipilih secara acak. Jumlah hewan uji yang digunakan pada tiap kelompok dihitung berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer (Jusman & Halim, 2009). Penentuan jumlah hewan uji dan pembagian kelompok adalah sebagai berikut (Federer, 1991) :

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

Dimana : t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, $t = 6$, maka $n \geq 4$, sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 4 ekor. Jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 6 ekor untuk memenuhi persyaratan uji statistik.

Penelitian dilakukan dengan mengamati efek antiarthritis oleh rumput mutiara melalui parameter penghambatan udem dan penurunan jumlah sel darah. Induksi dilakukan dengan menginjeksikan CFA sebanyak 0,1 ml secara subplantar pada hari ke-1. Perlakuan terhadap tiap kelompok dilakukan pada hari ke-2 hingga hari ke-28. Bahan uji diberikan secara per oral.

3.5.8.1 Metode Penelitian

Metode penginduksian hewan uji dengan menggunakan metode *Adjuvant-Induced Arthritis* (AIA) berdasarkan pada penelitian yang dimodifikasi (Bendele, 2001; Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Pada hari ke-1, sebelum diinduksi, dilakukan pengukuran telapak kaki dengan menggunakan alat pletismometer. Induksi dilakukan dengan menyuntikkan CFA sebanyak 0,1 ml pada telapak kaki belakang tikus sebelah kiri (Guidelines for the Research Use of Adjuvants, 2005).

Aktivitas antiarthritis diukur melalui penurunan ukuran udem telapak kaki. Selain itu dilakukan uji terhadap sistem imun dengan parameter jumlah leukosit, limfosit dan granulosit.

3.5.8.2 Uji Efek Antiarthritis

Pada hari pertama penelitian, berat badan tikus ditimbang kemudian dikelompokkan secara acak ke dalam 6 kelompok dengan jumlah tikus 6 tikus pada tiap kelompok. Tiga kelompok diberikan larutan uji dengan 3 variasi dosis

yang telah ditentukan, kelompok lainnya merupakan kelompok kontrol normal, diklofenak dan induksi.

Volume kaki tikus diukur terlebih dahulu dengan menggunakan pletismometer. Induksi kemudian dilakukan pada seluruh kelompok, kecuali kontrol normal, dengan cara menginjeksikan 0,1 ml *Complete Freund's Adjuvant* secara subplantar pada kaki kiri tikus. Kelompok kontrol normal disuntik dengan menggunakan larutan salin steril.

Tabel 3.1. Kelompok perlakuan hewan uji

No.	Kelompok	Jumlah Tikus	Perlakuan
1.	Kontrol Normal	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml larutan salin secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2 ml/200 g bb larutan CMC 0,5%.
2.	Kontrol Diklofenak	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml CFA secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2ml suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb dalam CMC 0,5%.
3.	Kontrol Induksi	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml CFA secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2 ml/200 g bb larutan CMC 0,5%.
4.	Rumput Mutiara Dosis 1	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml CFA secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2 ml suspensi ekstrak etanol rumput mutiara dalam CMC 0,5% dengan dosis 160 mg/200 g bb per oral.
5.	Rumput Mutiara Dosis 2	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml CFA secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2 ml suspensi ekstrak etanol rumput mutiara dalam CMC 0,5% dengan dosis 360 mg/200 g bb per oral.
6.	Rumput Mutiara Dosis 3	6	Hari ke-1 disuntikkan 0,1 ml CFA secara subplantar, hari ke-2 hingga hari ke-28 diberikan 2 ml suspensi ekstrak etanol rumput mutiara dalam CMC 0,5% dengan dosis 810 mg/200 g bb per oral.

Seluruh kelompok diberikan perlakuan dimulai pada hari ke-2 hingga hari ke-28. Kelompok kontrol normal dan induksi diberi larutan CMC 0,5% sebanyak 2ml/200 g bb. Kelompok kontrol diklofenak diberi suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb. Bahan uji berupa ekstrak etanol rumput mutiara diberikan pada kelompok variasi dosis dari hari ke-2 hingga hari ke-28. Untuk lebih jelas mengenai perlakuan tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Ukuran udem pada telapak kaki tikus diukur dengan menggunakan alat plestimometer dengan mencelupkan kaki kiri tikus hingga batas yang telah ditentukan. Aktivitas antiinflamasi diukur melalui penghambatan ukuran udem telapak kaki. Pengukuran udem telapak kaki diukur pada hari ke-7, ke-14, ke-21, ke-28.

3.5.8.3 Penghitungan Jumlah Leukosit, Limfosit dan Granulosit

Penghitungan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit digunakan sebagai salah satu parameter antiarthritis dilihat sebagai penyakit otoimun. Penghitungan dilakukan pada hari ke-14 dan ke-28. Pengambilan darah dilakukan setelah udem telapak kaki tikus diukur.

Untuk memperoleh sampel darah, tikus tikus dianestesiskan terlebih dahulu dengan menggunakan eter. Tikus dibaringkan dan bagian mata menggunakan kedua jari, sehingga mempermudah untuk menusukkan mikrohematokrit ke ujung mata. Mikrohematokrit ditusukkan di ujung mata hingga mengenai pembuluh vena. Darah yang mengalir keluar kemudian ditampung dengan menggunakan tube K₃EDTA hingga 2 ml. Sampel darah harus segera dikocok agar K₃EDTA tercampur sempurna dan dilakukan perlahan untuk mencegah hemolisis.

3.5.8.4 Pengukuran Berat Limfa

Limfa merupakan salah satu organ terbesar dalam jaringan limfoid yang berperan dalam regulasi limfosit. Pada induksi artritis dengan menggunakan CFA diketahui dapat meningkatkan berat limfa menjadi dua kali lipat berat normal (Paulos et al., 2006).

Pengukuran berat limfa dilakukan pada hari terakhir setelah 28 hari perlakuan. Tikus terlebih dahulu dikorbankan dengan cara dianestesi

menggunakan eter, kemudian dibedah pada bagian abdomen. Limfa diambil, kemudian ditimbang.

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% dan dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. 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). Kerja obat antiartritis dinilai dari persentase penghambatan udem yang ditimbulkan oleh CFA dan dihitung dengan rumus (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993):

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

Dimana:

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 induksi)

y adalah rata – rata volume kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol induksi)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara

Serbuk kering herba rumput mutiara diperoleh dari PT Bina Argo Mandiri. Herba rumput mutiara diekstraksi dengan cara dingin, yaitu maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% bertujuan agar senyawa aktif berupa flavonoid yang bersifat cenderung polar dapat tertarik (Depkes RI, 2008). Flavonoid diketahui memiliki efek antiinflamasi kronik (Kim, Son, Chang & Kang., 2004). Etanol juga memiliki sifat kurang toksik dibandingkan dengan pelarut polar lainnya. Penggunaan etanol 70% karena lebih mudah menguap, sehingga mudah untuk didestilasi dan menghemat waktu.

Ekstrak kental rumput mutiara kemudian ditentukan organoleptiknya dengan berupa bentuk, warna, rasa dan bau. Ekstrak yang diperoleh memiliki bentuk ekstrak kental, berwarna hijau kecoklatan, berbau khas dan rasanya pahit agak kecut. Bentuk ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Ekstrak kental etanol rumput mutiara

4.2 Penetapan Rendemen dan Uji Kualitatif

4.2.1 Penetapan Rendemen Ekstrak Etanol Rumput Mutiara

Ekstrak kental rumput mutiara yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemen. Penetapan rendemen bertujuan untuk memperoleh jumlah

ekstrak yang harus ditimbang sebanyak dosis yang telah ditentukan sebab dosis yang digunakan merupakan dosis dari serbuk rumput mutiara.

Pada Lampiran 2, menunjukkan rendemen ekstrak etanol rumput mutiara sebesar 17,54%. Hasil rendemen yang didapat digunakan sebagai faktor konversi untuk menghitung dosis ekstrak yang digunakan untuk uji antiinflamasi. Rendemen tersebut dihitung dari persentase berat ekstrak dibagi berat simplisia kering. Berat total ekstrak yang diperoleh adalah 43,85 gram dari berat serbuk kering sebanyak 250 gram. Setelah dilakukan penghitungan dengan dikalikan rendemen, diperoleh variasi dosis ekstrak yang digunakan untuk dosis 1, 2 dan 3 adalah 28,06 mg; 63,14 mg dan 142,07 mg/200 g bb tikus.

4.2.2 Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Rumput Mutiara

Uji kualitatif yang dilakukan pada ekstrak kental rumput mutiara berupa uji kualitatif untuk flavonoid, tanin, terpenoid dan glikosid yang terkandung di dalamnya (Depkes RI, 1995). Hasil uji kualitatif pada ekstrak etanol rumput mutiara menunjukkan hasil positif untuk flavonoid, tanin dan glikosid. Hasil negatif tidak diperoleh untuk terpenoid sebab terpenoid merupakan senyawa nonpolar, sementara pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol yang bersifat polar.

Tabel 4.1. Hasil uji kualitatif ekstrak etanol rumput mutiara

Senyawa yang diuji	Hasil uji	Kesimpulan
Flavonoid	Warna merah pada buih yang terbentuk	+
Tanin	Larutan menjadi keruh	+
Glikosid	Terbentuk cincin berwarna merah	+
Terpenoid	Warna tidak berubah	-

4.3 Uji Efek Antiartritis

Kelompok yang diuji dalam penelitian ini berjumlah 6 kelompok, terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol diklofenak, kontrol induksi, serta kelompok perlakuan dosis sebanyak 3 variasi dosis. Induksi dengan *Complete Freund's Adjuvant (CFA)* menghasilkan efek artritis berupa pembengkakan pada telapak kaki dari ujung hingga ujung jari (Gambar 4.8). Perlakuan dengan pemberian ekstrak dan dilakukan 1 hari setelah dilakukan induksi, yaitu pada hari ke-2 hingga hari ke-28.

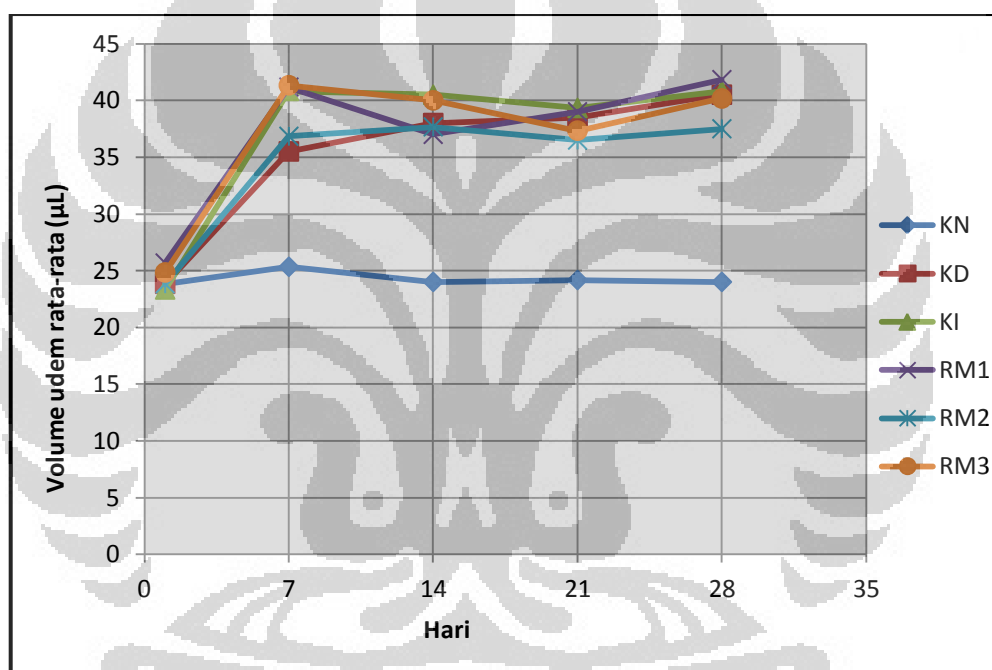
Pengukuran volume telapak kaki tikus dilakukan pada hari ke-1 sebelum induksi, hari ke-7, hari 14, hari 21 dan hari 28 setelah induksi (Tabel 4.10). Pengukuran bertujuan untuk mengetahui perubahan akibat efek perlakuan terhadap volume udem pada telapak kaki tikus. Dari pengukuran ini dapat diketahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Persentase penghambatan udem dapat diketahui dari volume udem rata-rata kontrol diklofenak, kelompok dosis 1, 2 dan 3 dengan membandingkan dengan volume udem rata-rata dari kontrol induksi.

