



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK EKSTRAK ETANOL 70% RUMPUT MUTIARA  
(*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) TERHADAP KADAR  
KALSIUM SERUM DARAH TIKUS JANTAN RA  
(*RHEUMATOID ARTHRITIS*)**

**SKRIPSI**

**INDANA AYU SORAYA  
0906601834**

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



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK EKSTRAK ETANOL 70% RUMPUT MUTIARA  
(*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) TERHADAP KADAR  
KALSIUM SERUM DARAH TIKUS JANTAN RA  
(*RHEUMATOID ARTHRITIS*)**

**SKRIPSI**

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

**INDANA AYU SORAYA  
0906601834**

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

## **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, 12 Juli 2012



Indana Ayu Soraya

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Indana Ayu Soraya

NPM : 0906601834

Tanda Tangan : 

Tanggal : 12 Juli 2012

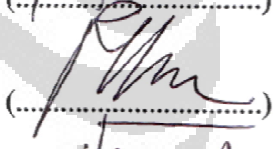
## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Indana Ayu Soraya  
NPM : 0906601834  
Program Studi : Farmasi Ekstensi  
Judul Skripsi : Efek Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara  
(*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) terhadap Kadar  
Kalsium Serum Darah Tikus Jantan RA  
(*Rheumatoid Arthritis*)

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed, Apt. 

Penguji I : Dra. Retnosari Andrajati, M.S., Ph.D., Apt. 

Penguji II : Dra. Maryati Kurniadi, M.Si., Apt. 

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 12 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Bismillaahirrahmaanirrahiim,

Alhamdulillahirabbil'alamiin, segala pujian dan kemuliaan hanya milik Allaah Subhaanahuwata'ala yang senantiasa memberikan kemudahan-kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Laporan ini terdiri dari lima bagian, yaitu pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta kesimpulan dan saran.

Penulis sangat menyadari terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang tentunya sangat bermanfaat bagi penulis di kemudian hari. Penulis dapat menyelesaikan laporan ini tepat pada waktunya dikarenakan bantuan berbagai pihak. Penulis menghaturkan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed, Apt., selaku pembimbing skripsi yang banyak memberikan bantuan, bimbingan, kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Azizahwati, M.S., Apt., selaku ketua program sarjana ekstensi yang telah memberikan kesempatan dan izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian dan menyusun skripsi ini.
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan dukungan dan kesempatan 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 masukan dan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium yang beliau pimpin.
5. Ibu Prof. Dr. Endang Hanani, M.S., Apt., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan masukan dan izin untuk melaksanakan penelitian dan menyusun skripsi ini.

6. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah banyak memberikan ilmunya kepada penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. P.T Kimia Farma atas pemberian natrium diklofenak untuk penelitian ini.
8. Bunda dan ayah tercinta yang telah memberikan kasih sayang, perhatian, dukungan dan doa kepada ananda. Semoga ananda dapat menjadi anak yang bunda dan ayah harapkan dan idam-idamkan.
9. Adik-adikku tersayang Zee dan Cicah yang senantiasa jadi teman berantem di kala waktu senggang.
10. Teman-teman satu bimbingan: Mawar, Melda, Nada, dan Dita yang senantiasa memberi saran, dukungan, hiburan, dan cerita-cerita menarik.
11. Teman-teman Farmasi UI: Dian, Titik, Riri, Nadia yang telah membantu dan memberikan dukungan selama perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi.

Semoga Allah Yang Maha Pemurah membalas kebaikan pihak-pihak tersebut di atas serta pihak-pihak lain yang turut membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Penulis berharap semoga skripsi ini, dapat memberikan manfaat serta pengetahuan lebih kepada para pembacanya.

Penulis

2012

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

---

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

Nama : Indana Ayu Soraya  
NPM : 0906601834  
Program Studi : Farmasi Ekstensi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

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

Efek Ekstrak Etanol 70% Rumpun Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) terhadap Kadar Kalsium Serum Darah Tikus Jantan RA (*Rheumatoid Arthritis*)

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 : 12 Juli 2012  
Yang menyatakan



(Indana Ayu Soraya)



## ABSTRAK

Nama : Indana Ayu Soraya  
Program Studi : Farmasi Ekstensi  
Judul : Efek Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) terhadap Kadar Kalsium Serum Darah Tikus Jantan RA (*Rheumatoid Arthritis*)

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek antiinflamasi ekstrak etanol 70% rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) ditinjau dari penurunan volume udem telapak kaki tikus yang diinduksi *complete freund's adjuvant* (CFA) menggunakan pletismometer dan pengaruhnya terhadap peningkatan kadar kalsium serum darah tikus yang diukur dengan spektrofotometer serapan atom. Sebanyak 36 tikus jantan galur *Sprague Dawley* dibagi menjadi 6 kelompok. Seluruh tikus diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar pada hari ke-1 kecuali tikus pada kelompok kontrol normal hanya diinduksi larutan salin pada telapak kaki kiri. Pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberikan bahan uji sesuai kelompok perlakuan secara oral. Kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif diberikan CMC 0,5%, kelompok dosis 1, 2, dan 3 diberikan ekstrak rumput mutiara dengan dosis bervariasi, berturut-turut, 28,06; 63,13; dan 142,04 mg/200 g bb tikus disuspensikan dalam CMC 0,5%, dan kelompok kontrol positif diberikan suspensi natrium diklofenak dalam CMC 0,5%. Penurunan udem pada kaki tikus diamati pada hari ke-1, 7, 14, 21, dan hari ke-28. Kadar kalsium serum darah diukur pada hari ke-28. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% rumput mutiara belum memperlihatkan efek antiinflamasi tetapi memiliki efek meningkatkan kadar kalsium serum darah pada tikus model *rheumatoid arthritis*.

Kata kunci : inflamasi, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), natrium diklofenak, kadar kalsium, *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).  
xv+94 halaman : 9 gambar; 12 tabel; 12 lampiran  
Daftar Pustaka : 54 (1991-2012)

## ABSTRACT

Name : Indana Ayu Soraya  
Program Study : Pharmacy  
Title : Effect of 70% Ethanolic Extract of Pearl Grass (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) on Calcium Blood Serum Level in RA (Rheumatoid Arthritis) Male Rat

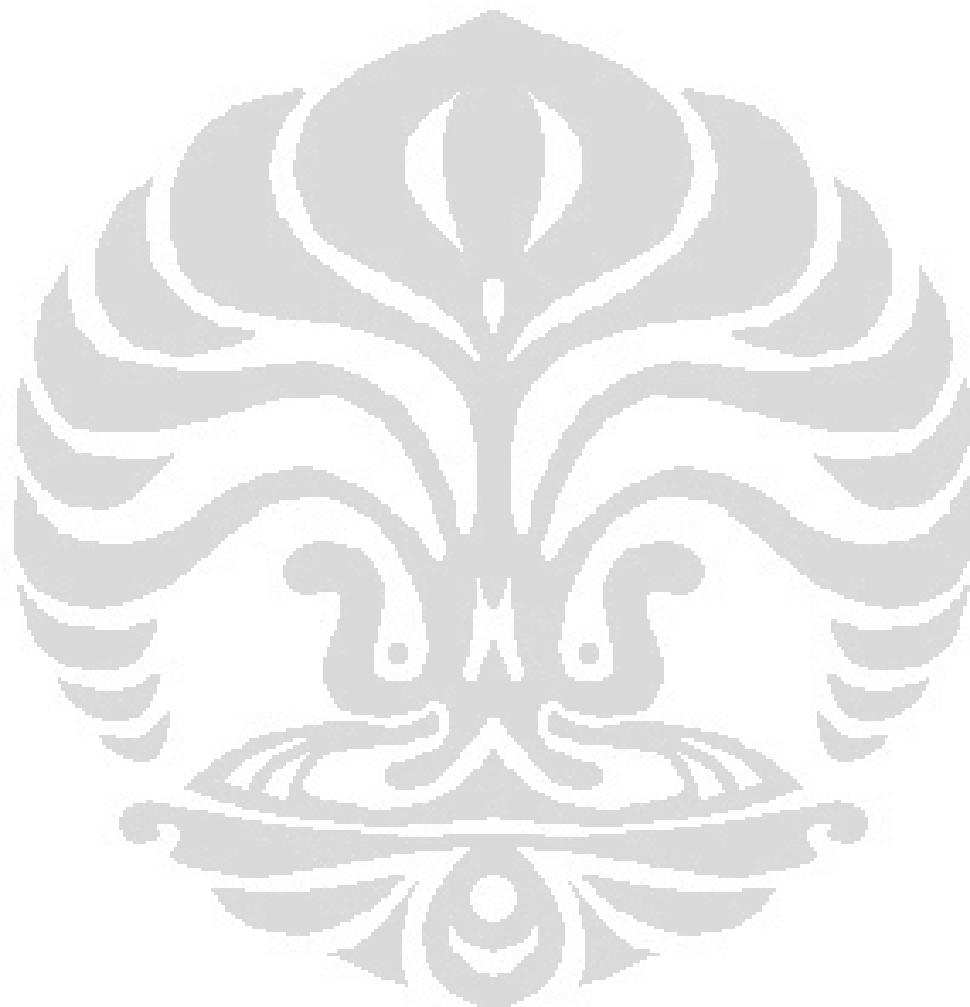
This study aims to analyze the antiinflammatory effects of 70% ethanolic extract of pearl grass (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) In terms of reduction in edema volume induced rat foot *complete freund's adjuvant* (CFA) using pletismometer and its effect on serum calcium levels increase in rat blood measured by atomic absorption spectrophotometer. A total of 36 *Sprague Dawley* strain male rats were divided into 6 groups. Whole mice induced with 0.1 ml of *complete Freund's adjuvant* (CFA) in subplantar on day-1 mice in the control group except normal saline was induced only in the left foot. On day 2 to day-to-28 administered the test substance orally according to treatment group. Normal control group and the negative control group given 0.5% CMC, the doses of 1, 2, and 3 are given seaweed extract pearls with varying doses, respectively, 28.06; 63.13, and 142.04 mg/200 g bb mice were suspended in 0.5% CMC, and the positive control group given a suspension of sodium diclofenac in 0.5% CMC. Decrease in edema in the rat foot was observed on day 1, 7, 14, 21, and day-to-28. Blood serum calcium levels were measured on day 28. The results showed that 70% ethanolic extract of pearl grass has not shown anti-inflammatory effects but have the effect of increasing blood serum levels of calcium in the rat model of rheumatoid arthritis.

Key word : inflammation, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA), diclofenac sodium, calcium level, *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).  
xv + 94 pages : 9 pictures ; 12 tables; 12 appendix  
Bibliography : 54 (1991 - 2012)

# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH</b> .....	viii
<b>ABSTRAK</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup .....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Jenis Penelitian dan Metode .....	3
1.5 Hipotesis .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Rumput Mutiara .....	5
2.2 Inflamasi .....	6
2.3 Arthritis Reumatoid .....	8
2.4 Natrium Diklofenak .....	16
2.5 Metode Uji Efek Antiinflamasi .....	17
2.6 CFA ( <i>Complete Freund's Adjuvant</i> ) .....	19
2.7 Kalsium Darah .....	19
2.8 Spektrofotometer Serapan Atom .....	20
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	22
3.1 Lokasi Penelitian .....	22
3.2 Alat .....	22
3.3 Bahan .....	22
3.4 Cara Kerja .....	23
3.5 Metode .....	27
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	31
4.1 Tinjauan Umum .....	31
4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Herba Rumput Mutiara .....	33
4.3 Rendemen dan Skrining Fitokimia .....	34
4.4 Hasil Uji Antiinflamasi Herba Rumput Mutiara .....	35
4.5 Penyiapan Sampel Darah .....	41

4.6	Hasil Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Tikus.....	44
4.7	Hubungan Antara Antiinflamasi dengan Peningkatan Kadar Kalsium Serum Darah .....	47
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>48</b>
5.1	Kesimpulan .....	48
5.2	Saran .....	48
	<b>DAFTAR ACUAN</b> .....	<b>49</b>



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1	Tanaman rumput mutiara <i>Hedyotis corymbosa</i> (L.) Lamk. ... 55
Gambar 3.2	Simplisia herba rumput mutiara..... 55
Gambar 3.3	Alat pletismometer dan pengukuran volume telapak kaki tikus ..... 56
Gambar 3.4	Spektrofotometer serapan atom (Shimadzu AA 6300) ..... 56
Gambar 4.1	Ekstrak etanol herba rumput mutiara ..... 34
Gambar 4.2	Grafik volume rata-rata telapak kaki tikus pada hari ke-1, 7, 21, dan 28 setelah diinduksi 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) ..... 39
Gambar 4.3	Grafik batang persentase penghambatan udem pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah diinduksi 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) ..... 39
Gambar 4.4	Foto telapak kaki tikus normal yang disuntik larutan salin (1) dan telapak kaki tikus udem yang disuntik CFA (2). ..... 41
Gambar 4.5	Kurva kalibrasi larutan standar kalsium ..... 45

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Kelompok perlakuan uji antiarthritis metode <i>adjuvant-induced arthritis</i> .....	28
Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rumput mutiara .....	35
Tabel 4.2 Volume rata-rata telapak kaki tikus pada hari ke-1 percobaan (sebelum diinduksi) sampai hari ke-28 percobaan .....	37
Tabel 4.3 Persentase penghambatan udem rata-rata pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah diinduksi <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) .....	38
Tabel 4.4 Data kurva kalibrasi larutan standar kalsium .....	44
Tabel 4.5 Kadar kalsium serum darah tikus yang diukur dengan spektrofotometer serapan atom pada akhir perlakuan .....	45
Tabel 4.6 Volume telapak kaki tikus pada hari ke-1 sampai 28 setelah diinduksi 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) .....	48
Tabel 4.7 Volume telapak kaki tikus pada hari ke-1 sampai 28 setelah diinduksi 0,1 ml <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) .....	57
Tabel 4.8 Volume sampel serum yang digunakan untuk analisis kadar kalsium (mL) .....	59
Tabel 4.9 Absorbansi hasil pengukuran kadar kalsium serum darah dengan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm (A) .....	59
Tabel 4.10 Hasil uji Mann-Whitney volume udem telapak kaki tikus .....	60
Tabel 4.11 Hasil uji beda nyata terkecil kadar kalsium serum darah tikus ...	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penentuan dosis dan pembuatan bahan uji .....	62
Lampiran 2. Penentuan % penghambatan volume udem rata-rata dan kadar kalsium serum darah tikus.....	64
Lampiran 3. Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji .....	66
Lampiran 4. Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-7.....	70
Lampiran 5. Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-14.....	74
Lampiran 6. Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-21.....	78
Lampiran 7. Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-28.....	82
Lampiran 8. Uji statistik kadar kalsium serum darah tikus seluruh kelompok uji pada akhir perlakuan.....	86
Lampiran 9. Sertifikat analisis natrium diklofenak PT. Kimia Farma.....	90
Lampiran 10. Sertifikat analisis <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) Sigma-Aldrich.....	91
Lampiran 11. Sertifikat hewan uji .....	92
Lampiran 12. Sertifikat determinasi tanaman rumput mutiara dari Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM.....	93

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Artritis reumatoid (AR) adalah penyakit autoimun kronis sistemik yang terutama melibatkan sendi. Artritis reumatoid menyebabkan kerusakan dimediasi oleh sitokin, kemokin, dan metalloprotease. Karakteristik pada sendi perifer misalnya pergelangan tangan dan sendi metakarpofalangealis secara simetris meradang, menyebabkan kerusakan progresif struktur artikular, yang umumnya disertai dengan gejala sistemik. Diagnosis berdasarkan pada uji laboratorium klinis dan gambaran ciri khusus. Terapi dari penyakit ini terdiri dari pemberian obat-obatan, tindakan fisik, dan pembedahan (*Merck Manual*, 2008).