Tabel 4.2. Volume udem rata-rata tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28

Perlakuan	Volume udem rata-rata telapak kaki (μl) \pm SD			
	Hari-7	Hari-14	Hari-21	Hari-28
KN	25,33 \pm 2,25	24,0 \pm 1,79	24,16 \pm 1,17	24,0 \pm 0,89
KD	35,50 \pm 3,33*	38,00 \pm 6,69	38,5 \pm 9,89	40,5 \pm 6,68
KI	40,83 \pm 5,27	40,5 \pm 4,37	39,33 \pm 5,99	40,83 \pm 5,34
RM1	41,17 \pm 3,25	37,0 \pm 5,02	39,0 \pm 4,43	41,83 \pm 5,35
RM2	36,83 \pm 5,42	37,67 \pm 5,01	36,5 \pm 3,21	37,5 \pm 5,69
RM3	41,33 \pm 6,25	40,0 \pm 6,0	37,33 \pm 4,63	40,16 \pm 6,97

Keterangan: KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb), KD = kontrol diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), KI = kontrol induksi (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb). (*) Berbeda bermakna secara statistik dengan kontrol induksi.

Volume udem rata-rata dari tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.2. Dari hasil ini terlihat penurunan udem terjadi pada kontrol diklofenak serta pada kelompok dengan pemberian rumput mutiara dosis 1, 2 dan 3. Dari data penurunan udem seluruh kelompok dosis (dosis 1, 2 dan 3) dan kontrol diklofenak diketahui bahwa pemberian obat baik sintesis maupun herbal, mampu mengurangi tanda primer dari gejala inflamasi, yaitu pembengkakan. Akan tetapi, rata-rata penurunan udem pada kelompok kontrol diklofenak lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol rumput mutiara. Perbandingan volume udem rata-rata dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 4.2.



Keterangan: KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), KD = kontrol diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), KI = kontrol induksi (larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb).

Gambar 4.2. Grafik volume udem rata-rata pada hari ke-1 (sebelum induksi), 7, 14, 21 dan 28 setelah induksi

Perbandingan volume udem rata-rata pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan antara kontrol normal dengan kelompok yang diinduksi dengan CFA (kontrol diklofenak, induksi dan kelompok variasi dosis bahan uji). Hal ini

menunjukkan keberhasilan induksi artritis dengan menggunakan CFA. Pada kelompok bahan uji, kelompok dosis 2 menunjukkan volume udem yang rendah diantara kelompok dosis ekstrak yang lain, sementara, volume udem dari kelompok dosis 1 dan dosis 3 relatif tidak berbeda jauh. Volume udem kelompok dosis 2 masih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol diklofenak yang memiliki volume udem yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Meskipun begitu, volume udem rata-rata dosis 2 tidak menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik dengan kontrol induksi.

Pada hari ke-14, data volume udem rata-rata menunjukkan volume udem pada kelompok dosis 1 merupakan kelompok dengan volume udem rata-rata yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Volume udem rata-rata kelompok dosis 1 dan dosis 2 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol diklofenak, meskipun nilainya tidak jauh berbeda. Seluruh kelompok bahan uji memiliki volume udem rata-rata yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol induksi. Hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok bahan uji dengan kelompok kontrol induksi.

Pada hari ke-21, volume udem pada kelompok dosis 2 menunjukkan volume yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok dosis 1 dan dosis 3. Seluruh kelompok bahan uji memiliki volume udem rata-rata yang lebih rendah dibandingkan kontrol induksi. Volume udem rata-rata pada kelompok dosis 2 dan 3 lebih rendah dibandingkan dengan kontrol diklofenak. Kelompok dengan perbedaan volume rata-rata tertinggi dibandingkan dengan kontrol diklofenak dan induksi adalah kelompok dosis 3. Uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok bahan uji dengan kelompok lain, kecuali kontrol normal.

Pada pengukuran volume telapak kaki udem tikus hari ke-28, kelompok dosis 2 merupakan kelompok dengan hasil volume udem rata-rata yang rendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Kelompok dosis 2 dan 3 memiliki volume udem rata-rata yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol induksi dan kontrol diklofenak. Meskipun begitu, tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik antara kelompok perlakuan dengan kelompok induksi.

Data volume udem rata-rata menunjukkan bahwa data volume udem tikus mengalami penurunan pada hari ke-7 dan ke-14, tetapi mengalami kenaikan pada hari ke-21 dan ke-28. Hal ini mungkin disebabkan oleh lesi sekunder yang terjadi setelah hari ke-12 induksi CFA. Efek pemberian ekstrak tidak mampu lagi menahan lesi sekunder yang terjadi, sehingga peningkatan terjadi dari hari-21 hingga hari-28. Meskipun mengalami peningkatan, volume udem rata-rata dari kelompok perlakuan masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol induksi.

Untuk mengetahui kemampuan antiarthritis dari masing-masing kelompok perlakuan dosis (dosis 1, 2 dan 3) serta kontrol diklofenak, dilakukan penghitungan persentase penurunan volume udem rata-rata. Persentase penghambatan udem diperoleh dengan membandingkan penurunan volume udem kelompok bahan uji (dosis 1, 2 dan 3) dan kontrol diklofenak dengan kelompok induksi. Hasil penghitungan persentase penghambatan dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan perbandingan antar kelompok pada Gambar 4.3.

Tabel 4.3. Persentase penghambatan udem dan rata-rata tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Persentase penghambatan udem (%)			
	Hari-7	Hari-14	Hari-21	Hari-28
Kontrol Diklofenak	33,33	17,47	8,33	4,76
Rumput Mutiara Dosis 1	11,43	33,98	16,67	7,62
Rumput Mutiara Dosis 2	25,71	19,42	20,83	21,90
Rumput Mutiara Dosis 3	5,71	11,65	21,87	12,38

Keterangan: Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb.

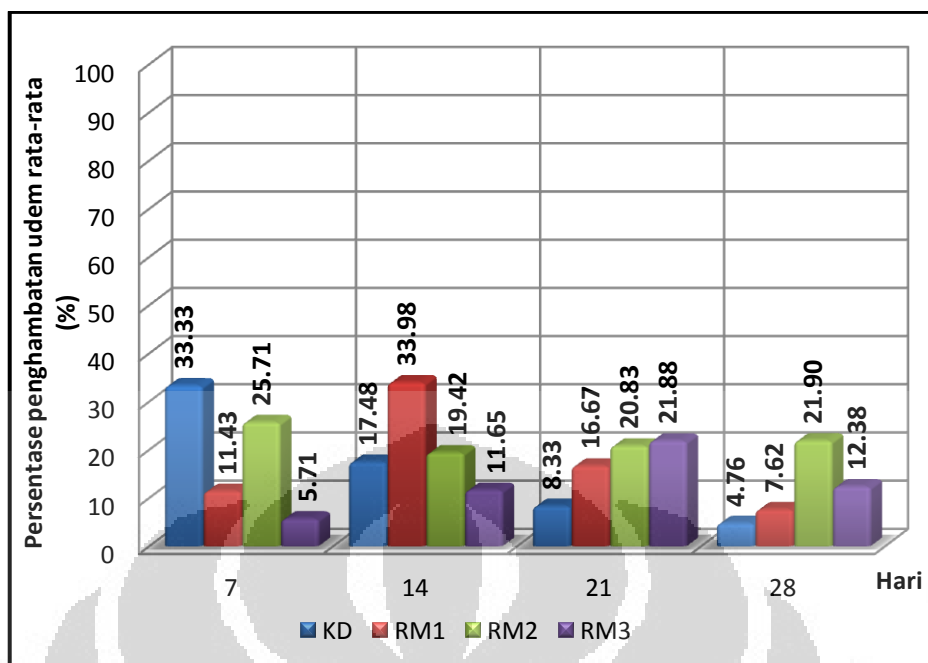
Pada hari ke-7, persentase penghambatan udem tertinggi kelompok bahan uji, persentase penghambatan tertinggi dimiliki oleh kelompok dosis 2, walaupun

maasih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol diklofenak. Pada hari ke-14, persentase penghambatan udem tertinggi pada kelompok bahan uji ditunjukkan oleh kelompok dosis 1. Kelompok dosis 1 dan 2 memiliki persentase penghambatan udem lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol diklofenak.

Pada hari ke-21, dari penghitungan persentase penghambatan udem, diperoleh hasil yaitu kelompok dosis 3 memiliki persentase penghambatan yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lain. Akan tetapi perbedaannya dengan kelompok dosis 2 tidak terlalu berbeda jauh. Seluruh kelompok bahan uji memiliki persentase penghambatan udem yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol diklofenak. Kelompok kontrol diklofenak merupakan kelompok dengan persentase penghamabatan udem terendah di antara kelompok lain. Hal ini menunjukkan ketidakmampuan natrium diklofenak dalam mengobati inflamasi kronik.

Pengukuran pada hari ke-28, persentase penghambatan udem tertinggi pada kelompok bahan uji, ditunjukkan oleh kelompok dosis 2. Penghambatan udem terendah pada kelompok bahan uji ditunjukkan oleh kelompok dosis 1. Seluruh kelompok bahan uji memiliki persentase penghambatan udem lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol diklofenak. Hal ini menunjukkan kemampuan ekstrak etanol rumput mutiara sebagai antiinflamasi kronik yang terjadi akibat artritis reumatoid.

Perbandingan persentase penghambatan udem tertinggi pada hari ke-7 terjadi pada kelompok kontrol diklofenak dan makin menurun pada hari ke-14, 21 dan 28. Hal ini berhubungan dengan aksi penghambatan sitokin inflamasi yang dimiliki oleh natrium diklofenak, sehingga kerjanya hanya mampu menghambat tanpa mengurangi jumlah sitokin yang terbentuk, berbeda dengan kelompok rumput mutiara dosis 2 dan 3 dimana terjadi peningkatan pada tiap pengukuran.



Keterangan: KD = kontrol diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb).

Gambar 4.3. Perbandingan persentase penghambatan udem tiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, 21 dan 28 setelah induksi

Peningkatan penghambatan udem pada bahan uji ekstrak etanol rumput mutiara membuktikan bahwa mekanisme kerja antiartritis dari ekstrak etanol rumput mutiara berbeda dengan natrium diklofenak. Pada ekstrak etanol rumput mutiara terkandung flavonoid yang juga memiliki efek antiinflamasi melalui mekanisme kerja menekan peningkatan jumlah sitokin proinflamasi (Park et al., 2008; Hirano et al., 2006). Kemungkinan onset bahan uji lebih lambat dibandingkan dengan natrium diklofenak, sehingga efek penghambatan udem yang terjadi lebih lama jika dibandingkan dengan natrium diklofenak.

Pemberian variasi dosis belum menunjukkan dosis yang efektif sebagai antiartritis. Hal ini dapat terlihat pada volume udem dan persentase penghambatan volume udem yang masih fluktuatif antar dosis bahan uji.

4.4 Uji Pengaruh Pada Sistem Imun

Pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol rumput mutiara terhadap sistem imun ditinjau dari jumlah leukosit, limfosit dan granulosit, dilakukan pada hari ke-14 dan 28. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui pembuluh vena pada sinus orbital dengan tujuan agar sampel darah yang terkumpul lebih banyak, sehingga tidak diperlukan pengenceran pada saat penghitungan. Sampel darah dikumpulkan dengan menggunakan pipa hematokrit. Pengambilan darah dilakukan dengan menganestesisikan tikus terlebih dahulu. Volume darah yang diambil sebanyak 2 ml kemudian ditampung dalam tabung khusus yang berisi K₃EDTA sebagai antikoagulan (WHO, 1996). Pengocokan harus dilakukan segera setelah pengambilan sampel agar antikoagulan dapat tercampur rata.

Sampel darah kemudian dianalisis dengan menggunakan *hematology analyzer*. Alat ini bekerja dengan prinsip pengenceran. Penghitungan dilakukan dengan cara bekerja dengan menghitung jumlah sel darah yang melewati detektor, sehingga harus dipastikan tidak ada sampel darah yang menggumpal dan membuat penghitungan gagal dengan cara pengocokan sebelum dilakukan penghisapan.

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-14 dan ke-28 setelah induksi dengan CFA mencapai onset. Penghitungan yang dilakukan meliputi jumlah leukosit, jumlah limfosit total dan granulosit. Ketiga parameter ini merupakan indikator tingkat keparahan dalam artritis reumatoid. Hasil penghitungan kemudian dibandingkan dan diuji secara statistik.

4.4.1 Penghitungan Jumlah Leukosit

Hasil penghitungan leukosit pada hari ke-14, kelompok induksi menunjukkan jumlah rata-rata leukosit yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Hal ini mungkin disebabkan oleh tingkat keparahan artritis belum terlalu tinggi, sehingga belum terlalu berpengaruh pada sistem imun secara sistemik. Pada kelompok bahan uji ekstrak etanol rumput mutiara, kelompok dosis 3 memiliki jumlah leukosit rata-rata yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Akan tetapi, kelompok dosis 3 memiliki jumlah leukosit yang tidak berbeda jauh dengan kelompok kontrol

induksi. Kelompok bahan uji (dosis 1, 2 dan 3) memiliki jumlah leukosit yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol normal dan diklofenak.

Uji statistik jumlah leukosit pada hari ke-14 menunjukkan hasil yaitu data jumlah tidak memiliki perbedaan bermakna antar kelompok. Tidak adanya perbedaan bermakna pada jumlah leukosit menunjukkan pengaruh induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) belum menghasilkan efek sistemik pada sistem imun atau pemberian ekstrak etanol rumput mutiara selama 2 minggu belum mampu mempengaruhi jumlah leukosit.

Tabel 4.4. Jumlah rata-rata leukosit pada tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

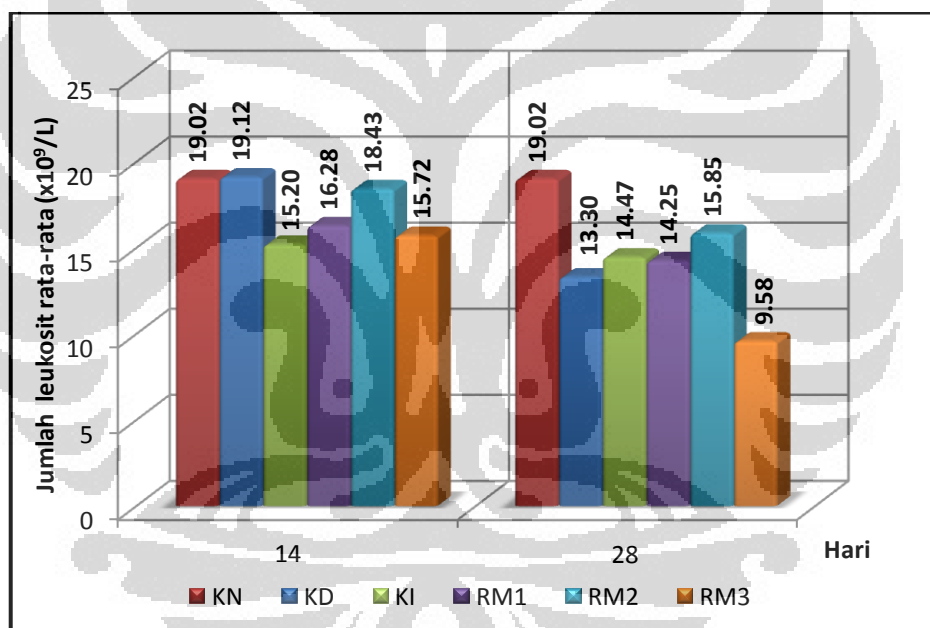
Perlakuan	Jumlah leukosit rata-rata ($\times 10^9/L$) \pm SD	
	Hari-14	Hari-28
Kontrol Normal	19,02 \pm 3,04	19,02 \pm 1,98
Kontrol Diklofenak	19,12 \pm 1,16	13,30 \pm 0,78
Kontrol Induksi	15,20 \pm 0,71	14,47 \pm 1,52
Rumput Mutiara Dosis 1	16,28 \pm 1,88	14,25 \pm 0,98
Rumput Mutiara Dosis 2	18,43 \pm 3,72	15,85 \pm 1,28
Rumput Mutiara Dosis 3	15,72 \pm 0,88	9,58 \pm 1,23*

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb. (*) Berbeda bermakna secara statistik dengan kontrol induksi.

Pada hari ke-28, perbandingan jumlah leukosit pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan kelompok bahan uji dosis 3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Kelompok dosis 3 juga memiliki jumlah leukosit yang lebih rendah dibandingkan kontrol induksi dan normal. Sementara pada kelompok dosis 1 dan dosis 2, jumlah leukosit rata-rata tidak jauh berbeda dengan kelompok induksi, tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kontrol diklofenak.

Seluruh kelompok perlakuan memiliki jumlah leukosit rata-rata yang lebih rendah dibandingkan kontrol normal. Jumlah leukosit rata-rata tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Data jumlah leukosit pada hari ke-28, diuji secara statistik dan diperoleh hasil bahwa perbedaan bermakna terhadap kontrol induksi hanya dipenuhi oleh kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol rumput mutiara dosis 3 (142,07 mg/200 g bb). Hasil statistik juga menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dengan kontrol diklofenak, sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan uji dosis 3 memiliki kemampuan yang sama seperti natrium diklofenak 1 mg/200 g bb. Perbandingan jumlah leukosit rata-rata tiap kelompok pada hari ke-14 dan ke-28 dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Keterangan: KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), KD = kontrol Diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), KI = kontrol Induksi (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb).

Gambar 4.4. Perbandingan jumlah rata-rata leukosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

Jumlah leukosit yang turun disebabkan karena kerja flavonoid sebagai zat aktif dalam rumput mutiara yang bekerja dengan cara menghambat pelepasan sitokin proinflamasi. Penghambatan pelepasan sitokin ini menyebabkan penghambatan aktivasi leukosit polimorfonukleat yang akan mempengaruhi jumlah leukosit secara keseluruhan.

4.4.2 Penghitungan Jumlah Limfosit

Seperti halnya jumlah leukosit rata-rata pada hari ke-14, hasil penghitungan jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-14 juga menunjukkan jumlah rata-rata limfosit tertinggi pada kelompok normal. Kelompok dosis 1 merupakan kelompok dengan jumlah limfosit terendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Kelompok dosis 1 juga memiliki jumlah limfosit rata-rata yang lebih rendah dibandingkan kontrol induksi. Meskipun begitu, kelompok bahan uji dosis 2 dan 3 memiliki jumlah limfosit rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan kontrol induksi. Seluruh kelompok bahan uji memiliki jumlah limfosit rata-rata yang lebih rendah dibandingkan kontrol normal dan diklofenak.

Jumlah limfosit rata-rata tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.5. Hasil uji statistik untuk jumlah limfosit pada hari ke-14 menunjukkan jumlah limfosit antar tiap kelompok tidak memiliki perbedaan bermakna. Jumlah limfosit rata-rata pada hari ke-28 menunjukkan kelompok dosis 3 merupakan kelompok dengan jumlah limfosit rata-rata terendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji lain. Kelompok bahan uji dosis 1 dan dosis 3 merupakan kelompok dengan perbedaan yang signifikan dengan kelompok induksi. Jumlah limfosit rata-rata kelompok dosis 1 dan 3 lebih rendah dibandingkan kontrol normal, induksi dan diklofenak. Kelompok dosis 3 merupakan kelompok dengan jumlah limfosit rata-rata terendah dibandingkan dengan kelompok lain.

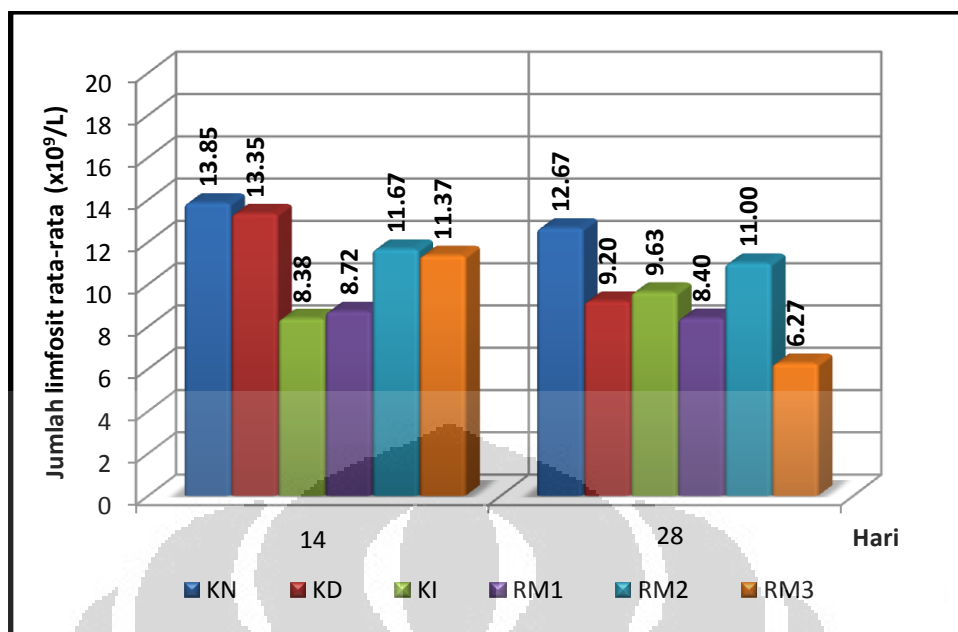
Hasil uji statistik jumlah limfosit pada hari ke-28, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok dosis 3 dengan kelompok induksi. Jumlah limfosit rata-rata kelompok variasi dosis 1 dan 2 tidak mengalami perubahan yang signifikan apabila dibandingkan dengan kelompok dosis 3. Kelompok kontrol induksi mengalami peningkatan jumlah limfosit. Hal ini sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa induksi dengan CFA merupakan model induksi yang

bergantung terhadap limfosit (Hegen, Keith Jr, Collins & Nickerson-Nutter, 2007). Perbandingan jumlah limfosit rata-rata antar kelompok dapat dilihat pada Gambar 4.5. Limfosit berperan dalam pengenalan antigen pada awal terjadinya artritis dan termasuk ke dalam respon imun adaptif, sehingga lebih berperan dalam inflamasi yang bersifat akut.

Tabel 4.5. Jumlah rata-rata limfosit dari tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

Perlakuan	Jumlah rata-rata limfosit ($\times 10^9/L$) \pm	
	SD	
	Hari-14	Hari-28
Kontrol Normal	13,85 \pm 2,67	12,67 \pm 1,39
Kontrol Diklofenak	13,35 \pm 1,52	9,2 \pm 0,73
Kontrol Induksi	8,38 \pm 0,75	9,63 \pm 0,8
Rumput Mutiara Dosis 1	8,72 \pm 1,66	8,4 \pm 0,26
Rumput Mutiara Dosis 2	11,67 \pm 2,66	11 \pm 0,87
Rumput Mutiara Dosis 3	11,37 \pm 0,77	6,27 \pm 0,93*

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb. (*) Berbeda bermakna secara statistik dengan kontrol induksi.



Keterangan: KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), KD = kontrol Diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), KI = kontrol Induksi (larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb).

Gambar 4.5. Perbandingan jumlah rata-rata limfosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

4.4.3 Penghitungan Jumlah Granulosit

Granulosit selain sebagai parameter sistem imun, juga merupakan parameter inflamasi, terutama neutrofil. Jumlah granulosit rata-rata dari tiap kelompok pada hari ke-14, kelompok bahan uji dosis 3 merupakan kelompok dengan jumlah granulosit rata-rata terendah dibandingkan dengan kelompok bahan uji dosis 1 dan 2. Kelompok dosis 3 memiliki jumlah granulosit yang lebih rendah dibandingkan kelompok induksi dan normal. Akan tetapi, kelompok dosis 1 dan 2 memiliki jumlah granulosit rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol induksi dan normal. Jumlah granulosit rata-rata kelompok dosis 1 dan 2 tidak berbeda jauh dengan kontrol diklofenak. Perbedaan signifikan terjadi antara kelompok dosis 3 dengan kelompok kontrol induksi dan normal, meskipun tidak ada perbedaan bermakna secara statistik.

Data jumlah granulosit rata-rata pada hari ke-28 menunjukkan jumlah granulosit terendah terjadi pada kelompok dosis 3 dibandingkan kelompok bahan

uji yang lain. Jumlah granulosit pada kelompok dosis 2 tidak jauh berbeda dengan kontrol diklofenak, tetapi lebih rendah dibandingkan kontrol induksi. Jumlah granulosit rata-rata kelompok dosis 2 dan 3 lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol induksi, diklofenak dan normal. Kelompok dosis 3 memiliki jumlah granulosit rata-rata yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol normal, induksi dan diklofenak. Jumlah granulosit rata-rata pada tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.6. Untuk lebih jelas mengenai perbandingan jumlah granulosit rata-rata tiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 4.6.