Beberapa penelitian di dalam dan luar negeri mengungkapkan sejumlah teori dan hasil uji terkait dengan hubungan antara penyakit autoimun dengan defisiensi vitamin D. Margherita T. Cantorna (2000) mengungkapkan bentuk aktif dari vitamin D menekan perkembangan autoimunitas pada hewan coba. Cantorna dan Mahon menyatakan bahwa status vitamin D dapat mempengaruhi prevalensi penyakit autoimun. Penetapan hubungan pasti antara vitamin D dengan penyakit autoimun sulit karena kompleksitas sistem pengaturan vitamin D. Tingkat vitamin D pada serum menurun secara signifikan pada penyakit *systemic lupus erythematosus* dan *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) dibandingkan kontrol normal yang sehat. Baru-baru ini juga ditemukan bahwa penurunan tingkat vitamin D berhubungan dengan keparahan penyakit artritis reumatoid (Zold et al., 2008).

Penurunan vitamin D ini dicurigai berhubungan dengan penurunan kadar kalsium darah. Pada penelitian yang dilakukan di India memperlihatkan terjadinya penurunan kadar kalsium, kenaikan kadar fosfat serta penurunan rasio kalsium/fosfat pada serum pasien artritis reumatoid dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sehat. Penurunan rasio kalsium/fosfat pada pasien artritis reumatoid mengindikasikan perubahan metabolisme kalsium dan fosfor pada artritis reumatoid (Walwadkar, Suryakar, Katkam & Ankush, 2006). Peran vitamin D pada imunitas tubuh merupakan reaksi *feedback* dari *paracrine* untuk



mengurangi inflamasi dengan mempengaruhi diferensiasi sel T CD4 atau dengan meningkatkan fungsi dari sel T penekan (*T suppressor cell*) atau kombinasi antara keduanya (Ginjar, Sumariyono, Setiati & Setiyohadi, 2007). Defisiensi vitamin D menyebabkan terganggunya absorpsi kalsium di dalam usus sehingga terjadi penurunan kadar kalsium darah.

Kadar kalsium darah yang tidak normal dapat menjadi alat diagnosis pendukung pada penyakit artritis reumatoid dan secara tidak langsung dapat memperlihatkan kondisi vitamin D dalam tubuh. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan parameter kalsium darah untuk menilai tingkat perbaikan penyakit artritis reumatoid.

Salah satu terapi penyakit artritis reumatoid yaitu menggunakan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS). Dengan mengobati inflamasi pada artritis reumatoid diharapkan dapat mengurangi keganasan dari penyakit tersebut. Namun, obat-obat tersebut memiliki efek samping yang tidak sedikit. Toksisitas OAINS yang umum dijumpai adalah efek samping traktus gastrointestinal terutama jika digunakan bersama obat-obatan lain, alkohol, kebiasaan merokok atau dalam keadaan stress. Usia juga merupakan suatu faktor risiko untuk mendapatkan efek samping gastrointestinal akibat OAINS. Efek samping lain yang mungkin dijumpai pada pengobatan OAINS antara lain adalah reaksi hipersensitivitas, gangguan fungsi hati dan ginjal serta penekanan sistem hematopoetik (Daud, 2000).

Kenyataan tentang banyaknya efek samping yang dijumpai pada obat-obat terapi artritis reumatoid telah mendorong munculnya penelitian untuk mencari obat baru untuk terapi artritis reumatoid, salah satunya adalah penelitian tentang L-Ser analog #290 yang merupakan analog serin dapat mengantagonis L-Ser dan berfungsi sebagai inhibitor osteoklastogenesis (Bahtiar, Nakamura, Kishida, Katsura & Nitta, 2011). Selain itu, masyarakat Indonesia mulai tertarik untuk menggunakan bahan alam sebagai alternatif terapi untuk berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki khasiat sebagai antiinflamasi secara empiris dan telah digunakan pada salah satu klinik herbal di kota Depok yaitu rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji khasiat antiinflamasi dan efek perbaikan terhadap kadar kalsium darah pada tanaman rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.). Penelitian dilakukan pada sejumlah hewan uji tikus putih jantan yang diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang dikelompokkan ke dalam beberapa kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok dengan variasi dosis rumput mutiara. Penelitian dilakukan menggunakan variasi dosis rumput mutiara dengan tujuan untuk memperoleh dosis yang memberikan efek optimal pada penurunan volume udem telapak kaki hewan uji dan perbaikan pada kadar kalsium darah hewan uji. Dengan menurunnya inflamasi diharapkan terjadi perbaikan pada kadar kalsium darah tikus, baik dari sisi kepadatan tulang maupun dari sisi perbaikan kadar vitamin D.

## **1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup**

### **1.2.1 Perumusan Masalah**

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis bagaimana efek antiinflamasi dan perubahan kadar kalsium darah pada tikus jantan artritis reumatoid setelah pemberian ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).

### **1.2.2 Ruang Lingkup**

Farmakologi

## **1.3 Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek antiinflamasi dan perubahan kadar kalsium darah pada tikus jantan artritis reumatoid setelah pemberian ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).

## **1.4 Jenis Penelitian dan Metode**

### **1.4.1 Jenis Penelitian**

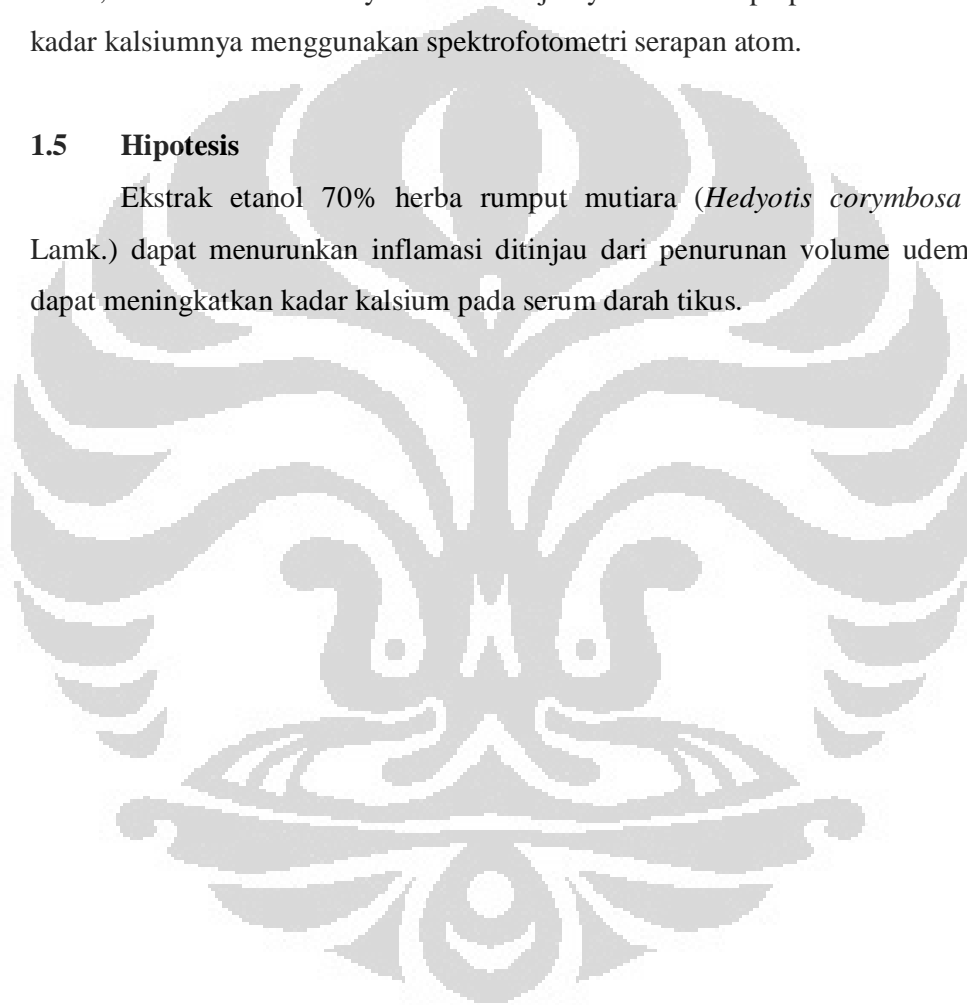
Eksperimental

#### 1.4.2 Metode

Penelitian ini dilakukan dengan membagi tikus putih jantan ke dalam kelompok kontrol dan kelompok yang diberi bahan uji. Kelompok tikus tersebut diinduksi dengan *complete freund's adjuvant* (CFA) pada hari pertama lalu dilakukan pemberian bahan uji pada hari ke-2 sampai hari ke-28. Penurunan udem dilakukan pada hari ke-7, 14, 21, dan hari ke-28 dengan pletismometer. Pada hari ke-28, tikus diambil darahnya untuk selanjutnya dilakukan preparasi untuk diukur kadar kalsiumnya menggunakan spektrofotometri serapan atom.

#### 1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dapat menurunkan inflamasi ditinjau dari penurunan volume udem dan dapat meningkatkan kadar kalsium pada serum darah tikus.




## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.)

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman dan Tata Nama

###### 2.1.1.1 Klasifikasi Tanaman (Integrated Taxonomic Information System, 2012)



Dunia	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Gentianales
Suku	: Rubiaceae
Genus	: Oldenlandia
Spesies	: <i>Oldenlandia corymbosa</i> L.
Sinonim	: <i>Hedyotis corymbosa</i> (L.) Lamk.

##### 2.1.12 Nama Daerah

Daun mutiara, rumput mutiara [Jakarta]; lidah ular [Jawa], Pengka [Makasar]. (IPTEKnet BPPT, 2005; DepKes RI 1995).

##### 2.1.1.3 Nama Asing

Malaulasiman [Filipina], siku-siku, siku dengan, pokok telur belangkas (Peninsular) [Malaysia], Yaa linngu [Thailand], Shui sian cao, Baihua she she cao [China], Flat top mile [Inggris] (IPTEKnet BPPT, 2005; CCRC Farmasi UGM, 2008; Dalimartha, 2008; Global Information Hub on Integrated medicine, 2010;).

##### 2.1.2 Uraian Tanaman

Rumput tumbuh rindang berserak, agak lemah, tinggi 15 – 50 cm, tumbuh subur pada tanah lembab di sisi jalan, pinggir selokan, bentuk lanset, mempunyai banyak percabangan. Batang bersegi, daun berhadapan bersilang, tangkal daun pendek/hampir duduk, panjang daun 2 – 5 cm, ujung dan pangkal runcing, pinggir daun rata, permukaan bawah warna keabu-abuan, tulang daun satu di tengah.

Ujung daun mempunyai rambut yang pendek. Bunga ke luar dari ketiak daun, bentuknya seperti payung berwarna putih, berupa bunga majemuk 2-5, tangkai bunga (induk) keras seperti kawat, panjangnya 5-10 mm. Buah, panjang 1,75 mm sampai 2 mm, lebar 2 mm, sampai 2,5 mm, pada permukaan luar didekat bagian ujung terdapat sisa kelopak berupa tonjolan kecil runcing. Biji bersudut-sudut. Akar tunggang, warna kecoklatan, garis tengah lebih kurang 1 mm, akar cabang serupa benang-benang (DepKes RI, 1995; IPTEKnet BPPT, 2005; CCRC Farmasi UGM, 2008; Dalimartha, 2008).

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Flavonoid, tanin <1%, triterpenoid, glikosida iridoid (DepKes RI, 1995). *Hentriacontane*, stigmasterol, asam ursolat, asam oleat, beta-sitosterol, sitosterol-D-glukosida, asam-p-kumarat, glikosida flavonoid, dan *baihuasheshecaosu* (kemungkinan analog kumarin) (IPTEKnet BPPT, 2005; CCRC Farmasi UGM, 2008).

### 2.1.4 Kegunaan Tanaman

Telah banyak penelitian mengenai khasiat rumput mutiara di dalam dan luar negeri. Khasiat tersebut diantaranya sebagai obat tukak lambung, disentri, habis bersalin, gangguan pencernaan, antipiretik (DepKes RI, 1995), hepatoprotektor, antioksidan (Endrini, 2011), antikanker (CCRC Farmasi UGM, 2008), dan menurut beberapa sumber dan praktisi pengobatan herbal menyatakan bahwa herba rumput mutiara berkhasiat sebagai antiinflamasi. Selain itu, tanaman ini dapat dimanfaatkan untuk penyakit radang tenggorokan, tonsilitis, bronkhitis, gondongan, pneumonia, radang usus buntu, radang empedu, hepatitis, radang panggul, infeksi saluran kemih, tekanan darah tinggi, bisul, borok, dan berbagai jenis kanker seperti kanker lambung, rektum, nasofaring, serviks, payudara, limfosarkoma, dan fibrosarkoma (IPTEKnet BPPT, 2005; Dalimartha, 2008).

## 2.2 Inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi yang kompleks terhadap agen berbahaya seperti mikroba dan sel rusak, biasanya sel nekrotik, yang terdiri dari respon

vaskuler, perpindahan dan aktivasi leukosit, dan reaksi sistemik. Penyebab inflamasi dapat berupa: (1) infeksi (bakteri, virus, parasit) dan toksin dari mikroba; (2) trauma (benda tumpul dan benda tajam); (3) agen fisika dan kimia (terbakar, irradiasi, dan beberapa zat kimia lingkungan); (4) jaringan nekrotik (dari berbagai penyebab); (5) benda asing (serpihan, debu, jahitan luka); (6) reaksi imun (disebut juga reaksi hipersensitivitas) (Kumar, Abbas & Fausto, 2005).

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 proliferasi kronik, dimana terjadi degenerasi dan fibrosis (Wilmana & Gan, 2009). Peradangan atau inflamasi akut merupakan respon langsung tubuh terhadap cedera atau kematian sel. Gambaran makroskopik peradangan digambarkan pada 2000 tahun lalu dan masih dikenal sebagai tanda-tanda pokok peradangan; yang mencakup kemerahan, panas, nyeri, dan pembengkakan, atau dalam bahasa Latin klasik, *rubor, calor, dolor, dan tumor*. Pada abad terakhir ditambah tanda pokok yang kelima yaitu perubahan fungsi atau *functio laesa* (Price & Wilson, 2012).