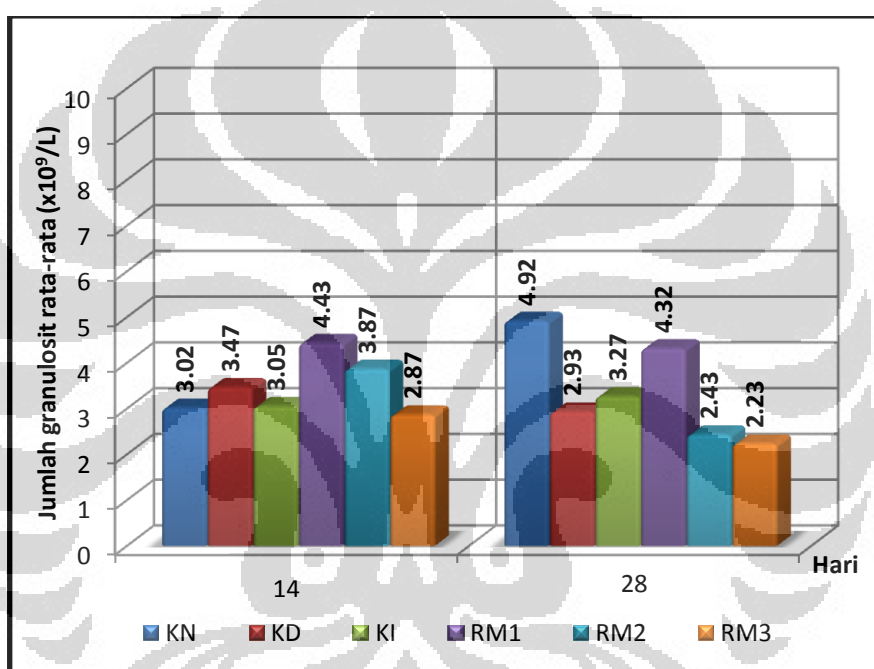
Tabel 4.6. Jumlah rata-rata granulosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

Perlakuan	Jumlah rata-rata granulosit ($\times 10^9/L$) \pm SD	
	Hari-14	Hari-28
Kontrol Normal	3,02 \pm 0,67	4,92 \pm 0,89
Kontrol Diklofenak	3,46 \pm 0,57	2,93 \pm 0,27
Kontrol Induksi	3,05 \pm 0,38	3,26 \pm 0,73
Rumput Mutiara Dosis 1	4,43 \pm 1,12	4,31 \pm 0,76
Rumput Mutiara Dosis 2	3,86 \pm 0,89	2,43 \pm 0,33
Rumput Mutiara Dosis 3	2,86 \pm 0,45	2,23 \pm 0,36

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb.

Hasil uji statistik untuk data granulosit pada hari ke-28 menunjukkan bahwa perbedaan bermakna hanya terjadi pada kelompok dosis 3 dengan dosis 1 dan kelompok dosis 1 dengan dosis 2 dan dosis 3. Kelompok bahan uji (dosis 1, 2 dan 3) tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol

diklofenak, sehingga dapat dikatakan penurunan jumlah granulosit pada kelompok dosis 3 sama dengan kelompok kontrol diklofenak. Selain itu, tidak adanya perbedaan bermakna jumlah granulosit antara kelompok dosis 3 dengan kontrol induksi sesuai dengan volume udem yang meningkat, menunjukkan bahwa inflamasi yang disebabkan oleh artritis tidak dapat ditahan dengan pemberian ekstrak. Jumlah granulosit sebagai salah satu mediator inflamasi, termasuk di dalamnya neutrofil, tidak mengalami penurunan, sehingga volume udem tidak mampu diturunkan lagi.



Keterangan: KN = kontrol normal (larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb), KD = kontrol Diklofenak (suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb), KI = kontrol Induksi (larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb), RM1 = kelompok dosis 1 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), RM2 = kelompok dosis 2 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb), RM3 = kelompok dosis 3 (suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb).

Gambar 4.6. Perbandingan jumlah rata-rata granulosit tiap kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan 28 setelah induksi

4.4.4 Pengukuran Berat Limfa

Limfa yang diperoleh dari hewan uji diambil setelah dilakukan pembedahan (Gambar 4.7). Penimbangan dilakukan sesegera mungkin saat limfa masih segar. Kelompok bahan uji dengan berat limfa rata-rata terendah adalah

kelompok dosis 3. Kelompok dosis 3 juga merupakan kelompok dengan berat limfa rata-rata lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol induksi. Sementara itu, kelompok dosis 1 dan 2 memiliki berat limfa rata-rata yang lebih tinggi dibandingkan kontrol induksi. Berat rata-rata limfa kelompok dosis 3 juga lebih rendah dibandingkan kontrol normal dan kontrol diklofenak. Berat rata-rata limfa antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Hasil uji statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antar tiap kelompok. Perbandingan antar tiap kelompok juga sulit dilakukan sebab berat rata-rata limfa pada kelompok kontrol induksi lebih rendah dibanding kelompok normal. Hal ini mungkin disebabkan karena induksi dengan CFA belum mempengaruhi sistem imun secara sistemik, sehingga tidak terjadi splinomegali pada kelompok yang diinduksi dengan CFA.

Tabel 4.7. Berat rata-rata limfa pada tiap kelompok perlakuan

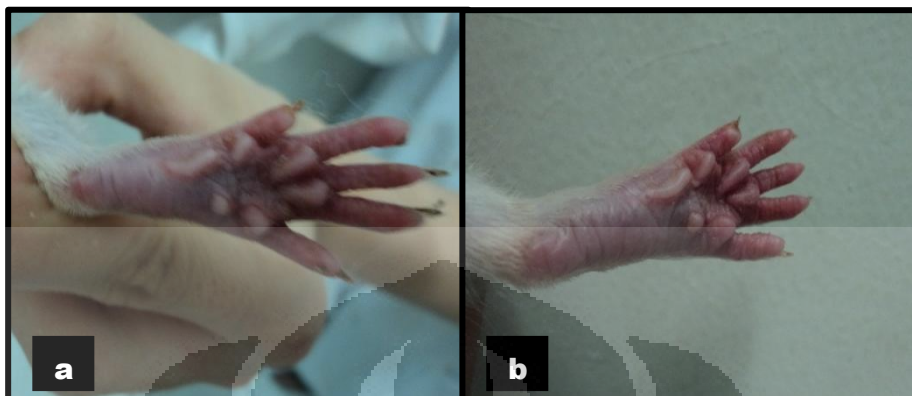
Perlakuan	Berat rata-rata limfa (gram) \pm SD
Kontrol Normal	0.82 \pm 0.24
Kontrol Diklofenak	0.88 \pm 0.21
Kontrol Induksi	0.66 \pm 0.15
Rumput Mutiara Dosis 1	0.71 \pm 0.09
Rumput Mutiara Dosis 2	0.80 \pm 0.17
Rumput Mutiara Dosis 3	0.62 \pm 0.15

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb.

4.5 Hubungan Arthritis Reumatoid dengan Sistem Imun

Pada uji efek antiartritis, tidak terbuktinya adanya efek antiartritis dalam kelompok dengan pemberian variasi dosis ekstrak etanol rumput mutiara. Parameter yang digunakan adalah volume udem kaki dari hewan uji. Udem merupakan salah satu tanda primer dari arthritis. Tanda pembengkakan pada

telapak kaki tikus yang normal dengan yang diinduksi CFA dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Perbandingan telapak kaki tikus normal (a) dan yang diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (b)

Pengukuran volume udem dan penghitungan persentase rata-rata penurunan udem tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara baik antar kelompok kontrol induksi dengan kelompok kontrol diklofenak maupun kelompok kontrol induksi dengan kelompok variasi dosis (dosis 1, 2 dan 3). Pada hari terakhir pengukuran volume udem, terjadi peningkatan volume udem rata-rata pada tiap kelompok. Hal ini mungkin berhubungan dengan tingkat keparahan dari hasil induksi dengan menggunakan CFA sudah tidak mampu lagi ditahan oleh efek obat.

Berbeda dengan pengaruhnya yang tidak efektif dalam menurunkan volume udem, pemberian ekstrak etanol rumput mutiara menunjukkan pengaruh pada sistem imun. Pemberian ekstrak etanol rumput mutiara menyebabkan penurunan pada jumlah leukosit, limfosit serta granulosit sebagai parameter sistem imun. Penghitungan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit pada hari ke-14 masih belum menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok hewan uji. Penurunan rata-rata terjadi setelah 28 hari pemberian dengan kelompok dosis 3 (142,07 mg/200 g bb tikus) menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok induksi pada jumlah leukosit dan limfosit. Sementara itu, jumlah granulosit tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok induksi, sesuai dengan peningkatan volume udem pada hari ke-28. Hal ini terjadi dikarenakan granulosit

terdiri dari neutrofil dan basofil yang diketahui sebagai sitokin pencetus inflamasi, sehingga jumlah granulosit yang tidak terlalu menurun menyebabkan inflamasi terus terjadi. Jumlah leukosit, limfosit dan granulosit seluruh kelompok pada hari ke-14 dan 28 dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan 4.9.

Pada kelompok rumput mutiara dosis 1 dan 2, terjadi penurunan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit, tetapi tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok induksi. Jumlah rata-rata leukosit pada kelompok induksi tidak mengalami perubahan setelah hari ke-28, sementara jumlah rata-rata limfosit dan pada kelompok normal mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa induksi dengan CFA berhasil menyebabkan inflamasi kronik yang menyebabkan peningkatan parameter sistem imun. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa artritis dengan induksi CFA merupakan model artritis yang berhubungan dengan sel T dan neutrofil (Hegen, Keith Jr, Collins & Nickerson-Nutter, 2007).

Penurunan jumlah leukosit, limfosit serta granulosit pada pemberian ekstrak etanol rumput mutiara, berhubungan dengan zat aktif yang terkandung di dalamnya, yaitu flavonoid yang diketahui juga memiliki efek antiinflamasi kronik, seperti artritis. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antiartritis juga berhubungan dengan efek antiinflamasi yang dimilikinya. Mekanisme kerja antiinflamasi flavonoid adalah melalui penghambatan pelepasan sitokin proinflamasi yang juga merupakan pencetus terjadinya aktivasi sistem imun (Park et al., 2008).

Kendala yang terjadi selama penelitian yang mungkin menyebabkan ketidaknormalan data udem antara lain, faktor alat berupa pletismometer yang masih manual, sehingga kurang akurat. Alat pengukur sel darah juga memiliki kekurangan yaitu sangat bergantung pada tegangan listrik yang kurang stabil yang menyebabkan hasil penghitungan leukosit dan komponennya tidak normal, sehingga sulit memperoleh data yang tepat. Pengocokan yang kurang cepat setelah sampel ditampung serta *sampling* yang kurang cepat, sehingga menimbulkan koagulasi dan berpengaruh dalam kerja alat menjadi kendala dalam penelitian ini. Penggunaan natrium diklofenak sebagai kontrol positif juga kurang berpengaruh terhadap sistem imun pada tikus yang mengalami artritis reumatoid, meskipun mampu menurunkan neutrofil, tetapi tidak mampu berpengaruh secara sistemik.

Meskipun mampu mempengaruhi jumlah faktor-faktor pencetus inflamasi, pemberian rumput mutiara pada variasi dosis yang diberikan (28,06 mg/200 g bb; 63,14 mg/200 g bb; dan 142,07 mg/200 g bb) belum mampu menghasilkan efek antiinflamasi dalam hal penurunan volume udem. Kemungkinan dikibatkan variasi dosis pemberian yang terlalu rendah, sehingga belum mampu menghasilkan efek antiinflamasi yang kuat, walaupun telah terjadi penurunan faktor-faktor pencetus inflamasi.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Pemberian bahan uji berupa ekstrak etanol 70% rumput mutiara dengan variasi dosis 28,06 mg/200 g bb; 63,14 mg/200 g bb; dan 142,07 mg/200 g bb, belum mampu menghasilkan efek antiartritis diamati dari parameter penurunan volume udem telapak kaki pada tikus yang diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant*.
2. Pemberian ekstrak etanol 70% rumput mutiara dengan dosis 142,07 mg/200 g bb selama 28 hari memberikan pengaruh pada sistem imun melalui penurunan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antiartritis ekstrak etanol 70% rumput mutiara dengan variasi dosis yang lebih tinggi sebab dosis tertinggi (142,07 mg/200 g bb) dalam penelitian ini telah mampu menurunkan faktor-faktor inflamasi, namun belum mampu menurunkan volume udem.
2. Pemilihan jenis obat sebagai kontrol positif sebaiknya dipilih yang selain memiliki efek antiartritis juga memberikan efek immunosupresif, seperti metotreksat.