Selama berlangsungnya fenomena inflamasi banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5HT), faktor kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin (PG). Penelitian terakhir menunjukkan autakoid lipid PAF (*platelet activating-factor*) juga merupakan mediator inflamasi. Dengan migrasi sel fagosit ke daerah ini, terjadi lisis membran lisozim dan lepasnya enzim pemecah. Secara *in vitro* terbukti bahwa prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) dan prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) dalam jumlah nanogram, menimbulkan eritema, vasodilatasi, dan peningkatan aliran darah lokal. Histamin dan bradikinin dapat meningkatkan permeabilitas kapiler, tetapi efek vasodilatasinya tidak besar. Migrasi leukosit ke jaringan radang merupakan aspek penting pada proses inflamasi. PG sendiri tidak bersifat kemotaktik, tetapi produk lain dari asam arakhidonat yakni leukotrien B<sub>4</sub> merupakan zat kemotaktik yang sangat poten (Wilmana & Gan, 2009).

Prostaglandin hanya berperan pada nyeri yang berkaitan dengan kerusakan jaringan atau inflamasi. Penelitian telah membuktikan bahwa prostaglandin menyebabkan sensitisasi reseptor nyeri terhadap stimulasi mekanik dan kimiawi.

**Universitas Indonesia**

Jadi, prostaglandin menimbulkan keadaan hiperalgesia, kemudian mediator kimiawi seperti bradikinin dan histamin merangsangnya dan menimbulkan nyeri yang nyata (Wilmana & Gan, 2009).

## 2.3 Arthritis Reumatoid

### 2.3.1 Definisi dan Patofisiologi

Arthritis Reumatoid adalah suatu penyakit inflamasi kronik dengan manifestasi utama poliartritis simetris yang penyebabnya belum diketahui secara pasti dan bersifat sistemik (Priyanto, 2009). Penyakit ini adalah salah satu dari sekelompok penyakit jaringan ikat difus yang diperantarai oleh imunitas dan tidak diketahui penyebabnya. Pada pasien biasanya terjadi destruksi sendi progresif, walaupun episode peradangan sendi dapat mengalami masa remisi (Price & Wilson, 2012).

Kelainan imunologi termasuk kompleks imun, dihasilkan oleh sel-sel lapisan sinovial dan pembuluh darah yang meradang. Sel plasma menghasilkan antibodi yang dikenal sebagai *rheumatoid factor* (RF) yang berkontribusi terhadap kompleks ini. Namun destruksi arthritis dapat terjadi tanpa adanya RF. Makrofag bermigrasi ke sinovium yang sakit pada permulaan penyakit. Peningkatan makrofag pada sel-sel di lapisan sinovial terjadi bersama dengan inflamasi di pembuluh darah. Limfosit utama yang masuk ke jaringan sinovial adalah sel T CD4+. Makrofag dan limfosit menghasilkan sitokin pro-inflamasi dan kemokin yaitu *tumor necrosis factors* (TNF), *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), berbagai interleukin, dan interferon- $\gamma$  di sinovium. Pelepasan mediator inflamasi kemungkinan memberikan kontribusi kepada manifestasi sistemik dan sendi pada AR (Merck Manual, 2008).

Pada keadaan kronis, cairan sinovial menjadi mengental. Sel-sel pada lapisan sinovial menghasilkan berbagai materi, yaitu kolagenase dan *stromelysin* yang berkontribusi terhadap kerusakan tulang rawan; IL-1 dan TNF- $\alpha$  yang merangsang kerusakan tulang rawan dengan memediasi osteoklas untuk meresorpsi tulang; dan prostaglandin (yang mempotensiasi peradangan). Jaringan sinovial hiperplastik (*pannus*) melepaskan mediator inflamasi, yang mengikis

tulang rawan, tulang subkondral, kapsul artikular, dan ligamen (*Merck Manual*, 2008).

### 2.3.2 Pengaktifan Osteoklas dan Kerusakan Tulang pada AR

Tulang adalah suatu jaringan dinamis yang tersusun dari tiga jenis sel: osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Osteoblas membangun tulang dengan membentuk kolagen tipe I dan proteoglikan sebagai matriks tulang atau jaringan osteoid melalui suatu proses yang disebut osifikasi. Osteosit adalah sel-sel tulang dewasa yang bertindak sebagai suatu lintasan untuk pertukaran kimiawi melalui tulang yang padat. Osteoklas adalah sel-sel besar berinti banyak yang memungkinkan mineral dan matriks tulang dapat diabsorpsi. Tidak seperti osteoblas dan osteosit, osteoklas mengikis tulang. Sel-sel ini menghasilkan enzim-enzim proteolitik yang memecah matriks dan beberapa asam yang melarutkan mineral tulang, sehingga kalsium dan fosfat terlepas ke dalam aliran darah (Schett & Redlich, 2009).

Osteoklas memerlukan dua hal penting untuk pertumbuhan dan faktor diferensiasi untuk perkembangan penuhnya dari prekursor monositik: *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF), dan *receptor antagonist NF- $\kappa$ B ligand* (RANKL). Kedua faktor ini terekspresi pada inflamasi sinovium dan mempengaruhi perpindahan sel mononuklear mengekspresikan reseptornya, c-Fms dan RANK. Ekspresi dari M-CSF dan RANKL sangat penting untuk memahami pembentukan osteoklas pada penyakit persendian. Inflamasi kronik mengganggu homeostasis tulang dan mempercepat resorpsi tulang. Sebenarnya seluruh penyakit inflamasi, termasuk reumatik, penyakit jaringan ikat, penyakit inflamasi dalam perut, dan infeksi kronik memegang peranan penting dalam mempercepat osteoporosis (Schett & Redlich, 2009). Inflamasi pada artritis reumatoid akan merangsang makrofag menghasilkan berbagai sitokin yang merupakan stimulator kuat terhadap diferensiasi osteoklas dan resorpsi tulang oleh osteoklas. IL-1 dan TNF- $\alpha$  yang dihasilkan pada inflamasi akan merangsang osteoblas untuk mengekspresikan *receptor antagonist nuclear factor  $\kappa$ B ligand* (RANKL) dan *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF) dan menghambat produksi *osteoprotegerin* (OPG). Selain itu, dengan pengaruh IL-1 dan TNF- $\alpha$  akan

**Universitas Indonesia**



meningkatkan diferensiasi makrofag menjadi osteoklas (Setiyohadi, 2007). Peningkatan pembentukan osteoklas pada inflamasi sendi muncul untuk menjadi pemicu ketidakseimbangan antara faktor yang menunjang osteoklas dengan yang menghambatnya. Tingginya ekspresi RANKL melebihi fungsi osteoprotegerin (OPG), yang merupakan inhibitor alami dari RANKL, dan mencegah ikatan reseptor dengan RANKL (Schett & Redlich, 2009).

Destruksi jaringan sendi terjadi melalui dua cara. Pertama adalah destruksi pencernaan oleh produksi protease, kolagenase dan enzim-enzim hidrolitik lainnya. Enzim-enzim ini memecah kartilago, ligamen, tendon, dan tulang pada sendi, serta dilepaskan bersama-sama dengan radikal oksigen dan metabolit asam arakidonat oleh leukosit polimorfonuklear dalam cairan sinovial. Proses ini diduga adalah bagian dari respon autoimun terhadap antigen yang diproduksi secara lokal. Destruksi jaringan juga terjadi melalui kerja panus reumatoid. Panus merupakan jaringan granulasi vaskular yang terbentuk dari sinovium yang meradang dan kemudian meluas ke sendi. Di sepanjang pinggir panus terjadi destruksi kolagen dan proteoglikan melalui produksi enzim oleh sel di dalam panus tersebut (Price & Wilson, 2012).

### 2.3.3 Karakteristik dan Diagnosis Arthritis Reumatoid

Karakteristik dari arthritis reumatoid meliputi (1) infiltrasi *synovial stroma* melalui selaput darah yang penuh dengan sel penyebab radang, yang terdiri dari sel B, sel T *helper* CD4<sup>+</sup> (biasanya membentuk folikel limfoid), sel plasma, dan makrofag; (2) agregasi fibrin pada sinovial dan tersebar pada ruang sendi; (3) akumulasi netrofil dalam cairan sinovial dan disepanjang permukaan sinovium namun biasanya tidak masuk ke dalam *synovial stroma*; (4) aktivitas osteoklas pada tulang, yang menyebabkan kista subkondral dan osteoporosis; dan (5) terbentuknya pannus, panus merupakan sejumlah sinovium dan *synovial stroma* yang terdiri dari sel penyebab inflamasi, jaringan granular, dan fibroblas, yang tumbuh di atas tulang rawan articular dan menyebabkan erosi (Kumar, Abbas & Fausto, 2005).

Pada nodul reumatoid subkutan, akan terlihat area yang mengalami nekrosis yang dikelilingi oleh sejumlah limfosit dan sel plasma. Pasien arthritis reumatoid

**Universitas Indonesia**

juga memiliki kadar *rheumatoid factor* yang tinggi. Analisis cairan sinovial menunjukkan indikasi inflamasi arthritis nonspesifik dengan adanya netrofil, tingginya komposisi protein, dan rendahnya kandungan musin (Kumar, Abbas & Fausto, 2005). Laju endap darah (LED) yang cepat juga mengindikasikan adanya inflamasi. C-reactive protein (CRP) juga mengindikasikan keadaan inflamasi. Pada pasien arthritis reumatoid, kadar CRP tinggi, yang mengesankan adanya inflamasi atau luka pada tubuh. Kadar CRP dan LED dapat digunakan untuk memonitor aktivitas penyakit dan melihat seberapa baik seorang pasien merespon terapi yang diberikan (Rheumatoid Arthritis Health Center, 2009).

#### 2.3.4 Vitamin D dan Remodeling Tulang serta Penyakit Autoimun

Proses remodeling tulang diatur oleh sejumlah hormon dan faktor-faktor lokal lainnya. Hormon yang berperan dalam proses remodeling tulang adalah hormon paratiroid (PTH), insulin, hormon pertumbuhan, vitamin D, kalsitonin, glukokortikoid, hormon seks dan hormon tiroid (Setiyohadi, 2007).

Salah satu faktor yang berperan dalam remodeling tulang serta berkaitan dengan penyakit autoimun seperti arthritis reumatoid yaitu vitamin D. Vitamin D merupakan vitamin larut lemak yang penting untuk menjaga metabolisme kalsium. Vitamin D dapat disintesis pada kulit saat terpapar sinar ultraviolet-B dari sinar matahari atau dapat diperoleh dari makanan. Setelah dikonsumsi dari makanan atau disintesis di kulit, vitamin D akan masuk sirkulasi dan dibawa ke hati. Di hati, vitamin D dihidroksilasi menjadi 25-hidroksivitamin-D. Di ginjal, enzim 25-hidroksivitamin-D<sub>3</sub>-1-hidroksilase mengkatalisis proses hidroksilasi kedua menjadi bentuk 1,25-Dihidroksivitamin-D<sub>3</sub> [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] (Higdon, Drake & DeLuca, 2011).

Vitamin D penting untuk pemanfaatan kalsium yang efisien dalam tubuh. Kelenjar paratiroid akan merasakan tingkatan kalsium dan mensekresikan paratiroid hormon jika kalsium darah menurun terlalu rendah. Peningkatan PTH akan meningkatkan aktivitas dari enzim 25-hidroksivitamin-D<sub>3</sub>-1-hidroksilase di ginjal, menghasilkan peningkatan produksi 1,25-Dihidroksivitamin-D<sub>3</sub>. Peningkatan 1,25-Dihidroksivitamin-D<sub>3</sub> mengakibatkan perubahan ekspresi gen yang menormalkan kadar kalsium serum dengan cara (1) absorpsi kalsium dalam

**Universitas Indonesia**

makanan di usus, (2) meningkatkan reabsorpsi kalsium pada ginjal, (3) memindahkan kalsium dari tulang saat kalsium dalam makanan tidak cukup untuk menjaga kenormalan kalsium dalam serum (Higdon, Drake & DeLuca, 2011).

Selain berfungsi mengatur homeostasis mineral dan pembentukan serta resorpsi tulang, vitamin D berfungsi dalam pengaturan proliferasi dan diferensiasi sel. Vitamin D aktif telah tampak memperlambat diferensiasi dan maturasi *myeloid dendritic cell* untuk mengurangi ekspresi dari *major histocompatibility complex II, co-stimulatory molecules* (CD80, CD86, dan CD40), dan maturasi protein (CD1a dan CD83). Selain itu, kapasitas keberadaan antigen dari makrofag dan sel dendritik ditekan dan stimulasi imun IL-12 dihambat oleh vitamin D. sel Th1 dan Th2 merupakan target langsung vitamin D. Vitamin  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  menurunkan proliferasi sel Th1 dan juga menghambat produksi IL-2, interferon-gama ( $\text{IFN-}\gamma$ ), dan *tumor necrosis factors-alpha* ( $\text{TNF-}\alpha$ ) dari sel Th1 dan memiliki efek anti-proliferasi. Selanjutnya, vitamin D menghambat respon Th17 dan juga memperbaiki jumlah dan fungsi dari regulasi sel T  $\text{CD4}^+/\text{CD25}^+$ , yang dapat mencegah perkembangan penyakit autoimun (Zold et al., 2008).

Cantorna dan Mahon menyatakan bahwa status vitamin D dapat mempengaruhi prevalensi penyakit autoimun. Penetapan hubungan pasti antara vitamin D dengan penyakit autoimun sulit karena kompleksitas sistem pengaturan vitamin D. Tingkat vitamin D pada serum menurun secara signifikan pada penyakit *systemic lupus erythematosus* dan *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) dibandingkan kontrol normal yang sehat. Baru-baru ini juga ditemukan bahwa penurunan tingkat vitamin D berhubungan dengan keparahan artritis reumatoid (Zold et al., 2008). Penurunan vitamin D ini dicurigai berhubungan dengan penurunan kadar kalsium darah. Penelitian di India memperlihatkan terjadinya penurunan kadar kalsium, kenaikan kadar fosfat serta penurunan rasio kalsium/fosfat pada serum pasien artritis reumatoid dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sehat. Penurunan rasio kalsium/fosfat pada pasien artritis reumatoid mengindikasikan perubahan metabolisme kalsium dan fosfor pada artritis reumatoid (Walwadkar, Suryakar, Katkam & Ankush, 2006).

Margherita T. Cantorna (2000) mengungkapkan bahwa bentuk aktif dari vitamin D menekan perkembangan autoimunitas pada hewan coba. Peran vitamin

**Universitas Indonesia**

D pada imunitas tubuh merupakan reaksi *feedback* dari *paracrine* untuk mengurangi inflamasi dengan mempengaruhi diferensiasi sel T CD4 dan/atau dengan meningkatkan fungsi dari sel T penekan (*T suppressor cell*) (Ginajar, Sumariyono, Setiati & Setiyohadi, 2007).

### 2.3.5 Pengobatan Arthritis Reumatoid

Walaupun hingga kini belum berhasil didapatkan cara pencegahan dan pengobatan arthritis reumatoid yang sempurna, saat ini pengobatan pada penderita arthritis reumatoid ditujukan untuk 1) Menghilangkan gejala inflamasi aktif baik lokal maupun sistemik; 2) Mencegah destruksi jaringan; 3) Mencegah deformitas dan memelihara fungsi persendian agar tetap dalam keadaan baik; 4) Mengembalikan kelainan fungsi organ dan persendian yang terlibat agar sedapat mungkin menjadi normal kembali (Daud, 2000).

Dalam pengobatan arthritis reumatoid umumnya selalu dibutuhkan pendekatan multidisipliner. Suatu *team* yang idealnya terdiri dari dokter, perawat, ahli fisioterapi, ahli terapi okupasional, pekerja sosial, ahli farmasi, ahli gizi dan ahli psikologi, semuanya memiliki peranan masing-masing dalam pengelolaan penderita arthritis reumatoid baik dalam bidang edukasi maupun penatalaksanaan pengobatan penyakit ini. Pertemuan berkala yang teratur antara penderita dan keluarganya dengan *team* pengobatan ini umumnya akan memungkinkan penatalaksanaan penderita menjadi lebih baik dan juga akan meningkatkan kepatuhan penderita untuk berobat (Daud, 2000).

Terapi pengobatan adalah bagian yang penting dari seluruh program penatalaksanaan penyakit ini. Obat-obatan dipakai untuk mengurangi nyeri, meredakan peradangan, dan untuk mencoba mengubah perjalanan penyakit. Untuk setiap tujuan ini bisa diberikan obat yang berbeda (Price & Wilson, 2012). Obat-obat yang digunakan untuk terapi arthritis reumatoid adalah AINS (Antiinflamasi nonsteroid) sebagai antiinflamasi atau analgetik dan DMARD (*disease modifying arthritis rheumatoid drug*) untuk mengubah perjalanan penyakit, dan kortikosteroid untuk antiinflamasi (Priyanto, 2009).

### 2.3.5.1 AINS (Anti Inflamasi Non-Steroid)

Substansi yang menghambat proses peradangan dan memiliki efek analgesik serta antipiretik diklasifikasikan sebagai obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID). Obat ini tidak mengandung struktur steroid dan efeknya tidak bergantung kepada pelepasan kortisol. Terdapat perbedaan besar dalam penulisan resep NSAID untuk artritis reumatoid pada beberapa negara, dan perbedaan ini tampaknya lebih dipengaruhi oleh strategi pemasaran daripada oleh respon pasien yang berbeda terhadap NSAID pada berbagai negara (Albar, 1995).

Matsubara (1991) menyatakan bahwa NSAID dapat bekerja di berbagai tempat pada jalur proses peradangan (*inflammatory pathway*); terutama melalui hambatan siklooksigenase dan dengan demikian menghambat sintesis prostaglandin. Hambatan sintesis prostaglandin ini merupakan salah satu faktor yang berperan dalam mengurangi reaksi peradangan. Berkurangnya proses peradangan pada osteoarthritis membantu mempertahankan proteoglikan, dan dengan demikian juga mempertahankan sintesis tulang rawan (Albar, 1995).

Klasifikasi kimiawi AINS, tidak banyak manfaat kliniknya, karena ada AINS dari subgolongan yang sama memiliki sifat yang berbeda, sebaliknya ada obat AINS yang berbeda subgolongan tetapi memiliki sifat yang serupa. Klasifikasi yang lebih bermanfaat untuk diterapkan di klinik ialah berdasarkan selektivitasnya terhadap siklooksigenase (COX). Enzim siklooksigenase terdapat dalam dua isoform, yaitu COX-1 dan COX-2. Secara garis besar COX-1 esensial dalam pemeliharaan berbagai fungsi dalam kondisi normal di berbagai jaringan khususnya ginjal, saluran cerna dan trombosit. Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. Jika aktivitas COX-1 dihambat oleh AINS maka akan timbul efek samping seperti gangguan saluran cerna (paling sering terjadi). Tromboksan  $A_2$  yang disintesis oleh COX-1, menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi dan proliferasi otot polos. Jika COX-1 dihambat maka dapat mengakibatkan perpanjangan waktu pendarahan. Sedangkan jika aktivitas COX-2 dihambat oleh AINS maka inflamasi akan berkurang (Wilmana & Gan, 2009).

Salah satu obat golongan AINS yang sering digunakan untuk mengatasi inflamasi dan nyeri adalah diklofenak. Dalam klasifikasi penghambatan COX,

**Universitas Indonesia**

termasuk kelompok *preferential COX-2 inhibitor*. Absorpsi obat ini melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek metabolisme lintas pertama sebesar 40-50%. Walaupun waktu paruh singkat yakni 1-3 jam, diklofenak diakumulasi di cairan sinovial yang menjelaskan efek terapi di sendi jauh lebih panjang dari waktu paruh obat tersebut. Efek samping yang lazim ialah mual, gastritis, eritema kulit dan sakit kepala sama seperti semua obat AINS, pemakaian obat ini harus hati-hati pada pasien tukak lambung. Peningkatan enzim transaminase dapat terjadi pada 15% pasien dan umumnya kembali ke normal. Gangguan enzim hati tersebut lebih sering terjadi dibanding dengan AINS lain (Wilmana & Gan, 2009; American Society of Health-System Pharmacists & Drugs.com, 2011).

#### 2.3.5.2 Kortikosteroid

Kortikosteroid bekerja dengan mempengaruhi kecepatan sintesis protein. Kortikosteroid mempengaruhi metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak, serta mempengaruhi fungsi organ di dalam tubuh. Efek kortikosteroid kebanyakan berhubungan dengan besarnya dosis. Tetapi di samping itu juga ada keterkaitan kerja kortikosteroid dengan hormone-hormon lain. Meskipun kortikosteroid mempunyai berbagai macam aktivitas biologik, umumnya potensi sediaan alamiah maupun yang sintetik, ditentukan oleh besarnya efek retensi natrium dan penyimpanan glikogen di hepar atau besarnya khasiat antiinflamasinya (Wilmana & Gan, 2009).

Glukokortikoid bekerja menghambat konversi fosfolipid menjadi asam arakidonat dan asam arakidonat menjadi leukotrien melalui kemampuannya mengikat enzim lipogenase. Kortikosteroid pada terapi artritis reumatoid berfungsi untuk menekan inflamasi dan mempunyai sifat sebagai immunosupresif tetapi tidak merubah perjalanan penyakit. Efek sistemik yang merugikan dari kortikosteroid membatasi penggunaannya dalam jangka panjang (Priyanto, 2009).

Kortikosteroid hanya diberikan pada pasien artritis reumatoid yang sifatnya progresif, dengan pembengkakan dan nyeri sendi yang hebat sehingga pasien tidak dapat bekerja, meskipun telah diberikan istirahat, terapi fisik dan obat

golongan anti-inflamasi nonsteroid untuk pasien yang sedang mengalami serangan akut, dengan gejala lokal rasa panas, pembengkakan disertai rasa sakit di sendi dianjurkan untuk tidak diberi steroid dengan cara intrartikular berulang kali, karena dapat menyebabkan “artropatia charcot”, suatu destruksi sendi tanpa rasa sakit (Wilmana & Gan, 2009).

### 2.3.5.3 DMARD (*disease modifying antirheumatoid drug*)

Obat-obat yang tergolong DMARD dapat mengubah perjalanan penyakit atau memperlambat kerusakan pada tulang sendi dan sekitarnya. Obat-obat ini bekerja sangat lambat, oleh karena itu diperlukan terapi dalam jangka lama, yaitu mulai dari 6 minggu sampai 6 bulan. Obat-obat yang dapat berfungsi untuk memperlambat atau mengubah perjalanan penyakit adalah metotreksat, azathioprin, penisilamin, hidrosiklorokuin/klorokuin, garam emas, sulfasalazin, leflunomid, dan antagonis *tumor necrosis factor* (TNF). Karena obat ini dipakai dalam jangka waktu yang relatif panjang, maka banyak efek samping dan efek toksik yang dapat timbul (Priyanto, 2009).

## 2.4 Natrium Diklofenak

OAINS dibagi menjadi yang selektif terhadap COX-1 seperti ibuprofen, naproxen, atau diklofenak dan selektif terhadap COX-2 seperti nabumetone, etodolac, eloxicam, dan sebagainya. Munculnya OAINS selektif terhadap COX-2 dimaksudkan untuk menghindari efek perdarahan pada saluran cerna. Namun belakangan beberapa jenis OAINS selektif COX-2 ini dilaporkan malah menimbulkan efek pada gangguan jantung. Sehingga, penggunaan OAINS non selektif atau sering disebut OAINS konvensional mulai diperhitungkan kembali. Natrium diklofenak atau diklofenak sodium, merupakan salah satu OAINS tradisional yang banyak digunakan untuk mengobati nyeri dan inflamasi muskuloskeletal. Obat ini diserap sepenuhnya dari saluran gastrointestinal dengan pemberian secara oral. Beberapa studi klinis natrium diklofenak yang diberikan sebagai monoterapi atau kombinasi, menunjukkan obat ini efektif meredakan gejala osteoarthritis (OA) maupun arthritis reumatoid (AR) (Reumatologi, 2006).

Natrium diklofenak mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{14}H_{10}C_{12}NNaO_2$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Natrium diklofenak memiliki berat molekul 318,1. Pemerianaanya adalah serbuk kristalin berwarna putih atau sedikit kuning, sedikit higroskopik, agak sukar larut dalam air, sangat mudah larut dalam metanol, mudah larut dalam etanol, agak sukar larut dalam aseton. Susut pengeringannya tidak lebih dari 0,5% ditentukan pada 1,000 g dengan pengeringan oven pada suhu antara 100-105<sup>0</sup>C selama 3 jam. Suhu leburnya mencapai 280<sup>0</sup>C (*European Pharmacopoeia*, 2005).

Absorpsi obat ini melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek metabolisme lintas pertama sebesar 40-50%. Walaupun waktu paruh singkat yakni 1-3 jam, diklofenak diakumulasi di cairan sinovial yang menjelaskan efek terapi di sendi jauh lebih panjang dari waktu paruh obat tersebut. Efek samping yang lazim ialah mual, gastritis, eritema kulit dan sakit kepala sama seperti semua obat AINS, pemakaian obat ini harus hati-hati pada pasien tukak lambung. Peningkatan enzim tranaminase dapat terjadi pada 15% pasien dan umumnya kembali ke normal. Gangguan enzim hati tersebut lebih sering terjadi dibanding dengan AINS lain (Wilmana & Gan, 2009).

Obat ini dimetabolisme di hati melalui hidrosilasi dan konjugasi. Beberapa metabolit mungkin menunjukkan aktivitas anti-inflamasi. Diekskresikan dalam urin (65%) dan dalam tinja melalui eliminasi empedu (35%) sebagai metabolit. Pada pasien geriatrik, profil farmakokinetik mirip dengan orang dewasa muda. Pada pasien dengan gangguan ginjal, klirens plasma tidak berubah secara substansial, meskipun klirens metabolit mungkin akan menurun (American Society of Health-System Pharmacists & Drugs.com, 2011).

## **2.5 Metode Uji Efek Antiinflamasi**

Efek antiartritis suatu obat diuji secara eksperimental pada hewan dengan beberapa metode:

### **2.5.1 *Adjuvant arthritis***

Tikus yang diberi *Adjuvant arthritis* merupakan model eksperimental poliartritis yang secara luas digunakan untuk uji preklinis beberapa agen

**Universitas Indonesia**



antiarthritis yang masih dalam penyelidikan klinis atau preklinis atau sekarang ini telah digunakan untuk terapi penyakit tersebut (Bandeled, 2001).

#### 2.5.2 *Antigen arthritis*

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

#### 2.5.3 *Collagen induced arthritis*

Bovine tipe II kolagen dalam *incomplete freund's adjuvant* yang digunakan sebagai antigen diberikan secara intradermal. Onset arthritis terjadi pada hari ke-10 sampai 13. Tikus diberi perlakuan ini selama 6 hari, dan pada hari ke 7 dibunuh untuk melihat evaluasi hispatologinya (Bandeled, 2001).

#### 2.5.4 *Carragenan induced arthritis*

Model ini didasarkan pada prinsip pelepasan berbagai mediator inflamasi oleh carragenan. Tahap awal adalah disebabkan pelepasan histamin dan serotonin. Tahap kedua dari edema dikarenakan pelepasan prostaglandin, protease dan lisosom. injeksi subkutan dari karagenan ke kaki tikus menghasilkan peradangan yang dihasilkan dari ekstrasvasi plasma, peningkatan jaringan air dan eksudasi plasma protein bersama dengan ekstrasvasi neutrofil, semua dikarenakan metabolisme asam arakidonat. Tahap pertama dimulai segera setelah injeksi karagenan dan berkurang dalam dua jam. Fase kedua dimulai pada akhir fase pertama dan tetap selama 3 hingga lima jam (Suralkar, 2008).

#### 2.5.5 *Formalin-induced Paw Edema*

Model ini berdasarkan kemampuan obat yang diuji dalam menghambat udem kaki hewan coba yang dihasilkan setelah diinjeksi dengan formalin. Efek nosiseptik formalin biasanya *biphasic*, komponen neurogenik awal diikuti dengan respons jaringan yang dimediasi kemudian. Pada tahap pertama ada pelepasan

histamin, 5-HT dan kinin, sedangkan tahap kedua berkaitan dengan pelepasan prostaglandin (Suralkar, 2008).

## 2.6 CFA (*Complete Freund's Adjuvant*)

Aktivitas adjuvant merupakan hasil dari antigen lepas lambat dari cadangan lemak dan stimulasi respon imun lokal bawaan yang mengakibatkan peningkatan kekebalan imun adaptif. Komponen penting dari respons ini adalah reaksi inflamasi yang intens pada situs deposisi antigen akibat dari masuknya leukosit dan interaksi mereka dengan antigen. CFA dapat menyebabkan peradangan lokal dan reaksi granulomatososa di lokasi injeksi. CFA yang tidak digunakan semestinya atau berlebihan dapat menyebabkan efek samping yang signifikan seperti peradangan kronis, ulserasi kulit, abses lokal atau pengelupasan jaringan. Sediaan antigen harus steril dan idealnya, isotonik, pH netral, dan bebas dari urea, asam asetat, dan pelarut beracun lainnya (*Guidelines for the research use of adjuvant*, 2005).

Meskipun formulasi CFA yang mengandung 0,5 mg / ml konsentrasi mikobakteri tersedia secara komersial dan telah sukses digunakan oleh banyak peneliti, konsentrasi <0,1 mg / ml dianjurkan untuk meminimalkan peradangan dan nekrosis yang teramati dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Pengalaman telah menunjukkan bahwa penggunaan volume dan tempat injeksi yang tepat untuk ukuran, spesies hewan, dan tujuan eksperimental menghasilkan hasil yang menguntungkan dan meminimalkan efek samping yang tidak diinginkan. CFAs mengandung baik *M. butyricum* atau *M. tuberculosis* H37Ra (Strain virulent) yang tersedia secara komersial. Volume injeksi maksimum yang disarankan adalah 0,01-0,05 untuk mencit dan 0,10 ml untuk tikus (*Guidelines for the research use of adjuvant*, 2005).