DAFTAR ACUAN

- Abbas, A. K. (2005). *Disease of Immunity*. Dalam: Kumar, V., Abbas A. K., Fausto, N. (eds): *Pathologic Basis of Disease 7th edition*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 193-267.
- Ahmad, R., Ali, A.M., Israf, D.A., Ismail, N.H., Shaari, K., Lajis, N.Hj. (2005)., Radical-scavenging, Anti-inflammatory, Cytotoxic and Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Some *Hedyotis* species. *Life Sciences*, 76, 1953-1964.
- Bahtiar, A., Nakamura, T., Kishida, K., Katsura, J., & Nitta, M. (2011). The L-Ser analog #290 promotes bone recovery in OP and RA mice. *Pharmacological Research*, 64, 203-209.
- Behal, N., Singh Kanwar, N., Sharma, P. & Sanyal, S. N. (2009). Effect of non-steroidal anti-inflammatory drug etoricoxib on the hematological parameters and enzymes of colon and kidney. *Nutr. Hosp.*, vol. 24, 3, 326-332.
- Bendele, A., McComb, J., Gould, T.Y., Mcabee, T., Sennello, G., Chlipala, E., Guy, M. (1999). Animal Models of Arthritis: Relevance to Human Disease. *Toxicologic Pathology*, vol. 27, no. 1, 134-142.
- Bendele, A.M. (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact*; 1(4), 377-385.
- Biradar, S., Kangralkal, V.A., Mandavkar, Y., Thokur, M., & Chougule, N. (2010). Anti-inflammatory, anti-arthritic, analgesic, and anticonvulsant activity of cyperus essential oil. *International Journal of pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol.2, No.4, 112-115.
- Corwin, Elizabeth J. (2008). *Buku Saku Patofisiologi, Ed. 3* (Nike Budhi Subekti, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 347-349.
- Cushnaghan, J., McDowell, J. (2007). *Rheumatological Conditions*. Dalam: Sarah, R. (ed.). *Drug Therapy In Rheumatology Nursing Second Edition*. England: John Wiley & Sons, Ltd, 1-53.
- Dahlan, M. S. (2009). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan (ed.4)*. Jakarta : Salemba Medika.
- Daud, R. (2007). *Artritis Reumatoid*. Dalam: Sudoyo, Aru W., et al. (ed.). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1174-1182.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 119-123.
- Departemen Kesehatan Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia (ed.1)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 174-175.
- Dipiro, J.T., Talbert, R. L., Gary, C.Y., R.M., Weels, B.G., Posey, L.M. (2006). *Pharmacotherapy : A pathophysiologic approach* (6rd edition). U.S.A: The McGraw-Hill.
- Federer, W.T. (1991). *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation 2nd ed.* New York: Marcel Dekker.
- Firestein, Gary S. (2003). Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*, vol 423, 356-361.
- Førre, Ø., Thoen, J., Natvig, J.B. (1983). Effects of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs on The Immune Network. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, Volume 13, Issue 1, Supplement 1, 130-133.
- Glimcher, L.H., Murphy, K. M. (2000). Lineage commitment in the immune system: the T *helper* lymphocyte grows up. *Genes Dev.*, volume 14, 1693-1711.
- Guidelines for the research use of adjuvant.* (2005). Januari 15, 2012. <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/freunds.pdf>.
- Health Professions Division. (1996). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th edition. USA: McGraw-Hill, 637.
- Hegen, M., Keith Jr, J. C., Collins, M., Nickerson-Nutter, C.L. (2007). Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 67:1505–1515.
- Hirano, T. et al. (2006) Luteolin, a flavonoid, inhibits AP-1 activation by basophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 340, 1-7.
- Hoff, Janet. (2000). Method of Blood Collection in the Mouse. *Lab Animal Volume*, 29, No. 10, 47-53.
- Jusman, S. W., & Halim, A. (2009). Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara kesehatan*, 13 (1), 34-38.
- 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.

- Khurana, R., Berney, S.M. (2005). Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Patophysiology*, volume 12, 153-165.
- Kim, HP., Son KH., Chang, HW. & Kang, SS. (2004). Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 1-7.
- Kitagata-cho, N. (2007). *Red Ginger Extract: All Natural Anti-Arthritic & Anti-inflammatory Agent for Food & Cosmetics Applications*. Ichinomiya-city, Japan: Oryza Oil & Fat Chemical, 1-21.
- Klickstein, L.B., Shapleigh C., Goetzl., E.J. (1980). Lipoxygenation of Arachidonic Acid as a Source of Polymorphonuclear Leukocyte Chemotactic Factors in Synovial Fluid and Tissue in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis. *Journal Clinical Investigation*, volume 66, 1166-1170.
- Lipsky, P. E. (2006). *Rheumatoid Arthritis*. Dalam: Fauci, A.S. et al. (eds.). *Harrison's Rheumatology*. USA: McGraw-Hill, 85-105.
- Mishra, K., Dash, A.P., Swain, B.K. & Dey, N. (2009). Anti-malarial activities of *Andrographis paniculata* and *Hedyotis corymbosa* extracts and their combination with curcumin. *Malaria Journal*, volume 8, 26.
- Mulyaningsih, S., & Darmawan, E. (2006). Efek Anti Arthritis Pisang Ambon (*Musa paradisiacal sapientum* L.) dan Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) terhadap *Adjuvant-Induced Arthritic* Pada Tikus. *Biodeversitas*, Vol.7, No.3, 273-277.
- Nasution, A.R. & Sumaryono. (2007). *Introduksi Reumatologi*. Dalam: Sudoyo, Aru W., et al. (ed.). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1073-1077.
- Ohnmacht, C., Voehringer, D. (2009). Basophil effector function and homeostatis during helminth infection. *The American Society of Hematology*, volume 113, 2816-2825.
- Park, H. H., et al. (2008). Flavonoids Inhibit Histamine Release and Expression of Proinflammatory Cytokines in Mast Cells. *Arch Pharm Res*, volume 31, No 10, 1303-1311.
- Parmar, N.S., Prakash, Siv. (2006). *Screening Methods in Pharmacology*. Oxford: Alpha Science International Ltd.
- Parnham, M.J. (1999). Antirheumatic Agents and Leukocyte Recruitment: New Light on The Mechanism of Action of Oxaceprol. *Biochemical Pharmacology*, vol. 58, 209-215.

- Paulos, C. M., Varghese, B., Widmer, W. R., Breur, G. J., Vlashi, E., & Low, P. S. (2006). Folate-targeted immunotherapy effectively treats established adjuvant and collagen-induced arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 8, 77.
- Price, Sylvia A., dan Lorraine M. Wilson. (2003). *Patofisiologi Kosep Klinis proses-Proses Penyakit Volume 1*, ed. 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 56-79.
- Rosenberg, A.E. (2005). *Bones, Joints and Soft Tissue Tumors*. Dalam: Kumar, V., Abbas A. K., Fausto, N. (eds): *Pathologic Basis of Disease 7th edition*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1273-1324.
- Sadasivan, S., Latha, P.G., Sasikumar, J.M., Rajashekar, S., Shyamal, S., Shine, V.J. (2006). Hepatoprotective studies on *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. *Journal of Ethnopharmacology*, 106, 245-249.
- Sarastani, D., Soekarto, S.T., Muchtadi, T.R., Fardiaz, D., Apriyantono A. (2002). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, vol. XIII, no.2, 149-156.
- Schett, G. & Redlich, K. (2009). *Osteoclasts and Osteoblasts*. Dalam: Hochberg M.C. et al. (eds.). *Rheumatoid Arthritis*. Philadelphia: Mosby Elsevier, 163-167.
- Sherwood, L. (2001). *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem* (Brahm U. Pendit, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 354-356.
- Shi, HZ. (2004). Eosinophils function as antigen-presenting cells. *Journal of Leukocyte Biology*, volume 76, 520-527.
- Siddalingappa, C.M., Rajesh, T., Kudagi, B.L., Krishnakanth, K. & Sujith, T.R. (2011). Evaluation Of Analgesic And Anti-Inflammatory Activities Of *Tinospora cordifolia* In Rodents. *International Journal of Basic Medical Science*, volume 2, issue : 5, 306-311.
- Soenarto. (2007). *Inflamasi*. Dalam: Sudoyo, Aru W., et al. (ed.). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1107-1117.
- Symmons, D., Mathers, C., Pflger, B. (2006). *The global burden of rheumatoid arthritis in the year 2000*. *Global Burden of Disease*, 1-35.
- Tsuruda, K., et al. (1999). Evaluation and Clinical Usefulness of the Automated Hematology Analyzer, Sysmex XE-2100 TM. *Sysmex Journal International*, vol.9 no.2, 129-138.

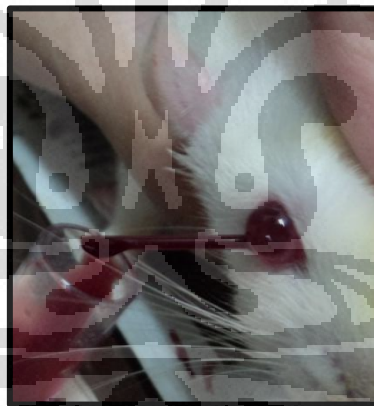
- United States Department of Agriculture. (2000). *PLANTS Profile for Oldenlandia corymbosa L. Lam.* Januari, 16 2012. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=OLCO>.
- Utsinger , P., Zvaifler, N., Ehrlich, G. (1985). *Rheumatoid arthritis*. Philadelphia: J.B Lipincorr Company. 71-77, 555-568.
- Wells, B.G., Dipiro, J.T., Schwinghammer, T.L., Dipiro C.V. (2009). *Pharmacoteraphy Handbook Seventh Edition*. U.S.A: The McGraw-Hill, 31-41.
- Wijaya, S., S.W., Monica., (2004). Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Herba Suruhan (*Peperomia pellucid L. Kunth*) Pada Tikus Putih Betina. *Berk, Penel. Hayati*: 9, 115-118.
- Wijayakusuma, H., Wirian, A.S., Yaputra, T., Dalimartha, S., Wibowo, B. (1992). *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia Jilid I*. Jakarta: Pustaka Kartini.
- Wilmana, P.F., Gan, S. (2007). *Analgesik-antipiretik, analgesik-antiinflamasinon steroid dan obat pirai*. Dalam: Gunawan, S.G. (ed.). *Farmakologi dan Terapi (ed. 5)*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 230-246, 500-506.
- Winchester, R.J., Winfield, J.B., Siegal, F., Wernet, P., Bentwich, Z., Kunkel, H.G. (1974). Analysis of Lymphocytes from Patients with Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus: Occurance of Interfering Cold-Reactive Antilymphocyte Antibodies. *The Journal of Clinical Investigation*, volume 54, 1082-1092.
- Woode, E., Ainooson, G.K., Gyasi, E.B., Anash, C., Obiri, D.D., Koffour, G.A., Mensah, A., & Duwiejua, M. (2008). Anti-arthritic and antioxidant properties of the ethanolic stem bark extract of *Newbouldia laevis* (P. Beauv.) Seaman ex Bureau (Bignoniaceae). *J Med. Plants Res.*, Vol.2, No.8, 180-188
- World Health Organization. (1997). *Calibration and Control of Basic Blood Cell Counters*. 7-10.
- Wright, H.L, Moots, R.J., Bucknall, R.C., Edwards, S.W. (2010). Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Oxford University Press Rheumatology*, volume 49, 1618–1631.
- Yona, S., Jung, S. (2009). Monocytes: subsets, origins, fates and functions. *Current Opinion in Hematology*, volume 16, 1-7.