## 2.7 Kalsium Darah

Tubuh orang dewasa diperkirakan mengandung 1000 g kalsium. Sekitar 99% kalsium ini berada di dalam tulang dalam bentuk hidroksiapatit dengan rumus molekul  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  dan 1% lagi berada di dalam cairan ekstraselular dan jaringan lunak. Di dalam cairan ekstraselular, konsentrasi ion kalsium adalah

**Universitas Indonesia**

$10^{-3}$  M, sedangkan dalam sitosol  $10^{-6}$  M. Di dalam serum, kalsium berada dalam tiga fraksi, yaitu ion kalsium sekitar 50%, kalsium yang terikat albumin sekitar 40% dan kalsium dalam bentuk kompleks, terutama sitrat dan fosfat sekitar 10%. Kalsium ion dan kalsium kompleks mempunyai sifat dapat melewati membran semipermeabel, sehingga akan difiltrasi di glomerulus secara bebas. Sekitar 90% kalsium terikat protein, terikat pada albumin dan sisanya pada globulin. Pada pH 7,4 setiap g/dL albumin akan mengikat 0,8 mg/dL kalsium. Kalsium ini akan terikat pada gugus karboksil albumin dan ikatannya sangat tergantung pada pH serum. Pada keadaan asidosis yang akut, ikatan ini akan berkurang, sehingga kadar ion kalsium meningkat, dan sebaliknya pada alkalosis akut (Setiyohadi, 2007).

Kadar ion kalsium dalam serum diatur oleh dua hormon penting, yaitu PTH dan  $1,25$  (OH)<sub>2</sub> vitamin D. Sel utama kelenjar paratiroid sangat sensitif terhadap kadar ion kalsium di dalam serum. Peran PTH pada reabsorpsi kalsium kalsium di tubulus distal, resorpsi tulang, dan peningkatan absorpsi kalsium di usus sangat penting untuk menjaga stabilitas kadar ion kalsium di dalam serum. Selain itu, peningkatan PTH akan menurunkan *renal tubular phosphate threshold* (TmP/GFR) sehingga fosfat yang diserap dari usus dan dimobilisasi dari tulang akan diekskresi oleh ginjal (Setiyohadi, 2007).

## 2.8 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA/AAS)

Spektrofotometri serapan atom (SAA) adalah suatu metode yang digunakan untuk menentukan unsur-unsur dalam suatu sampel/cuplikan yang berbentuk larutan. Prinsip dari analisis dengan SAA ini didasarkan proses penyerapan energi oleh atom-atom yang berada pada tingkat tenaga dasar (*ground state*). Penyerapan energi tersebut akan mengakibatkan tereksitasinya elektron dalam kulit atom ke tingkat tenaga yang lebih tinggi (*excited state*). Akibat dari proses penyerapan radiasi tersebut elektron dari atom-atom bebas tereksitasi ini tidak stabil dan akan kembali ke keadaan semula disertai dengan memancarkan energi radiasi dengan panjang gelombang tertentu dan karakteristik untuk setiap unsure (Torowati, Asminar & Rahmiati, 2008).

Kandungan matriks atau ion-ion lain dapat mengganggu proses analisis logam berat dengan spektroskopi serapan atom. Hal ini mengakibatkan akurasi hasil analisis menjadi rendah. Oleh karena itu sebelum analisis dilakukan destruksi untuk menghilangkan/memisahkan kandungan ion lain, dengan perlakuan awal diharapkan kesalahan pada saat analisis dapat ditekan seminimal mungkin (Murtin, Hastuti & Gunawan, n.d.).

Metode perlakuan awal yang digunakan adalah metode destruksi yaitu dengan memutuskan ikatan unsur logam dengan komponen lain dalam matriks sehingga unsur tersebut berada dalam keadaan bebas kemudian dianalisis menggunakan SAA karena pengerjaannya cepat, sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan, dan dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu. Asam nitrat digunakan untuk proses destruksi dikarenakan dalam keadaan panas asam ini merupakan oksidator kuat yang dapat melarutkan hampir semua logam dan dapat mencegah pengendapan unsur (Murtin, Hastuti & Gunawan, n.d.).

Dalam spektroskopi serapan atom/*atomic absorption spectroscopy* (AAS), unsur-unsur sebagai analit diubah menjadi atom-atom bebas dalam alat atomisasi dengan menginput energi termal. Atom-atom ini dapat mengabsorpsi radiasi unsur spesifik (Merck Indonesia, 2012). Proses atomisasi dapat diterangkan sebagai berikut. Bila larutan zat yang diperiksa disemprotkan ke dalam nyala sebagai aerosol, maka mula-mula terjadi proses penguapan pelarut, meninggalkan partikel garam tersuspensi pada nyala. Partikel-partikel ini lalu menguap dan sebagian atau seluruh uap tersebut akan terdisosiasi menjadi atom-atom. Proses ini sebagian mungkin disebabkan oleh panas dari nyala dan sebagian oleh reduksi dari spesies yang ada pada nyala (Harmita & Hayun, 2006).

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Fitokimia, dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi, serta Laboratorium Afiliasi Departemen Kimia 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 pletismometer, jarum suntik 27 G1/2 (Terumo), spuit 1; 5 ml (Terumo), alat sonde, kandang hewan, timbangan hewan, timbangan analitik (Mettler Toledo), alat-alat gelas, shaker, rotary evaporator (Buchi), alkoholmeter, penangas air, *hot plate*, kertas saring *Whatman*, cawan penguap (jangkar), pipet sekali pakai, pipet mikro, *blue tip*, tabung serum *red-top tube (Vacutainer)*, lemari pendingin, lemari asam, pipet mikrohematokrit, dan spektrofotometer serapan atom (Shimadzu AA 6300).

### 3.3 Bahan

#### 3.3.1 Bahan Uji

Pada penelitian ini digunakan bahan uji yaitu, serbuk kering tanaman herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.).

#### 3.3.2 Bahan Kimia

Pelarut dan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *complete freund's adjuvant* (CFA) yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* (Sigma-Aldrich, USA); larutan NaCl 0,9% steril; natrium diklofenak (Kimia Farma); etanol 70 dan 96%; karboksimetilselulosa (CMC); asam nitrat pekat 65% (Merck); asam perklorat pekat (Merck); eter; *aquabidest* dan *aquadest*.

### 3.3.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprauge Dawley* (SD) yang berusia 3 bulan dengan berat badan 180 – 200 gram dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Menurut Federer W.T. (1991), tikus dapat dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan jumlah tikus dalam tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus berikut (Arkeman & David, 2006):

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

Dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, t = 6, maka  $n \geq 4$

Jadi, tikus dibagi dalam 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor.

## 3.4 Cara Kerja

### 3.4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% herba rumput mutiara

Metode yang digunakan untuk membuat ekstrak etanol rumput mutiara adalah maserasi. Serbuk kering rumput mutiara dikocok dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 selama 6 jam menggunakan *shaker*, kemudian didiamkan selama 18 jam. Ampasnya dipisahkan dengan cara disaring dengan kertas saring. Proses diulangi empat kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama sampai filtrat menjadi tidak berwarna atau berbeda dari filtrat pertama. Semua filtrat yang diperoleh dicampur dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* bertekanan rendah pada suhu 50°C dengan kecepatan putar 30 rpm. Selanjutnya, filtrat pekat diuapkan diatas penangas air pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental (DepKes RI, 2008).

### 3.4.2 Penetapan Rendemen dan Skrining Fitokimia

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000). Semakin tinggi nilai rendemen semakin banyak jumlah ekstrak yang dihasilkan. Penetapan rendemen berguna untuk menentukan dosis ekstrak yang akan diberikan pada hewan coba.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia kering}} \times 100\%$$

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara seperti flavonoid, tannin, glikosida, dan triterpen. Pengujian ini dilakukan dengan cara sebagai berikut (Depkes RI, 1995).

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  $\text{HCl}_{(p)}$  menghasilkan warna merah jingga hingga merah ungu atau kuning jingga untuk flavon dan kalkon. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan *Orthosiphonis Folium*.

b. Uji tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambahkan 15 mL air panas kemudian dipanaskan hingga mendidih setelah itu disaring. Sebanyak 5 mL filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 1 mL larutan gelatin 10%. Terbentuknya endapan putih yang menggumpal menunjukkan hasil positif. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan *Psidii Folium*.

c. Uji terpenoid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah dengan 5 mL eter, kemudian diuapkan di lemari asam. Setelah itu ditambahkan 5 tetes asetat anhidrida dan 3 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$ . Hasil reaksi positif apabila dihasilkan warna hijau. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan *Caryophylli Flos*.

d. Uji glikosida

Uji glikosida dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mollisch. Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah dengan 15 mL  $\text{HCl}$  2 N, dipanaskan hingga tersisa setengah bagian kemudian disaring. Sebanyak 3 mL filtrat yang diperoleh kemudian ditambahkan 3 mL pereaksi Mollisch. Setelah itu ditambahkan 3 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$ . Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin pada lapisan tengah larutan. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan *Centellae Herba*.

### 3.4.3 Penentuan Dosis Bahan Uji

Dosis ekstrak rumput mutiara yang dipakai pada penelitian ini sebagai antiinflamasi berdasarkan dosis yang biasa diberikan kepada pasien. Menurut kemasan sediaan kapsul rumput mutiara, dosis untuk peradangan yaitu sehari 2x2 kapsul. Satu kapsul tersebut berisi 500 mg serbuk rumput mutiara. Salah satu dokter sekaligus praktisi herbal sering menggunakan dosis rumput mutiara sebesar 3x3 kapsul @ 500 mg sebagai antiinflamasi. Kedua dosis tersebut menjadi acuan dalam penelitian ini, dimana dosis yang tertera pada kemasan sediaan kapsul rumput mutiara dijadikan dosis kedua sedangkan dosis rumput mutiara yang biasa diberikan dokter dijadikan dosis ketiga. Dosis pertama diperoleh dengan membagi dosis kedua dengan angka 2,25 sebagai angka kelipatan dosis.

$$\begin{aligned} \text{Dosis I} &= \text{Dosis II} / 2,25 \\ &= 360 \text{ mg} / 2,25 = 160 \text{ mg} \\ \text{Dosis II} &= 2 \times 2 \text{ kapsul @ } 500 \text{ mg} \\ &= 2000 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 360 \text{ mg} \\ \text{Dosis III} &= 3 \times 3 \text{ kapsul @ } 500 \text{ mg} \\ &= 4500 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 810 \text{ mg} \end{aligned}$$

### 3.4.4 Penyiapan Bahan Uji

Ekstrak disuspensikan sesuai dosis, menggunakan CMC (*Carboxymethylcellulose*) 0,5% sebagai bahan pensuspensi. Serbuk CMC ditaburkan pada lumpang berisi aquadest panas bersuhu 70<sup>0</sup>C dengan volume 20 kalinya. Kemudian CMC dibiarkan mengembang selama kurang lebih 10 menit. CMC yang telah mengembang tersebut digerus. Setelah itu ditambahkan sediaan dan digerus kembali hingga homogen. kemudian ditambahkan aquadest perlahan-lahan sambil dihomogenisasi, hingga mencapai volume suspensi yang diinginkan. Suspensi ini sebaiknya dibuat sesaat sebelum percobaan berlangsung agar suspensi terjaga kestabilannya. Pemberian pada hewan coba dilakukan secara oral dengan teknik sonde.



#### 3.4.5 Pemeliharaan Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 2 minggu dengan tujuan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungannya yang baru. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum hewan coba, meliputi berat badan dan keadaan fisiknya. Hewan coba yang sakit dan cacat tidak diikutsertakan dalam pengujian.

#### 3.4.6 Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak

Ilavarasan, dkk. (2005), Siddalingappa, Rajesh, Kudagi, Krishnakanth, & Sujith (2011) menggunakan dosis natrium diklofenak sebesar 5 mg/Kg atau 1 mg/200g dalam penelitiannya. Oleh karena itu, dosis tersebut akan digunakan pada penelitian ini. Dalam 2 mL suspensi mengandung 1 mg natrium diklofenak. Untuk membuat 50 mL suspensi tersebut diperlukan natrium diklofenak sebanyak  $50 \text{ mL} / 2 \text{ mL} \times 1 \text{ mg} = 25 \text{ mg}$ . Ditimbang sebanyak 25 mg serbuk natrium diklofenak kemudian digerus dan disuspensikan dengan CMC 0,5%.

#### 3.4.7 Pengambilan Sampel Darah Tikus

Sampel darah tikus diambil pada hari ke-28 percobaan melalui sinus orbital tikus dengan cara membaringkan tikus yang telah dianastesi di atas meja. Kemudian dengan jari telunjuk dan jempol, tarik kulit di atas dan di bawah mata sehingga mata tikus terlihat menonjol. Masukkan pipet hematokrit di pinggiran mata kemudian putar pipet tersebut dan pastikan pipet tersebut tidak berpindah dari pinggiran mata. Dengan pipet mikrohematokrit, ambil darah tikus dengan menekan pipet mikrohematokrit pada sudut mata tikus. Tampung darah tikus pada wadah vial. Dianjurkan untuk tidak mengambil sampel darah pada mata yang sama setidaknya sampai dua minggu (Hoff, 2000).

#### 3.4.8 Preparasi dan Destruksi Sampel Darah

Metode untuk preparasi dan destruksi sampel darah merujuk kepada NIOSH 8005 tahun 1994 yang telah dimodifikasi. Sebelum melakukan proses destruksi, terlebih dahulu dilakukan proses pemisahan serum dengan cara:

**Universitas Indonesia**

sejumlah 3 mL darah yang diambil dari sinus orbital tikus diletakkan pada tabung *vacutainer red-top tube* kemudian dilakukan proses *clotting* selama 60 menit pada temperatur ruang. Setelah bekuan terbentuk, dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Dengan menggunakan pipet sekali pakai, ambil bagian serum dengan hati-hati dan jangan sampai merusak lapisan bekuan. Masukkan serum ke dalam *sample cup* (Texas Department of State Health Services, Laboratory Services Section, n.d.).

Proses destruksi dilakukan dengan cara mengambil 1 mL bagian serum lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berskala. Tambahkan asam nitrat pekat 1 mL lalu kocok. Tambahkan 1 mL asam perklorat pekat lalu kocok. Diamkan selama 1 jam kemudian panaskan sampel hingga terlihat bening. Bila sampel masih belum bening, tambahkan asam nitrat pekat dan panaskan kembali. Encerkan larutan sampel dengan aquabides kemudian saring dengan kertas saring *Whattman*. Pindahkan larutan ke dalam labu takar 10,0 mL, tambahkan sampai batas labu dengan aquabidest, kocok dan homogenkan. Buat pengenceran sepuluh kalinya dengan memasukkan 1 mL sampel tersebut ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan aquabidest sampai tanda batas. Ukur kadar kalsiumnya dengan AAS menggunakan deret standar kalsium 0,5; 1; 3; 5 ppm.

#### 3.4.9 – Penyiapan Larutan Standar Kalsium

Larutan standar disiapkan oleh Laboratorium Afiliasi Kimia UI. Larutan standar yang digunakan dibuat dari larutan induk 1000 ppm lalu diencerkan sampai didapat larutan dengan konsentrasi 0,5; 1; 3; 5 ppm.