GAMBAR





Gambar 3.1. Pengukuran volume udem pada telapak kaki tikus menggunakan plethysmometer



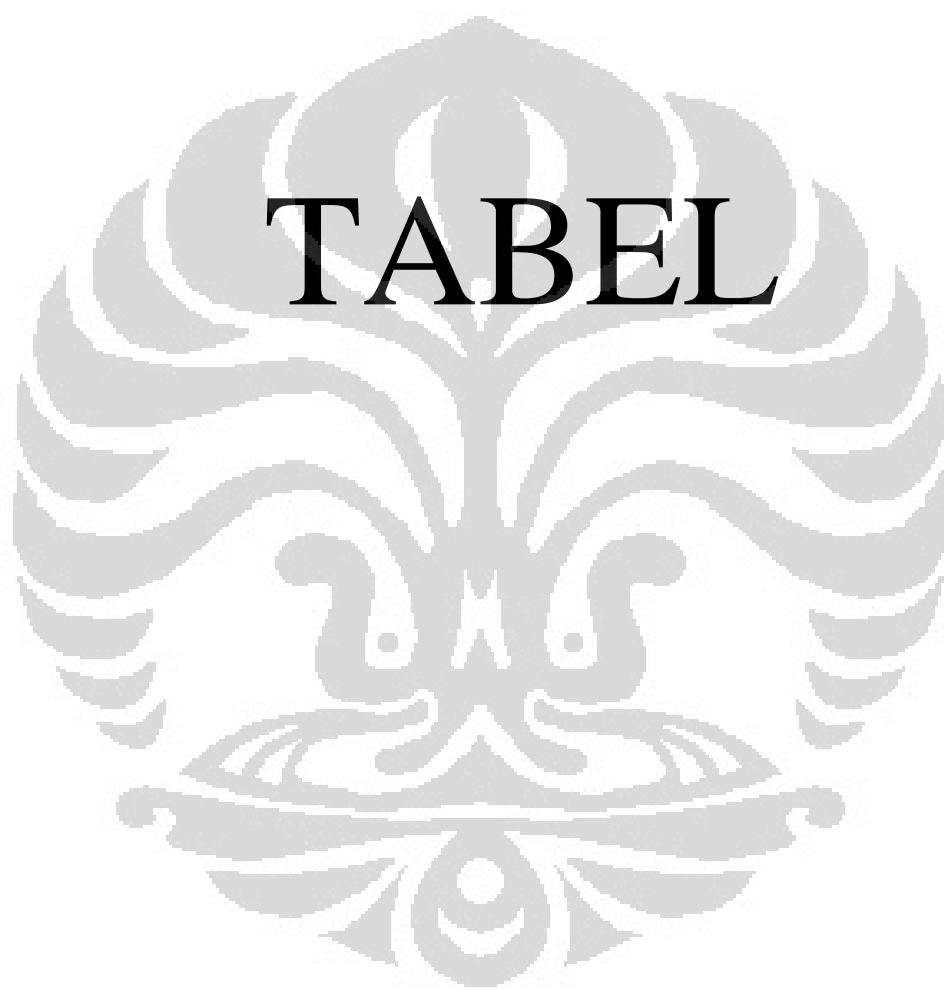
Gambar 3.2. Pengambilan sampel darah dari sinus orbital



Gambar 3.3. *Hematology analyzer (Medonic M-series)*



Gambar 4.7. *Limfa tikus*



Tabel 4.8. Volume telapak kaki tikus pada hari ke-1 hingga hari ke-28

Perlakuan	Ulangan (N)	Volume telapak kaki (μL)				
		Hari-1*	Hari-7	Hari-14	Hari-21	Hari-28
Kontrol Normal	1	24,00	28,00	24,00	25,00	24,00
	2	25,00	27,00	25,00	24,00	25,00
	3	25,00	27,00	27,00	26,00	25,00
	4	23,00	24,00	23,00	24,00	24,00
	5	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00
	6	23,00	23,00	22,00	23,00	23,00
	Rata-rata	23.83	25.33	24.00	24.17	24.00
	SD	0.98	2.25	1.79	1.17	0.89
Kontrol diklofenak	1	27,00	35,00	35,00	43,00	47,00
	2	25,00	37,00	43,00	52,00	43,00
	3	21,00	35,00	36,00	28,00	34,00
	4	24,00	41,00	49,00	46,00	49,00
	5	24,00	34,00	34,00	33,00	35,00
	6	22,00	31,00	31,00	29,00	35,00
	Rata-rata	23.83	35.50	38.00	38.50	40.50
	SD	2.14	3.33	6.69	9.89	6.68
Kontrol Induksi	1	23,00	43,00	46,00	48,00	51,00
	2	25,00	50,00	46,00	43,00	41,00
	3	27,00	41,00	38,00	42,00	40,00
	4	21,00	38,00	38,00	35,00	37,00
	5	23,00	38,00	39,00	36,00	36,00
	6	21,00	35,00	36,00	32,00	40,00
	Rata-rata	23.33	40.83	40.50	39.33	40.83
	SD	2.34	5.27	4.37	5.99	5.34
Rumput Mutiar Dosis 1	1	26,00	43,00	42,00	43,00	48,00
	2	26,00	43,00	42,00	43,00	48,00
	3	26,00	43,00	38,00	41,00	43,00
	4	26,00	37,00	38,00	40,00	39,00

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	5	24,00	37,00	30,00	33,00	36,00
	6	26,00	44,00	32,00	34,00	37,00
	Rata-rata	25.67	41.17	37.00	39.00	41.83
	SD	0.82	3.25	5.02	4.43	5.34
Rumput Mutiara Dosis 2	1	25,00	35,00	28,00	34,00	49,00
	2	20,00	27,00	37,00	36,00	36,00
	3	26,00	38,00	39,00	34,00	36,00
	4	22,00	38,00	40,00	34,00	35,00
	5	25,00	41,00	40,00	41,00	34,00
	6	25,00	42,00	42,00	40,00	35,00
	Rata-rata	23.83	36.83	37.67	36.50	37.50
	SD	2.32	5.42	5.01	3.21	5.68
Rumput Mutiara Dosis 3	1	25,00	42,00	45,00	37,00	40,00
	2	25,00	38,00	38,00	37,00	37,00
	3	29,00	47,00	47,00	44,00	50,00
	4	23,00	48,00	39,00	36,00	43,00
	5	20,00	31,00	30,00	30,00	29,00
	6	27,00	42,00	41,00	40,00	42,00
	Rata-rata	24.83	41.33	40.00	37.33	40.17
	SD	3.12	6.25	6	4.63	6.97

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb. (*) sebelum induksi

Tabel 4.9. Jumlah leukosit, limfosit dan granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14

Perlakuan	Ulangan (N)	Jumlah ($\times 10^9/L$)		
		Leukosit	Limfosit	Granulosit
Kontrol Normal	1	28.1	20.4	4.4
	2	12.1	7.9	3.3
	3	12.4	9.5	1.1
	4	28.1	23.6	2
	5	14.4	9.6	1.9
	6	19	12.1	5.4
	Rata-rata	19.02	13.85	3.02
	SD	7.46	6.53	1.65
Kontrol diklofenak	1	17.2	11.2	4.7
	2	21.8	17.6	2.2
	3	15.7	9.5	3.1
	4	22.1	17.7	1.8
	5	21.1	14.2	5.4
	6	16.8	9.9	3.6
	Rata-rata	19.12	13.35	3.47
	SD	2.85	3.72	1.40
Kontrol Induksi	1	16.7	9.9	3.1
	2	16.6	9.6	3.3
	3	14	8.6	4.3
	4	12.3	8.6	3
	5	15.4	8.8	3.2
	6	16.2	4.8	1.4
	Rata-rata	15.20	8.38	3.05
	SD	1.74	1.84	0.94
Rumput Mutiara Dosis 1	1	19.8	10.7	7.6
	2	22.3	14.6	3.3
	3	11.3	2.2	1.6
	4	18.9	9.2	7.8

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	5	12.1	7.9	1.8
	6	13.3	7.7	4.5
	Rata-rata	16.28	8.72	4.43
	SD	4.62	4.07	2.74
Rumput Mutiara Dosis 2	1	12	8.9	1.1
	2	19.1	12.1	3
	3	36.4	24	4.1
	4	13.8	4.7	7.8
	5	14.8	10.1	3.8
	6	14.5	10.2	3.4
	Rata-rata	18.43	11.67	3.87
	SD	9.11	6.53	2.20
Rumput Mutiara Dosis 3	1	12.7	9.5	2.6
	2	14.8	9.3	4.6
	3	15.6	10.5	1.9
	4	18.9	12.5	2.1
	5	17.3	12.4	3.9
	6	15	14	2.1
	Rata-rata	15.72	11.37	2.87
	SD	2.15	1.89	1.12

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb.

Tabel 4.10. Jumlah leukosit, limfosit dan granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28

Perlakuan	Ulangan (N)	Jumlah ($\times 10^9/L$)		
		Leukosit	Limfosit	Granulosit
Kontrol Normal	1	20.7	12.9	6.3
	2	11	6.9	3.2
	3	15.2	11.7	1.6
	4	23.3	17.4	4.6
	5	22.4	13.6	7.3
	6	21.5	13.5	6.5
	Rata-rata	19.02	12.67	4.92
	SD	4.85	3.41	2.19
Kontrol Diklofenak	1	10.9	8.2	2.1
	2	15.6	11.4	3.3
	3	13.7	9.1	3.6
	4	15	11	3.1
	5	11.3	6.6	2.1
	6	13.3	8.9	3.4
	Rata-rata	13.3	9.2	2.93
	SD	1.90	1.78	0.66
Kontrol Induksi	1	14.1	8.9	2.1
	2	20	11.8	6.8
	3	17	11.6	2.4
	4	10.1	7.9	2.1
	5	14.8	10.5	3.3
	6	10.8	7.1	2.9
	Rata-rata	14.47	9.63	3.27
	SD	3.74	1.96	1.79
Rumput Mutiara Dosis 1	1	19.1	9.6	7.6
	2	13.4	8.5	3.9
	3	12.6	8.1	2.2
	4	13.8	7.8	4.7

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	5	12.9	8.3	3
	6	13.7	8.1	4.5
	Rata-rata	14.25	8.4	4.32
	SD	2.42	0.63	1.86
Rumput Mutiara Dosis 2	1	13.8	10.8	1.3
	2	17.7	12.2	1.7
	3	20.5	14.7	2.7
	4	13.5	9.7	3
	5	12.3	9.3	2.4
	6	17.3	9.3	3.5
	Rata-rata	15.85	11	2.433333
	SD	3.14	2.13	0.82
Rumput Mutiara Dosis 3	1	5.3	3.5	1.5
	2	10.9	8.1	1.2
	3	12.4	8	1.9
	4	10.4	6.1	3.5
	5	12.1	8.4	3
	6	6.4	3.5	2.3
	Rata-rata	9.58	6.27	2.23
	SD	3	2.29	0.88

Keterangan: Kontrol Normal = larutan CMC 0,5% 1 mg/200 g bb; Kontrol Diklofenak = suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb; Kontrol Induksi = larutan CMC 0,5% 2 ml/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 1 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 2 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 63,14 mg/200 g bb; Rumput Mutiara Dosis 3 = suspensi ekstrak etanol rumput mutiara 142,07 mg/200 g bb.