### 3.5 Metode

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati efek antiinflamasi dari tanaman rumput mutiara dengan mengamati penurunan udem dan perubahan kadar kalsium serum darah tikus putih jantan yang diinduksi oleh *complete freund's adjuvant* (CFA). Percobaan ini akan dilakukan selama 28 hari. Tikus akan diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar pada hari ke-1. Kemudian pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberikan bahan uji sesuai kelompok

perlakuan secara oral. Penurunan udem pada kaki tikus diamati pada hari ke-1, 7, 14, 21, dan hari ke-28 dengan pletismometer. Pada hari ke-28, tikus diambil darahnya untuk selanjutnya dilakukan preparasi untuk diukur kadar kalsiumnya menggunakan spektrofotometri serapan atom.

Tabel 3.1. Kelompok Perlakuan Uji Antiartritis Metode *adjuvant-induced arthritis*

No.	n (ekor)	Kelompok	Perlakuan
1.	6	Kontrol Normal	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml larutan salin, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi CMC 0,5%
2.	6	Kontrol Negatif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi CMC 0,5%
3.	6	Dosis I	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi ekstrak rumput mutiara dosis 160 mg/200 g bb dalam CMC 0,5% per oral
4.	6	Dosis II	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi ekstrak rumput mutiara dosis 360 mg/200 g bb dalam CMC 0,5% per oral
5.	6	Dosis III	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi ekstrak rumput mutiara dosis 810 mg/200 g bb dalam CMC 0,5% per oral
6.	6	Kontrol Positif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-2 sampai ke-28 diberi 2 ml suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb dalam CMC 0,5% per oral

### 3.5.1 Prosedur kerja

Setelah dilakukan persiapan alat dan bahan serta aklimatisasi hewan coba, telapak kaki tikus akan diinduksi dengan *complete freund's adjuvant* (CFA) pada hari ke-1, kemudian pada hari ke-2 sampai hari ke-28 hewan coba akan diberi

ekstrak rumput mutiara secara oral. Pengukuran volume telapak kaki dilakukan pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah induksi.

Pada hari pengujian, tikus ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak dengan jumlah enam kelompok tikus terdiri dari enam ekor untuk masing-masing kelompok. Setiap tikus dalam semua kelompok, pada hari ke-1, diukur volume kaki belakang pada bagian yang akan disuntik CFA kecuali kelompok normal yang hanya disuntik larutan salin.

Untuk kelompok kontrol normal, pada hari pertama tikus akan disuntik dengan 0,1 ml larutan salin pada telapak kaki bagian belakang dan pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberi suspensi CMC 0,5% sebanyak 2 ml secara oral.

Untuk kelompok kontrol negatif, pada hari pertama tikus akan disuntik dengan 0,1 ml CFA pada telapak kaki bagian belakang dan pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberi suspensi CMC 0,5% sebanyak 2 ml secara oral.

Untuk kelompok yang diberi ekstrak rumput mutiara dengan dosis I, II, dan III, masing-masing tikus pada hari pertama akan disuntik dengan 0,1 ml CFA pada telapak kaki bagian belakang dan pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberi suspensi bahan uji dalam CMC 0,5% sebanyak 2 ml secara oral.

Untuk kelompok kontrol positif, pada hari pertama tikus akan disuntik dengan 0,1 ml CFA pada telapak kaki bagian belakang dan pada hari ke-2 sampai hari ke-28 diberi suspensi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb dalam CMC 0,5% sebanyak 2 ml secara oral.

Volume kaki diukur dengan cara mencelupkannya ke dalam alat pletismometer pada hari ke-1 sebelum induksi CFA, hari ke-7, 14, 21, dan 28. Semua data yang diperoleh dianalisis dengan statistik terhadap volume udem yaitu volume kaki dari jari sampai batas mata kaki tempat terjadinya udem.

Pada hari ke-28, tikus akan diambil sampel darah pada matanya. Setelah itu, sampel darah akan didestruksi sebelum ditentukan kadarnya dengan alat spektrofotometer serapan atom.

### 3.5.2 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini yaitu volume udem dan kadar kalsium darah. data tersebut akan dianalisis dengan metode ANAVA (*Analysis of*

**Universitas Indonesia**

*Variance*). Analisis Varians (*Analysis of Variance*) merupakan teknik untuk menguji perbedaan dua atau lebih *sample means*. ANAVA Dapat digunakan untuk menjawab pertanyaan apakah sampel yang kita ambil dari populasi memiliki rata-rata yang sama (*Analysis of Variance* dan *Chi-square*, 2010).

Sebelum dilakukan pengujian menggunakan metode ANAVA, harus dipenuhi dahulu beberapa syarat, yaitu sampel berasal dari kelompok yang independen, varian antar kelompok harus homogen, dan data masing-masing kelompok terdistribusi normal. Oleh karena itu, data ini perlu dilakukan uji normalitas dengan uji *Saphiro-wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak. Apabila terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk melihat perbedaan antar tiap kelompok perlakuan (Besral, 2010).

Jika salah satu syarat untuk uji ANAVA tidak terpenuhi, maka dilakukan uji non-parametrik seperti uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan. Apabila terdapat perbedaan bermakna, dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar tiap kelompok perlakuan (Besral, 2010).

Efek antiinflamasi dapat dilihat dengan menghitung persentase penghambatan udem rata-rata dengan rumus (Raji, Oluwadara, Akinsomiyose, Awobajo & Adheshoga, 2002; Mansjoer, 1997):

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

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

Universitas Indonesia

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Tinjauan Umum

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh antiinflamasi herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) terhadap kadar kalsium darah tikus putih jantan yang diinduksi CFA (*Complete Freund's Adjuvant*). Rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dipilih sebagai bahan uji karena tanaman tersebut biasa digunakan sebagai obat antiinflamasi di sebuah klinik herba di kota Depok. Herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) ini pun telah dikemas dalam sediaan kapsul yang berisi serbuk kering dan tersebar di tengah-tengah masyarakat sebagai obat herbal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai khasiat dari Herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.). Pada penelitian ini digunakan dosis bertingkat untuk mengetahui dosis mana yang bekerja optimal sebagai antiinflamasi. Selain itu, dengan menggunakan dosis bertingkat dapat diketahui apakah efek antiinflamasi dari herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) bergantung dosis ataukah tidak. Jika dengan uji statistik pemberian ketiga dosis tersebut menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dalam hal penurunan volume udem telapak kaki tikus dan peningkatan kadar kalsium darah maka faktor pemberian dosis menjadi pertimbangan penting pada terapi antiinflamasi. Tetapi, jika dengan uji statistik pemberian ketiga dosis tersebut tidak menunjukkan perbedaan bermakna maka pemberian ketiga dosis tersebut tidak berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan volume udem dan peningkatan kalsium darah.

Salah satu gejala klinis pada penyakit artritis rematoid adalah penurunan kadar kalsium darah yang dicurigai dikarenakan defisiensi vitamin D. Vitamin D merupakan vitamin larut lemak yang berperan penting dalam mempertahankan kenormalan kadar kalsium darah. Kelenjar paratiroid dapat merasakan kadar kalsium serum dan mensekresikan hormon paratiroid jika kadar kalsium rendah. Peningkatan kadar hormon paratiroid akan meningkatkan aktivitas enzim 25-*hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1-hydroxylase* di ginjal, menghasilkan peningkatan produksi 1,25-dihidroksivitamin D. Peningkatan produksi 1,25-dihidroksivitamin D

mengakibatkan perubahan pada ekspresi gen yang menormalkan kadar kalsium serum dengan cara (1) meningkatkan absorpsi kalsium di usus, (2) meningkatkan reabsorpsi kalsium di ginjal, (3) memindahkan kalsium dari tulang saat kekurangan asupan kalsium dari makanan (Higdon, Drake & DeLuca, 2011).

Selain berfungsi dalam pengaturan kadar kalsium darah, vitamin D juga berperan penting dalam sistem imun. Pada percobaan *in vivo* diketahui bahwa suplementasi 1,25-dihidroksivitamin D dapat mencegah *experimental autoimmune encephalomyelitis* (EAE) dan perkembangan penyakit artritis. Hal ini dapat dilihat bahwa EAE dimediasi oleh sel T CD4<sup>+</sup> (Th1) yang mengenali protein di sistem saraf pusat melalui IL-2,  $\gamma$  interferon, dan TNF- $\alpha$ , sementara di sisi lain sel Th2 memediasi pembentukan IL-10 dan IL-4 yang mensupresi EAE pada tikus. Penelitian ini membuktikan bahwa respon imun normal tergantung pada keseimbangan antara sel Th1 dan sel Th2. Salah satu yang menyebabkan penyakit autoimun adalah dominasi respon imun terhadap kelebihan sel Th1 dari pada sel Th2. Pada percobaan *in vitro*, 1,25-dihidroksivitamin D menghambat proliferasi sel T dan menurunkan produksi Th1 untuk menjaga keseimbangan antara produksi Th1 dan Th2 (Cantorna, 2000; Ginanjar, Sumariyono, Setiati & Setiyohadi, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati efek antiinflamasi dari tanaman rumput mutiara dengan mengamati penurunan udem dan perubahan kadar kalsium serum darah tikus putih jantan yang diinduksi oleh *complete freund's adjuvant* (CFA). CFA digunakan sebagai penginduksi dikarenakan CFA dapat memberikan efek kronik pada hewan coba. Hal ini dikarenakan CFA merupakan emulsi air dalam minyak yang mengandung *mycobacteria* yang telah mati atau komponen dinding sel *mycobacteria* yang merupakan cara yang efektif untuk mempotensiasi respon antibodi seluler dan humoral. Aktivitas *adjuvant* merupakan hasil dari antigen lepas lambat dari cadangan lemak dan stimulasi respon imun lokal bawaan yang mengakibatkan peningkatan kekebalan imun adaptif. Komponen penting dari respons ini adalah reaksi inflamasi yang intens pada situs deposisi antigen akibat dari masuknya leukosit dan interaksi mereka dengan antigen. CFA dapat menyebabkan peradangan lokal dan reaksi granulomatosa di lokasi injeksi (*Guidelines for the research use of adjuvant*, 2005).

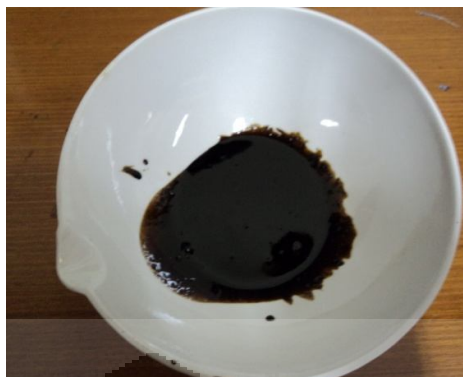
Percobaan ini akan dilakukan selama 28 hari. Hewan coba diberikan bahan uji sesuai kelompok perlakuan secara oral sehari setelah induksi dikarenakan agar efek inflamasi yang timbul tidak semakin parah sehingga sulit diobati. CFA yang digunakan tidak semestinya atau berlebihan dapat menyebabkan efek samping yang signifikan seperti peradangan kronis, ulserasi kulit, abses lokal atau pengelupasan jaringan (*Guidelines for the research use of adjuvant, 2005*). Penurunan udem pada kaki tikus diamati pada hari ke-1 (sebelum induksi), 7, 14, 21, dan hari ke-28 dengan pletismometer.

#### **4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% herba rumput mutiara**

Metode yang digunakan untuk membuat ekstrak etanol rumput mutiara adalah maserasi (Wardah, Sopandi & Setiawan, 2007). Maserasi merupakan metode pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (DepKes RI, 2000). Metode tersebut dipilih agar zat berkhasiat pada rumput mutiara tidak terdegradasi. Pelarut yang dipilih untuk ekstraksi ini adalah etanol 70% karena zat berkhasiat pada rumput mutiara dapat terekstrak pada pelarut tersebut. Selain itu, etanol merupakan pelarut yang toksisitasnya cukup rendah dibandingkan dengan pelarut organik lainnya. Etanol pun mudah diuapkan dan didestilasi sehingga dapat menghemat pelarut yang digunakan dan dapat mempersingkat masa kerja.

Setelah ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara diperoleh, ditentukan parameter organoleptik ekstrak dengan prinsip penggunaan pancaindera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Tujuan penetapan parameter organoleptik ekstrak yaitu sebagai pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin (DepKes RI, 2000). Ekstrak tersebut berupa ekstrak kental, berasa pahit, berwarna hijau tua kecoklatan, dan berbau khas.





Gambar 4.1 Ekstrak Etanol Herba Rumput Mutiara

#### 4.3 Penetapan Rendemen dan Hasil Skrining Fitokimia

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000). Semakin tinggi nilai rendemen semakin banyak jumlah ekstrak yang dihasilkan. Penetapan rendemen berguna untuk menentukan dosis ekstrak yang akan diberikan pada hewan coba.

Hasil rendemen yang didapat digunakan untuk menghitung dosis ekstrak yang digunakan pada percobaan antiinflamasi (Lampiran 1). Rendemen tersebut dihitung dari perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat simplisia kering. Rendemen ditetapkan dalam satuan persen. Berat ekstrak yang diperoleh adalah 43,84 gram dan berat simplisia kering 250 gram. Rendemen yang diperoleh yaitu sebesar 17,54%.

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak rumput mutiara. Senyawa yang diuji meliputi flavonoid, tannin, glikosida, dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan tabel tersebut, ekstrak etanol 70% rumput mutiara mengandung flavonoid, tannin, dan glikosida. Terpenoid tidak terdapat pada ekstrak etanol 70% rumput mutiara dikarenakan senyawa tersebut termasuk senyawa yang nonpolar sehingga tidak dapat tersari dengan etanol 70%.

**Tabel 4.1** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rumput Mutiara

Senyawa Uji	Hasil Uji	Kesimpulan
Flavonoid	Terbentuk warna merah	+
Tanin	Larutan menjadi keruh agak menggumpal	+
Glikosida	Terdapat cincin merah	+
Terpenoid	Tidak terjadi perubahan warna	-

#### 4.4 Hasil uji antiinflamasi herba rumput mutiara

Pada hari pengujian, tikus ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak dengan jumlah enam kelompok tikus terdiri dari enam ekor untuk masing-masing kelompok. Setiap tikus dalam semua kelompok, pada hari ke-1, diukur volume kaki belakang pada bagian yang akan disuntik CFA kecuali kelompok normal yang hanya disuntik larutan salin. CFA yang akan digunakan haruslah divortex terlebih dahulu karena partikel *mycobacteria* akan turun sehingga diperlukan proses pengocokan dengan vortex agar partikel *mycobacteria* terdispersi homogen. Pada hari ke-2 sampai hari ke-28, tikus pada kelompok kontrol negatif dan kontrol normal diberi suspensi CMC 0,5%, tikus kelompok kontrol positif diberi suspensi natrium diklofenak 1 mg/200g bb, dan tikus kelompok dosis 1, 2, dan 3 diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis seperti pada Lampiran 1. Volume pemberian masing-masing tikus pada setiap kelompok perlakuan sebanyak 2 mL.

Natrium diklofenak dipilih sebagai obat pada kelompok kontrol positif dikarenakan telah banyak digunakan untuk mengobati nyeri dan inflamasi muskuloskeletal. Beberapa studi klinis natrium diklofenak yang diberikan sebagai monoterapi atau kombinasi, menunjukkan obat ini efektif meredakan gejala osteoarthritis (OA) maupun *rheumatoid arthritis* (RA) (reumatologi, 2006). Selain itu, natrium diklofenak lebih aman dan ekonomis dibandingkan obat antiinflamasi non steroid yang selektif terhadap COX-2 atau coxib. Telah banyak publikasi tentang resiko kardiovaskular dari obat antiinflamasi non steroid yang selektif

terhadap COX-2. Salah satunya, publikasi yang dipresentasikan pada *joint meeting of U.S Arthritis Advisory Committee and Drug Safety and Risk Management Advisory Committee* dari FDA, 16-18 Februari 2005, dan pertemuan *Health Canada's Expert Advisory Panel on the Safety of Cox-2 Selective NSAID*, 9-10 Juni 2005 yang mengklarifikasi bahwa hampir semua coxib yang ada memang berisiko terhadap kardiovaskular, namun dengan tingkat berbeda (Arnita, 2006).

Jika dibandingkan dengan obat antiinflamasi non steroid yang nonselektif, natrium diklofenak termasuk yang layak menjadi pilihan. Walaupun, kerja diklofenak yang menghambat siklooksigenase, ternyata juga menurunkan prostaglandin di epitel lambung yang mengakibatkan epitel menjadi lebih sensitif mengalami korosif oleh asam lambung, tetapi diklofenak memiliki kecenderungan menghambat COX-2 dibandingkan dengan COX-1. Itu sebabnya keluhan gastrointestinal akibat penggunaan diklofenak lebih rendah dibandingkan indometasin dan aspirin. Dari 20% pasien yang mengalami efek samping pada penggunaan diklofenak jangka panjang, hanya 2% yang akhirnya menghentikan pengobatan (Arnita, 2006). Pada kelompok kontrol positif, natrium diklofenak dibuat dalam bentuk suspensi untuk menyamakan kondisi dengan kelompok kontrol dan kelompok uji lainnya.

Volume udem telapak kaki tikus diukur menggunakan alat pletismometer pada hari ke-1, 7, 14, 21, dan 28. Pengukuran ini dilakukan untuk mengamati khasiat antiinflamasi dari bahan uji ditinjau dari perbaikan volume udem dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perubahan udem rata-rata telapak kaki tikus dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Volume rata-rata telapak kaki tikus pada hari ke-1 percobaan (sebelum diinduksi) sampai hari ke-28 percobaan

Perlakuan	Volume Rata-rata Telapak Kaki Tikus ( $\mu$ l) $\pm$ Standar Deviasi				
	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
<b>Kontrol Normal</b>	23,83 $\pm$ 0,98	25,33 $\pm$ 2,25	24,00 $\pm$ 1,79	24,17 $\pm$ 1,17	24,00 $\pm$ 0,89
<b>Kontrol Negatif</b>	23,33 $\pm$ 2,34	40,83 $\pm$ 5,27	40,50 $\pm$ 4,37	39,33 $\pm$ 5,99	40,83 $\pm$ 5,34
<b>Kontrol positif</b>	23,83 $\pm$ 2,14	35,5 $\pm$ 3,33	38,00 $\pm$ 6,69	38,5 $\pm$ 9,89	40,50 $\pm$ 6,69
<b>Dosis 1</b>	25,67 $\pm$ 0,82	41,17 $\pm$ 3,25	37,00 $\pm$ 5,02	39,00 $\pm$ 4,43	41,83 $\pm$ 5,34
<b>Dosis 2</b>	23,83 $\pm$ 2,32	36,83 $\pm$ 5,42	37,67 $\pm$ 5,01	36,50 $\pm$ 3,21	37,50 $\pm$ 5,68
<b>Dosis 3</b>	24,83 $\pm$ 3,12	41,33 $\pm$ 6,25	40,00 $\pm$ 6,00	37,33 $\pm$ 4,63	40,17 $\pm$ 6,97

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

Berdasarkan tabel tersebut, pada hari ke-7 terjadi lonjakan volume udem yang cukup signifikan pada kelompok kontrol negatif, begitu pula pada kelompok dosis bahan uji. Pada kelompok kontrol positif mengalami kenaikan tetapi tidak setinggi pada kelompok kontrol negatif dan kelompok bahan uji. Sedangkan pada kelompok kontrol normal dapat dikatakan tidak mengalami perubahan yang berarti. Rata-rata volume udem mengalami penurunan pada hari ke-14 kecuali pada kelompok kontrol positif dan kelompok dosis 2 bahan uji yang masih sedikit meningkat. Pada hari ke-21, masih terjadi penurunan volume udem kaki tikus pada kelompok dosis 2 dan dosis 3. Pada hari ke-28 seluruh kelompok mengalami kenaikan volume udem kecuali pada kelompok kontrol normal. Hal ini

dikarenakan baik bahan uji maupun natrium diklofenak tidak lagi mampu menahan efek samping yang signifikan pada CFA seperti peradangan kronis, ulserasi kulit, abses lokal atau pengelupasan jaringan (*Guidelines for the research use of adjuvant*, 2005). Selain itu, telah diketahui bahwa pada hari ke-12 sampai 14 dapat muncul keadaan inflamasi sekunder (Chondrex, 2012).

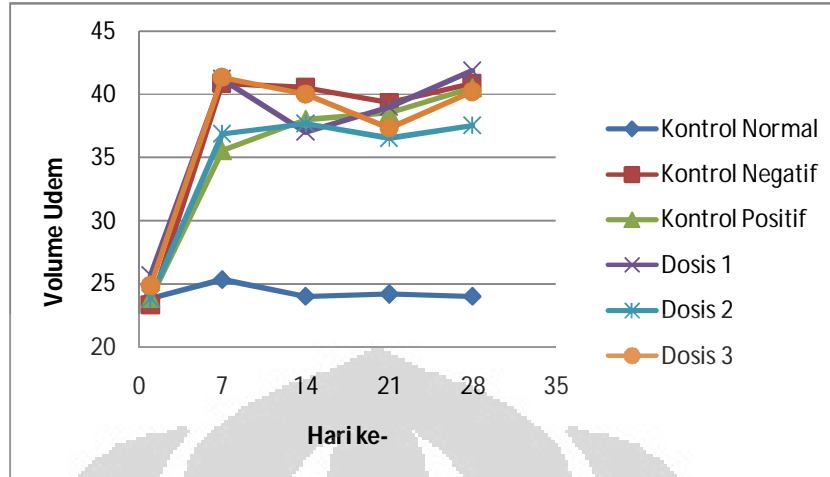
Pada Lampiran 3 sampai Lampiran 7 dapat dilihat bahwa hasil analisis uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk menunjukkan data pengukuran volume udem tidak terdistribusi normal sehingga tidak dapat dilakukan uji ANAVA. Oleh karena itu, dilakukan uji nonparametrik dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk melihat adanya perbedaan bermakna diantara enam kelompok perlakuan. Berdasarkan Kruskal-Wallis, terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

Pada hari ke-7, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif yang mengindikasikan efek antiinflamasi dari kelompok kontrol positif mulai muncul. Efektifitas dari masing-masing dosis bahan uji dan kontrol positif dapat dilihat secara jelas pada hasil persentase penghambatan udem yang ditampilkan pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3 berikut.

**Tabel 4.3** Persentase penghambatan udem rata-rata pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah diinduksi *complete freund's adjuvant* (CFA)

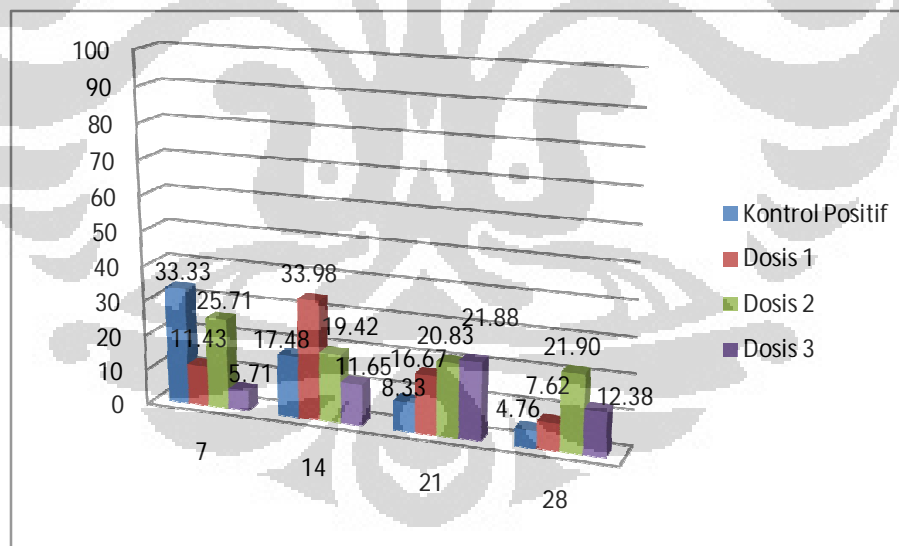
Perlakuan	Persentase Penghambatan Udem Rata-rata (%)			
	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
Kontrol positif	33,33	17,48	8,33	4,76
Dosis 1	11,43	33,98	16,67	7,62
Dosis 2	25,71	19,42	20,83	21,90
Dosis 3	5,71	11,65	21,87	12,38

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.



Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

**Gambar 4.2** Grafik volume rata-rata telapak kaki tikus pada hari ke-1, 7, 21, dan 28 setelah diinduksi 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA)



Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

**Gambar 4.3** Grafik batang persentase penghambatan udem pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 setelah diinduksi 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA)

Pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3 dapat dilihat persentase penghambatan udem tiap kelompok pada hari ke-7, 14, 21, dan 28. Pada hari ke-7, persentase penghambatan natrium diklofenak (kontrol positif) paling tinggi dibandingkan dengan persentase penghambatan udem seluruh dosis uji. Hal ini dikarenakan natrium diklofenak efektif bekerja pada awal dimulainya proses inflamasi. Terdapat bukti yang menyatakan bahwa selain menghambat siklooksigenase, natrium diklofenak juga mengintervensi jalur lipooksigenase sehingga mengurangi pembentukan leukotrien. Leukotrien merupakan *pro-inflammatory autacoid*. Tidak hanya itu, diklofenak juga disinyalir dapat menghambat fosfolipase A<sub>2</sub>. Mekanisme tambahan ini diduga menjadi sumber kekuatan diklofenak (Arnita, 2006).

Berdasarkan Tabel 4.3, tampak jelas bahwa kelompok kontrol positif bekerja pada awal saat proses inflamasi baru timbul. Persentase penghambatan udem kelompok kontrol positif semakin menurun pada hari-hari selanjutnya. Sedangkan kelompok dosis rumput mutiara timbul penurunan udem bervariasi pada hari ke- 7, 14, 21, dan 28. Dari ketiga dosis bahan uji, pada hari ke-7 kelompok dosis 2 rumput mutiara memiliki persentase penghambatan udem tertinggi, sedangkan pada hari ke-14 dan 21 persentase penghambatan udem tertinggi berturut-turut pada kelompok dosis 1 dan kelompok dosis 3. Namun, menurut hasil uji statistik, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok dosis rumput mutiara baik dosis 1, 2, dan 3 dengan kelompok kontrol negatif dan tidak terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok dosis 1, 2, dan 3. Hal ini menunjukkan rumput mutiara belum memperlihatkan efek pada dosis 1, 2, dan 3.

Berikut ini merupakan gambar perbandingan antara telapak kaki tikus normal yang hanya disuntik dengan larutan salin 0,9% dengan kelompok yang disuntik dengan CFA (*complete freund's adjuvant*). Dapat dilihat bahwa telapak kaki tikus yang disuntik dengan CFA tampak bengkak.



**Gambar 4.4** Foto telapak kaki tikus normal yang disuntik larutan saline (1) dan telapak kaki tikus udem yang disuntik CFA (2).

#### 4.5 Penyiapan Sampel Darah

Sampel darah tikus diambil pada hari ke-28 percobaan melalui sinus orbital tikus dengan cara membaringkan tikus yang telah dianestesi di atas meja. Anestesi dilakukan agar tikus tidak bergerak saat proses pengambilan darah sehingga menyulitkan proses tersebut. Kemudian dengan jari telunjuk dan jempol, tarik kulit di atas dan di bawah mata sehingga mata tikus terlihat menonjol. Hal ini untuk mempermudah proses masuknya pipet mikrohematokrit pada pinggiran bola mata. Setelah itu, pipet hematokrit dimasukkan di pinggiran mata kemudian putar pipet tersebut dan pastikan pipet tersebut tidak berpindah dari pinggiran mata. Sebaiknya pipet mikrohematokrit yang digunakan tidak terlalu panjang agar darah tidak membeku di dalam pipet. Dengan pipet mikrohematokrit, ambil darah tikus dengan menekan pipet mikrohematokrit pada sudut mata tikus. Tampung darah tikus pada wadah *vacutainer red-top tube*. Dianjurkan untuk tidak mengambil sampel darah pada mata yang sama setidaknya sampai dua minggu (Hoff, 2000).

Sampel darah yang didapat, dipisahkan bagian serumnya. Bagian serum inilah yang digunakan untuk analisis kadar kalsium darah. Hal ini dikarenakan pada bagian serum terdapat kalsium baik dalam bentuk ionnya maupun terikat pada protein seperti albumin dan dalam bentuk kompleks dengan sitrat maupun

**Universitas Indonesia**



fosfat (Setyohadi, 2007). Selain itu, pada analisis kadar kalsium terdapat zat-zat yang perlu dihindari karena dapat menginterferensi hasil pengukuran tersebut. Zat tersebut diantaranya EDTA, sitrat, heparin, dan fosfat (NIOSH, 1994). EDTA, heparin dan sitrat biasa digunakan sebagai antikoagulan untuk mendapatkan sampel plasma. Oleh karena itu untuk analisis kadar kalsium darah digunakan sampel serum bukan sampel plasma.

Untuk mendapatkan serum dapat dilakukan dengan cara: sejumlah 3 mL darah yang diambil dari sinus orbital tikus diletakkan pada tabung *vacutainer red-top tube* kemudian dilakukan proses *clotting* selama 60 menit pada temperatur ruang. Proses ini penting dan yang perlu diperhatikan adalah menghindarkan tabung agar tidak goyang apalagi terjatuh karena dapat merusak bekuan yang terbentuk dan dapat menimbulkan hemolisis. Setelah bekuan terbentuk, dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Hal yang perlu diperhatikan pada proses ini adalah pastikan bahwa tabung diletakkan pada kondisi yang seimbang. Volume darah yang akan disentrifugasi harus sama dan tabung harus diletakkan saling berhadapan dengan tabung lain. Setelah proses sentrifugasi selesai, dengan menggunakan pipet sekali pakai, ambil bagian serum dengan hati-hati dan jangan sampai merusak lapisan bekuan. Masukkan serum ke dalam *sample cup* (Texas Department of State Health Services, Laboratory Services Section, n.d.).