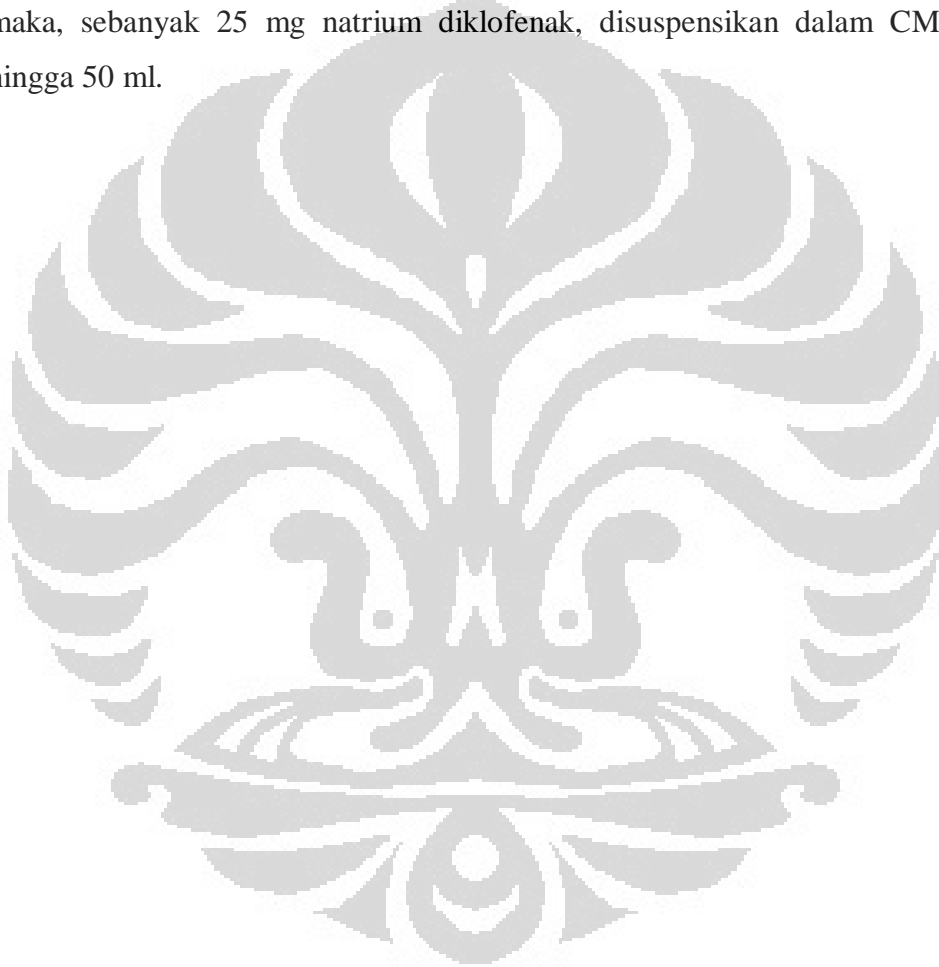
LAMPIRAN

Lampiran 1. Penentuan dosis dan pembuatan suspensi natrium diklofenak

Dosis natrium diklofenak untuk uji antiartritis adalah 1 mg/200 g bb tikus setiap hari secara oral. Dibuat dalam suspensi yang tiap 2 ml mengandung 1 mg natrium diklofenak. Untuk membuat 50 ml suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb, dibutuhkan natrium diklofenak:

$$50 \text{ ml} \times \frac{1 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} = 25 \text{ mg}$$

maka, sebanyak 25 mg natrium diklofenak, disuspensikan dalam CMC 0,5% hingga 50 ml.



Lampiran 2. Perhitungan dosis dan pembuatan suspensi ekstrak etanol rumput mutiara

Dosis uji yang digunakan pada penelitian ini adalah sesuai dosis penelitian adalah:

Dosis I = 160 mg/200 g bb tikus

Dosis II = 360 mg/200 g bb tikus

Dosis III = 810 mg/200 g bb tikus

Rendemen ekstrak yang diperoleh:

$$\frac{43,85 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\% = 17,54 \%$$

Pembuatan bahan uji dari ekstrak yang sudah diperoleh adalah sebagai berikut :

1. Dosis I ekstrak etanol 70% rumput mutiara = 160 mg/200 g bb, rendemen ekstrak yang diperoleh 17,54 %, maka berat dosis yang ditimbang:

$$160 \text{ mg} \times \frac{17,54}{100} = 28,06 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak etanol 70% rumput mutiara adalah 2 ml/200 g bb, maka: 28,06 mg/2 ml= 14,03 mg/ml.

2. Dosis II ekstrak etanol 70% rumput mutiara = 360 mg/200 g bb, rendemen ekstrak yang diperoleh 17,54 %, maka berat dosis yang ditimbang:

$$360 \text{ mg} \times \frac{17,54}{100} = 63,14 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak etanol 70% rumput mutiara adalah 2 ml/200 g bb, maka: 63,14 mg/2 ml= 31,57 mg/ml.

3. Dosis III ekstrak etanol 70% rumput mutiara = 810 mg/200 g bb, rendemen ekstrak yang diperoleh 17,54 %, maka berat dosis yang ditimbang:

$$810 \text{ mg} \times \frac{17,54}{100} = 142,07 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak etanol 70% rumput mutiara adalah 2 ml/200 g bb, maka: 142,07 mg/2 ml= 71,035 mg/ml.

Lampiran 3. Penentuan persentase penghambatan volume udem rata-rata

Penghambatan udem rata-rata diperoleh dengan menggunakan perhitungan:

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

Keterangan :

a adalah volume rata – rata telapak kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang diberi obat

x adalah volume rata – rata telapak kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang diberi obat

b adalah volume rata – rata telapak kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol Induksi)

y adalah volume rata – rata telapak kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol Induksi)

Contoh perhitungan % penghambatan udem rata-rata pada kelompok dosis

I hari ke-7 :

$$a = 41,17 ; x = 25,67 \rightarrow a-x = 15,5$$

$$b = 40,83 ; y = 23,33 \rightarrow b-x = 17,5$$

$$\text{maka, \% penghambatan udem} = [1 - (15,5/17,5)] \times 100\%$$

$$= (1-0,8857) \times 100\% = 11,43 \%$$

Lampiran 4. Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-7 (SPSS 18.0)

4.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-7

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data penurunan udem tikus terdistribusi normal

Ha = data penurunan udem tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
7	Kontrol Normal	0,121	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,763	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,519	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,011	Ho ditolak	Tidak terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,243	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,558	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Ada data kelompok yang tidak terdistribusi normal, sehingga tidak dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan ANAVA satu-arah

4.2 Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-7

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data penurunan udem tikus bervariasi homogen

H_a = data penurunan udem tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
7	0,508	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data udem hewan uji pada hari ke-7 bervariasi homogen

4.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap data udem pada hari ke-7

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna data udem antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
7	0,001	H_0 ditolak	Ada perbedaan bermakna

Kesimpulan: Data volume udem antar kelompok hewan uji memiliki perbedaan bermakna

4.4 Uji Mann-Whitney terhadap terhadap seluruh data udem kelompok hewan uji pada hari ke-7

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna penurunan udem hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan bermakna

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan bermakna

α : 0,05

(lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$ Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,010	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,004	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,043	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,015	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis II	0,293	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,064	Ho diterima
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,043	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,683	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,326	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,747	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,015	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,683	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,106	Ho diterima

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	Rumput Mutiara Dosis 3	1,000	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,010	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,293	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,326	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,106	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,144	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,064	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,747	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	1,000	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,144	Ho diterima

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 5. Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)

5.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data penurunan udem tikus terdistribusi normal

Ha = data penurunan udem tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	Kontrol Normal	0,607	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,366	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,064	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,264	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,045	Ho ditolak	Tidak terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,735	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Ada data kelompok yang tidak terdistribusi normal, sehingga tidak dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan ANAVA satu-arah

5.2 Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data penurunan udem tikus bervariasi homogen

H_a = data penurunan udem tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,248	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data udem hewan uji pada hari ke-14 bervariasi homogen

5.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna data udem antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,007	H_0 ditolak	Ada perbedaan bermakna

Kesimpulan: Data volume udem antar kelompok hewan uji memiliki perbedaan bermakna

5.4 Uji Mann-Whitney terhadap terhadap seluruh data udem kelompok hewan uji pada hari ke-14

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna penurunan udem hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan bermakna

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan bermakna

(lanjutan)

 $\alpha: 0,05$ Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$ Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,004	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,227	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,872	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,748	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,522	Ho diterima
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,227	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,326	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,809	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,808	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,872	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,326	Ho diterima

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	Rumput Mutiara Dosis 2	0,871	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,373	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,748	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,809	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,871	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,470	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,522	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,808	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,373	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,470	Ho diterima

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 6. Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-21 (SPSS 18.0)

6.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-21

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data penurunan udem tikus terdistribusi normal

Ha = data penurunan udem tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
21	Kontrol Normal	0,421	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,425	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,752	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,118	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,044	Ho ditolak	Tidak terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,781	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Ada data kelompok yang tidak terdistribusi normal, sehingga tidak dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan ANAVA satu-arah

6.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-21

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = data penurunan udem tikus bervariasi homogen

Ha = data penurunan udem tikus tidak bervariasi homogen

(lanjutan)

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
21	0,000	Ho ditolak	Tidak bervariasi homogen

Kesimpulan: Data udem hewan uji pada hari ke-21 tidak bervariasi homogen

6.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-21

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna data udem antar kelompok hewan uji

Hipotesis: Ho = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan

Ha = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
21	0,009	Ho ditolak	Ada perbedaan bermakna

Kesimpulan: Data volume udem antar kelompok hewan uji memiliki perbedaan bermakna

6.4 Uji Mann-Whitney terhadap terhadap seluruh data udem kelompok hewan uji pada hari ke-21

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna penurunan udem hewan uji

Hipotesis: Ho = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan bermakna

Ha = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

(lanjutan)

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,004	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,810	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,936	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	1,000	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	1,000	Ho diterima
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,810	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,872	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,294	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,810	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,936	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,872	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,367	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,573	Ho diterima

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	1,000	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,294	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,367	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,517	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	1,000	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,810	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,573	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,517	Ho diterima

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 7. Uji statistik terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)

7.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data penurunan udem tikus terdistribusi normal

Ha = data penurunan udem tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	Kontrol Normal	0,167	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,075	Ho ditolak	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,136	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,232	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,001	Ho ditolak	Tidak terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,905	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Ada data kelompok yang tidak terdistribusi normal, sehingga tidak dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan ANAVA satu-arah

7.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data udem hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data penurunan udem seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data penurunan udem tikus bervariasi homogen

H_a = data penurunan udem tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,117	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data udem hewan uji pada hari ke-28 bervariasi homogen

7.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap data udem seluruh kelompok hewan uji

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna data udem antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,004	H_0 ditolak	Ada perbedaan bermakna

Kesimpulan: Data volume udem antar kelompok hewan uji memiliki perbedaan bermakna

7.4 Uji Mann-Whitney terhadap terhadap seluruh data udem kelompok hewan uji pada hari ke-28

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna penurunan udem hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data penurunan udem tikus tidak memiliki perbedaan bermakna

H_a = Data penurunan udem tikus memiliki perbedaan bermakna

α : 0,05

(lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$ Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,004	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,004	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,630	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,469	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,743	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,936	Ho diterima
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,630	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,872	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,052	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,809	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,469	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,872	Ho diterima

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	Rumput Mutiara Dosis 2	0,075	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,872	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,469	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,872	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,075	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,872	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,743	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,052	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,075	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,199	Ho diterima

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 8. Uji statistik terhadap data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)

8.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah leukosit tikus terdistribusi normal

Ha = data jumlah leukosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	Kontrol Normal	0,089	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,151	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,139	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,305	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,397	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,910	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

8.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data data jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data terhadap leukosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data jumlah leukosit tikus bervariasi homogen

H_a = data jumlah leukosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,056	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah leukosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-14 bervariasi homogen

5.3 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data leukosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah leukosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah leukosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,675	H_0 diterima	Tidak ada perbedaan

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan jumlah leukosit antar kelompok hewan uji

Lampiran 9. Uji statistik terhadap data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)

9.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: H_0 = data jumlah leukosit tikus terdistribusi normal

H_a = data jumlah leukosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	Kontrol Normal	0,587	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,088	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,148	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,529	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,909	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,796	H_0 diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

9.2 Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data data jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data terhadap leukosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data jumlah leukosit tikus bervariasi homogen

H_a = data jumlah leukosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,144	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah leukosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-28 bervariasi homogen

9.3 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap jumlah leukosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data leukosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah leukosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah leukosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,001	H_0 ditolak	Ada perbedaan

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan jumlah leukosit antar kelompok hewan uji

9.4 Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap data jumlah leukosit seluruh kelompok hewan uji

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah leukosit tikus tidak memiliki perbedaan secara bermakna

(lanjutan)

Ha = Data jumlah leukosit tikus memiliki perbedaan secara bermakna

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,006	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,024	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,018	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,108	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,000	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,006	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,547	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,623	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,193	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,062	Ho ditolak*
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,024	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,547	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,911	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,475	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,016	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,018	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,623	Ho diterima

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	Rumput Mutiara Dosis 1	0,911	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,410	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,021	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,108	Ho diterima
	Kontrol Diklofenak	0,193	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,475	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,410	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,003	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,000	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,062	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,016	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,021	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,002	Ho ditolak*

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 10. Uji statistik terhadap data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)

10.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: H_0 = data jumlah limfosit tikus terdistribusi normal

H_a = data jumlah limfosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	Kontrol Normal	0,278	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,232	H_0 ditolak	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,247	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,099	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,621	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,449	H_0 diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

10.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data data jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data terhadap limfosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data jumlah limfosit tikus bervariasi homogen

H_a = data jumlah limfosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,067	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah limfosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-14 bervariasi homogen

10.3 Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data limfosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah limfosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah limfosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,212	H_0 diterima	Tidak ada perbedaan

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan jumlah limfosit antar kelompok hewan uji, maka tidak dilakukan uji BNT

Lampiran 11. Uji statistik terhadap data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)

11.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah limfosit tikus terdistribusi normal

Ha = data jumlah limfosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	Kontrol Normal	0,541	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,477	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,734	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,104	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,153	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,071	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah limfosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

11.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data data jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data terhadap limfosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah limfosit tikus bervariasi homogen

(lanjutan)

H_a = data jumlah limfosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,144	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah limfosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-28 bervariasi homogen

11.3 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap jumlah limfosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data leukosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah limfosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah limfosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,001	H_0 ditolak	Ada perbedaan

Kesimpulan: Ada perbedaan jumlah limfosit antar kelompok hewan uji

11.4 Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap jumlah limfosit kelompok hewan uji

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah limfosit tikus tidak memiliki perbedaan secara bermakna

H_a = Data jumlah limfosit tikus memiliki perbedaan secara bermakna

α : 0,05

(lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$ Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,010	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,023	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,002	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,198	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,000	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,010	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,735	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,532	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,165	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,028	Ho ditolak*
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,023	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,735	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,338	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,289	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,012	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,002	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,532	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,338	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,049	Ho ditolak*

(lanjutan)

	Rumput Mutiara Dosis 3	0,102	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,198	Ho diterima
	Kontrol Diklofenak	0,165	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,289	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,049	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,001	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,000	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,028	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,012	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,102	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,001	Ho ditolak*

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 12. Uji statistik terhadap data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-14 (SPSS 18.0)

12.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: H_0 = data jumlah granulosit tikus terdistribusi normal

H_a = data jumlah granulosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	Kontrol Normal	0,794	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,808	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,518	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,350	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,437	H_0 diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,204	H_0 diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

12.2 Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data data jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk melihat data terhadap granulosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

(lanjutan)

Hipotesis: H_0 = data jumlah granulosit tikus bervariasi homogen

H_a = data jumlah granulosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,136	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah granulosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-14 bervariasi homogen

12.3 Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-14

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data granulosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah granulosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah granulosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
14	0,637	H_0 diterima	Tidak ada perbedaan

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan jumlah granulosit antar kelompok hewan uji, maka tidak dilakukan uji BNT

Lampiran 13. Uji statistik terhadap data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji pada hari ke-28 (SPSS 18.0)

13.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah granulosit tikus terdistribusi normal

Ha = data jumlah granulosit tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	Kontrol Normal	0,587	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Diklofenak	0,088	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Kontrol Induksi	0,148	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,529	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,909	Ho diterima	Terdistribusi normal
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,796	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data jumlah granulosit seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

13.2 Uji Homogenitas (*Levene*) terhadap data jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk melihat data terhadap granulosit seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah granulosit tikus bervariasi homogen

(lanjutan)

H_a = data jumlah granulosit tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,136	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data jumlah granulosit pada kelompok hewan uji pada hari ke-28 bervariasi homogen

13.3 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap jumlah granulosit hewan uji pada hari ke-28

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data granulosit seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah granulosit tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah granulosit tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Hari	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
28	0,025	H_0 ditolak	Ada perbedaan

Kesimpulan: Ada perbedaan jumlah granulosit antar kelompok hewan uji

13.4 Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap jumlah granulosit kelompok hewan uji pada hari ke-28

Tujuan: Untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antar kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah granulosit tikus tidak memiliki perbedaan secara bermakna

H_a = Data jumlah granulosit tikus memiliki perbedaan secara bermakna

α : 0,05

(lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika signifikansi $\geq 0,05$ Ho ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi	Hipotesis
Kontrol Normal	Kontrol Diklofenak	0,029	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,066	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,492	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,007	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,004	Ho ditolak*
Kontrol Diklofenak	Kontrol Normal	0,029	Ho ditolak*
	Kontrol Induksi	0,702	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,120	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,567	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,424	Ho diterima
Kontrol Induksi	Kontrol Normal	0,066	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,702	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,233	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,342	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,241	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 1	Kontrol Normal	0,492	Ho diterima
	Kontrol Diklofenak	0,120	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,233	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,037	Ho ditolak*

(lanjutan)

Rumput Mutiara Dosis 1	Rumput Mutiara Dosis 3	0,022	Ho ditolak*
Rumput Mutiara Dosis 2	Kontrol Normal	0,007	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,567	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,342	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,037	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 3	0,818	Ho diterima
Rumput Mutiara Dosis 3	Kontrol Normal	0,004	Ho ditolak*
	Kontrol Diklofenak	0,424	Ho diterima
	Kontrol Induksi	0,241	Ho diterima
	Rumput Mutiara Dosis 1	0,022	Ho ditolak*
	Rumput Mutiara Dosis 2	0,818	Ho diterima

Keterangan: Ho diterima: tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

*) Ho ditolak: ada perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 14. Uji statistik terhadap berat limfa seluruh kelompok hewan uji
(SPSS 18.0)

14.1 Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap data berat limfa hewan uji

Tujuan : Untuk melihat data berat limfa seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah berat limfa tikus terdistribusi normal

Ha = data jumlah berat limfa tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

Kelompok	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
Kontrol Normal	0,059	Ho diterima	Terdistribusi normal
Kontrol Diklofenak	0,395	Ho diterima	Terdistribusi normal
Kontrol Induksi	0,144	Ho diterima	Terdistribusi normal
Rumput Mutiara Dosis 1	0,287	Ho diterima	Terdistribusi normal
Rumput Mutiara Dosis 2	0,059	Ho diterima	Terdistribusi normal
Rumput Mutiara Dosis 3	0,883	Ho diterima	Terdistribusi normal

Kesimpulan: Data berat limfa seluruh kelompok hewan uji terdistribusi normal

14.2 Uji homogenitas (*Levene*) terhadap data berat limfa hewan uji

Tujuan : Untuk melihat data terhadap berat limfa seluruh kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = data jumlah berat limfa tikus bervariasi homogen

Ha = data jumlah berat limfa tikus tidak bervariasi homogen

α : 0,05

(lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
0,451	H_0 diterima	Bervariasi homogen

Kesimpulan: Data berat limfa pada kelompok hewan uji pada bervariasi homogen

14.3 Uji analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap berat limfa hewan uji

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data berat limfa seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H_0 = Data jumlah berat limfa tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data jumlah berat limfa tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika signifikansi $< 0,05$

Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
0,137	H_0 diterima	Tidak ada perbedaan

Kesimpulan: Tidak adanya perbedaan berat limfa antar kelompok hewan uji, maka tidak dilakukan uji BNT

Lampiran 15. Sertifikat analisis natrium diklofenak dari PT. Kimia Farma

PT. KIMIA FARMA

Plant Jakarta
K.F Plant Jakarta Jl. Rawasari V No.1 Kawasan Industri Pulosari Jakarta Timur
Phone : 021-4603354 Fax : 021-4603143

14 JAN 2011

Hasil Pemeriksaan Laboratorium

BAHAN BAKU

No. BTBS	: GRA1-11000006 <i>1/1</i>	No. LA / HPL	: QAJ1-11000006 ✓
Tgl. BTBS	: 03/01/2011	Tgl. Sampling	: 04/01/2011
Gudang / Lokasi	: Plant Jakarta Bahan	Tgl. Mulai Periksa	: 12/01/2011
Nama Barang	: 1000203 NATRII DIKLOFENAC	Tgl. Selesai Periksa	: 12/01/2011
		Diperiksa Oleh	: Putri
		Tgl. Periksa Ulang	: 12/01/2012
Merak/Produsen	: Yung Zip Chemical Ind Co. Ltd, Taiwan	MFD	: 28/04/2010
Jumlah Barang	: 11 Box @ 10 kg = 110 kg	ED	: 28/04/2015
Jumlah Sample	: 40 Gram	Pemasok	: PT. GLOBAL CHEMIINDO
	: 4 x 10 g (1 - 4)		
Diambil Oleh	: M. Rusdi	No. Batch/lot	: DCS0410001

Pemeriksaan	Hasil	Syarat	Unit	Metode
Pemerian	1 - 4 = Serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau	Serbuk kristal berwarna putih atau hampir putih, higroskopik		USP 32
Identifikasi	1 - 4 = Memenuhi Pengujian	Memenuhi Pengujian		USP 32
pH (1 % b/v dalam air)	7.27	7 - 8.5		USP 32 (MFF0008)
Sisa Pengeringan (105 derajat C, 3 Jam)	0.06	< 0.5	%	USP 32
Kadar	100.04		%	USP 32
Kadar Terhadap Zat Kering	100.1	99 - 101	%	USP 32
Kesimpulan	: Diluluskan			
Note	: Analisa ®			

Authorization	In Charge / Position	Signature	Date Time	Notes
Prepare by	Lucia Hendrika Supervisor Pemeriksaan Bahan Baku	<i>[Signature]</i>	12/1/11	
Verified by	Drs. Hadi Kardoso Asman Pemeriksaan Mutu	<i>[Signature]</i>	13/1/11	
Approved by	Drs. Tis Mulyaningrath Manager Pemastian Mutu	<i>[Signature]</i>	13/1/11	

Lampiran 16. Sertifikat analisis *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) dari Sigma-Aldrich

Page 1 of 1

Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH

Product Name	Freund's Adjuvant, Complete, cell suspension	
Product Number	F5881	
Product Brand	SIGMA	

TEST	SPECIFICATION	LOT 070M8705 RESULTS
Appearance (Color)	Light Yellow to Yellow	Light Yellow
Appearance (Form)	Liquid with particulates	Liquid
Appearance (Turbidity) emulsification assay	Clear Pass Forms emulsion with 0.85% NaCl	Clear Pass
Note	<p>Each mL contains 1 mg mycobacterium tuberculosis(H 37RA, ATCC 25177), heat killed and dried, 0.85 mL mineral oil and 0.15 mL mannide monooleate.</p>	
Specification Date:	JUL 2010	
Date of QC Release:	AUG 2010	
Print Date:	AUG 03 2010	

Rodney Burbach
 Rodney Burbach, Manager
 Quality Control
 St. Louis, Missouri USA

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/CertOfAnalysisPage.do?symbol=F5881&LotNo=070M8705&bran...> 1/21/2011

Lampiran 17. Sertifikat determinasi tanaman rumput mutiara



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN
 Jalan Teknik Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun 6492262/6492272 Fax: 0274580839

SURAT KETERANGAN
 Nomor: 0322/T.Tb/II/2012

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Dita Andriani
 NIM : 0806398083
 Asal instansi : Fakultas MIPA Universitas Indonesia

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

SAMPEL	FAMILIA	GENUS	SPECIES	SYNONYM	NAMA DAERAH
1.	Rubiaceae	<i>Hedyotis</i>	<i>Hedyotis corymbosa</i> (L.) Lamk.	<i>Oldenlandia corymbosa</i> L.	Rumput Mutiara

Identifikasi tersebut dibantu oleh Drs. Heri Sujadmiko, M.Si.
 Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya

Yogyakarta, 28 Februari 2012

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Biologi
 Universitas Gadjah Mada

Kepala Laboratorium
 Taksonomi Tumbuhan
 Fakultas Biologi UGM


 Dr. Retno Peni Sañcayaningsih, M.Sc
 NIP. 195509291982032002


 Drs. Heri Sujadmiko, M.Si
 NIP. 19640209 199103 1001

(lanjutan)

KUNCI DETERMINASI MENUJU SPECIES

Species : *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk

Genus : Hedyotis

1b. 2a. 3a. 4c. 5a. 6a.

Familia : Rubiaceae


1b. 66b. 79b. 80b. 81a. 82b. 83a. Hedyotis

Nama Lokal: Rumput Mutiara

Daftar Pustaka:

Flora of Java (Spermatophytes only) By C.A. Becker, D.Sc.(Utrecht)
RC. Bakhuizen Van den Brink Jr. Ph.D.

Lampiran 18. Sertifikat Hewan Uji



**BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN


Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS
Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja Dan Aneka Ternak
Alamat : Jl. Agatis kampus IPB Darmaga-Bogor
Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Non Ruminansia dan Satwa Harapan, Fakultas Peternakan IPB, telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Bogor, 10 Januari 2012
Kepala



Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS
NIP. 19460825 197711 1 001

Lampiran 19. Skema kerja pelaksanaan uji antiarthritis dan penghitungan jumlah leukosit, limfosit dan granulosit