Kandungan matriks atau ion-ion lain dapat mengganggu proses analisis logam dengan spektroskopi serapan atom. Hal ini mengakibatkan akurasi hasil analisis menjadi rendah. Oleh karena itu sebelum analisis dilakukan destruksi untuk menghilangkan/memisahkan kandungan ion lain, dengan perlakuan awal diharapkan kesalahan pada saat analisis dapat ditekan seminimal mungkin. Metode perlakuan awal yang digunakan adalah metode destruksi yaitu dengan memutuskan ikatan unsur logam dengan komponen lain dalam matriks sehingga unsur tersebut berada dalam keadaan bebas kemudian dianalisis menggunakan AAS karena pengerjaannya cepat, sensitif, spesifik untuk unsur yang ditentukan, dan dapat digunakan untuk penentuan kadar unsur yang konsentrasinya sangat kecil tanpa harus dipisahkan terlebih dahulu (Murtin, Hastuti & Gunawan, n.d.).

Metode untuk preparasi dan destruksi sampel darah merujuk kepada NIOSH 8005 tahun 1994 yang telah dimodifikasi. Proses destruksi dilakukan dengan cara mengambil 1 mL bagian serum lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berskala. Tambahkan asam nitrat pekat 1 mL lalu kocok. Tambahkan 1 mL asam perklorat pekat lalu kocok. Diamkan selama 1 jam kemudian panaskan sampel hingga terlihat bening. Proses penambahan asam pekat harus dilakukan di dalam lemari asam dan dilakukan dengan sangat hati-hati. Bila sampel masih belum bening, tambahkan asam nitrat pekat dan panaskan kembali. Jika sampel telah bening, hentikan proses pemanasan dan tunggu sampel sampai dingin. Encerkan larutan sampel dengan aquabides kemudian saring dengan kertas saring *Whatman*. Proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan zat-zat yang tidak terlarut di dalam sampel. Larutan yang didapat dipindahkan ke dalam labu takar 10,0 mL, lalu ditambahkan aquabidest sampai batas labu, kocok dan homogenkan. Buat pengenceran sepuluh kalinya dengan memasukkan 1 mL sampel tersebut ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan aquabidest sampai tanda batas. Ukur kadar kalsiumnya dengan AAS menggunakan deret standar kalsium 0,5; 1; 3; 5 ppm. Deret standar tersebut telah disiapkan oleh analis di laboratorium afiliasi kimia UI.

Untuk menghindari kontaminasi yang dapat mempengaruhi akurasi dari hasil analisis sampel, maka harus dipastikan alat-alat yang digunakan bebas dari zat-zat kontaminan. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan alat-alat sekali pakai jika memungkinkan, atau mencuci alat-alat tersebut dengan asam nitrat 10% kemudian dibilas dengan aquabidest setiap kali akan digunakan. Asam nitrat digunakan untuk proses destruksi dikarenakan dalam keadaan panas asam ini merupakan oksidator kuat yang dapat melarutkan hampir semua logam dan dapat mencegah pengendapan unsur (Murtin, Hastuti & Gunawan, n.d). Aquabidest digunakan untuk mengencerkan sampel karena kandungan ion logam yang terkandung didalamnya sangat kecil sehingga tidak mempengaruhi akurasi dari hasil analisis. Pada proses destruksi ini digunakan campuran asam pekat karena asam nitrat tidak cukup kuat untuk mendestruksi matriks-matriks pada sampel serum. Sampel yang akan diukur dengan AAS disimpan pada wadah polietilen

karena jika disimpan di dalam wadah kaca dikhawatirkan beberapa ion logam akan terserap pada wadah kaca tersebut.

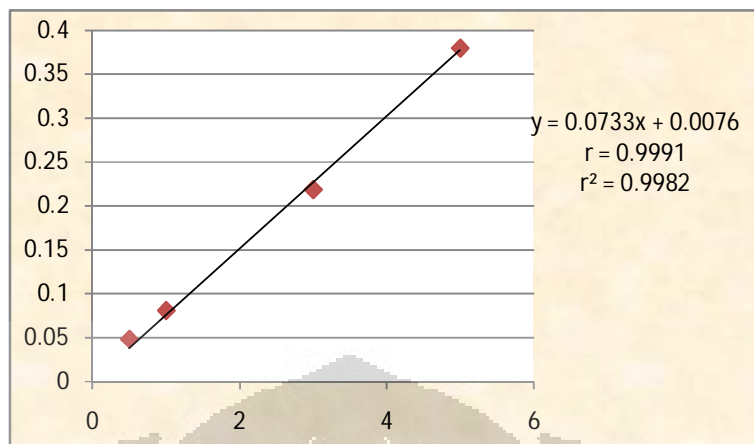
#### 4.6 Hasil Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Tikus

Kadar kalsium serum darah tikus dapat dianalisis menggunakan persamaan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi diperoleh dengan membandingkan konsentrasi standar dengan absorbansi pada alat AAS dengan panjang gelombang 422,7 nm. Pembuatan deret larutan standar dilakukan dengan mengencerkan larutan induk 1000 ppm sampai diperoleh konsentrasi 0,5; 1; 3; dan 5 ppm. Data kurva kalibrasi dapat dilihat pada tabel 4.4. Dari kurva tersebut diperoleh persamaan garis linear yaitu  $0,0733x + 0,0076$ , dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9991.

Sampel hasil destruksi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 422,7 nm. Setelah didapat data absorbansinya, dapat diketahui kadar kalsium masing-masing sampel dengan memasukkan data absorbansi tersebut ke dalam persamaan kurva kalibrasi pada Gambar 4.5. Absorbansi dimasukkan pada nilai  $y$  sehingga diperoleh nilai  $x$  yaitu konsentrasi. Konsentrasi yang diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi disebut konsentrasi alat bukan konsentrasi sebenarnya. Hal ini dikarenakan pada saat preparasi sampel dilakukan proses *dilution* dan pengenceran, sehingga untuk mendapatkan konsentrasi yang sebenarnya maka konsentrasi alat tersebut harus dikali dengan faktor *dilution* dan faktor pengenceran serta dibagi volume sampel yang dipakai untuk analisis. Perhitungan selengkapnya untuk mendapatkan konsentrasi sampel sebenarnya dapat dilihat pada lampiran 2.

**Tabel 4.4** Data Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kalsium

Konsentrasi	Absorbansi
0.5	0.0484
1	0.0808
3	0.2185
5	0.3794



**Gambar 4.5** Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kalsium

Kadar kalsium serum darah tikus masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.5. Pada tabel tersebut salah satu data kontrol positif (natrium diklofenak 1 mg/200g bb tikus) tidak diikuti dalam perhitungan dan analisis statistik. Hal tersebut dikarenakan jika data tersebut dimasukkan, simpangan yang diperoleh akan sangat besar.

**Tabel 4.5** Kadar kalsium serum darah tikus yang diukur dengan spektrofotometri serapan atom pada akhir perlakuan

Ulangan tikus	Kadar Kalsium Serum Darah Tikus mg/dL					
	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
1	39.734	35.6266	46.146	45.6344	34.0155	29.6044
2	50.3995	28.0647	42.4625	44.236	46.0967	57.3533
3	50.8356	17.7353	59.5498	53.3765	39.5123	44.2872
4	58.9359	30.3774	65.8936	51.3984	56.2463	48.9086
5	42.5843	19.5089	55.1501	53.7858	50.8595	43.7244
6	46.8914	38.3583	-	52.0805	47.9049	37.4147
<b>rata2</b>	48.2301	28.2785	53.8404	50.0853	45.7725	43.5488
<b>SD</b>	6.81117	8.34402	9.59495	4.10501	7.97054	9.50727
<b>KV</b>	14.1222	29.5065	17.8211	8.19604	17.4134	21.8313

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

Berdasarkan Tabel 4.5 di atas dapat dilihat bahwa rata-rata kadar kalsium serum darah tikus dosis 1 lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 2 dan 3. Hal ini mungkin dikarenakan efek antiinflamasi rumput mutiara sudah mencapai dosis maksimal pada dosis 1 sehingga kenaikan dosis sudah tidak dapat meningkatkan efek dari rumput mutiara. Pada kelompok kontrol negatif memiliki kadar kalsium serum paling rendah. Hal ini sesuai dengan teori bahwa penyakit autoimun dapat menyebabkan defisiensi vitamin D yang dapat menimbulkan kondisi hipokalsemia. Beberapa penelitian di dalam dan luar negeri mengungkapkan sejumlah teori dan hasil uji terkait dengan hubungan antara penyakit autoimun dengan defisiensi vitamin D. Margherita T. Cantorna (2000) mengungkapkan bentuk aktif dari vitamin D menekan perkembangan autoimunitas pada hewan coba. Penelitian lain yang dilakukan di India memperlihatkan terjadinya penurunan kadar kalsium, kenaikan kadar fosfat serta penurunan rasio kalsium/fosfat pada serum pasien AR dibandingkan dengan kelompok kontrol yang sehat. Penurunan rasio kalsium/fosfat pada pasien AR mengindikasikan perubahan metabolisme kalsium dan fosfor pada AR (Walwadkar, Suryakar, Katkam, & Ankush, 2006). Peran vitamin D pada imunitas tubuh merupakan reaksi *feedback* dari *paracrine* untuk mengurangi inflamasi dengan mempengaruhi diferensiasi sel T CD4 atau dengan meningkatkan fungsi dari sel T penekan (*T suppressor cell*) atau kombinasi antara keduanya (Ginjar, Sumariyono, Setiati & Setiyohadi, 2007). Defisiensi vitamin D menyebabkan terganggunya absorpsi kalsium di dalam usus sehingga terjadi penurunan kadar kalsium darah.

Data kadar kalsium serum darah tikus yang didapat dianalisis dengan uji Shapiro-wilk untuk melihat normalitas data tersebut dan dilakukan uji Levene untuk melihat homogenitas data tersebut. Berdasarkan uji statistik pada lampiran 8, kadar kalsium serum darah tikus terdistribusi normal dan homogen sehingga dapat dilakukan uji ANAVA (*Analysis of Variance*). ANAVA dapat digunakan untuk menentukan apakah rata-rata dua atau lebih kelompok berbeda secara nyata. Berdasarkan hasil uji ANAVA dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Kemudian dilakukan uji beda nyata terkecil untuk

mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari kadar kalsium serum tikus antara enam kelompok perlakuan.

Berdasarkan uji beda nyata terkecil (BNT), terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan seluruh kelompok lainnya dan antara kontrol positif dengan kelompok dosis 3. Hal ini mengindikasikan bahwa baik kelompok kontrol normal maupun kelompok dosis rumput mutiara dapat mengembalikan kadar kalsium serum darah pada kondisi normal. Hal ini diperkuat dengan tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol positif dan kelompok dosis 1, 2, dan 3. Jika dilihat dari perbandingan kadar kalsium serum darah maka kelompok dosis 1 memiliki efek yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 2 dan 3. Adanya peningkatan dosis ekstrak rumput mutiara yang tidak menunjukkan peningkatan kadar kalsium serum darah secara signifikan, menunjukkan bahwa dosis 1 sudah menimbulkan efek optimal dalam peningkatan atau perbaikan kadar kalsium serum darah. Oleh karena itu, peningkatan dosis sudah tidak dapat lagi meningkatkan efek dari rumput mutiara. Namun, mekanisme kerja rumput mutiara dalam meningkatkan kadar kalsium serum masih belum diketahui.

#### **4.7 Hubungan antara Antiinflamasi dengan Peningkatan Kadar Kalsium Serum Darah**

Seperti yang telah dibahas sebelumnya, berdasarkan data volume udem pada Tabel 4.2, data persentase penghambatan udem pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3 dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 70% rumput mutiara belum menunjukkan efek antiinflamasi karena menurut analisis statistik ketiga variasi dosis rumput mutiara tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Tetapi menurut analisis kadar kalsium diperoleh hasil bahwa rumput mutiara dapat menaikkan kadar kalsium serum darah. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis statistik yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol normal dengan kelompok dosis 1, 2, dan 3 serta terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan kelompok dosis rumput mutiara. Seharusnya semakin tinggi persentase penghambatan udem semakin tinggi kadar kalsium serum darahnya. Perbedaan hasil analisis antara persentase

penghambatan udem dengan kadar kalsium darah mungkin dikarenakan rumput mutiara lebih bekerja secara sistemik pada komponen darah dibandingkan bekerja secara lokal pada telapak kaki yang udem. Perbandingan antara kadar kalsium serum darah dengan volume rata-rata telapak kaki tikus dapat dilihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6** Perbandingan kadar kalsium serum darah dan volume telapak kaki rata-rata pada hari ke-28 semua kelompok perlakuan

Kelompok	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis I	Dosis II	Dosis III
kadar ca rata-rata(mg/dL) ± SD	48,2301 ± 6,8112	28,2785 ± 8,3440	53,8404 ± 9,5949	50,0853 ± 4,1050	45,7725 ± 7,9705	43,5488 ± 9,5073
volume udem rata-rata pada hari-28 (µl) ± SD	24,00 ± 0,89	40,83 ± 5,34	40,50 ± 6,69	41,83 ± 5,34	37,50 ± 5,68	40,17 ± 6,97

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

Berdasarkan Tabel 4.6, hubungan antara kadar kalsium serum darah dengan penurunan volume udem telapak kaki tikus belum terlihat. Hal ini dikarenakan terdapat banyak faktor yang mempengaruhi inflamasi misalnya terjadinya infeksi pada lokasi telapak kaki tikus yang udem. Sehingga seharusnya udem telapak kaki tikus tersebut turun namun dikarenakan terjadi infeksi mengakibatkan volume udem telapak kaki tersebut masih tetap tinggi.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Ekstrak etanol 70% rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) belum memperlihatkan efek antiinflamasi ditinjau dari analisis statistik bahwa penurunan volume udem telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi *complete freund's adjuvant* (CFA) tidak berbeda bermakna.
2. Ekstrak etanol 70% herba rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) mempunyai efek meningkatkan kadar kalsium serum darah pada tikus model *rheumatoid arthritis*.

#### 5.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan variasi dosis yang lebih rendah dari dosis 1 (ekstrak rumput mutiara 28,06 mg/200 g bb), yang merupakan dosis optimal pada penelitian ini dalam meningkatkan kadar kalsium serum darah. Sehingga dapat diketahui dosis efektif yang lebih rendah yang berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar kalsium serum darah.
2. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan kontrol positif yang berbeda seperti menggunakan DMARD (*disease modifying antirheumatoid drug*) seperti metotreksat, azathioprin, penisilamin, hidrosiklorokuin/klorokuin, sulfasalazin, dan antagonis *tumor necrosis factor* (TNF).



## DAFTAR ACUAN

- Albar, Z. (1995). Penggunaan Obat Antiinflamasi Nonsteroid Pada Penyakit Rematik. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran No. 104*. Jakarta: PT. Kalbe Farma, 13-16.
- American Society of Health-System Pharmacists and Drugs.com. (2011). "Diclofenac Sodium". <http://www.drugs.com/monograph/diclofenac-sodium.html>, diakses pada tanggal 30 Januari 2012.
- Analysis of Variance* dan *Chi-square*. (2010). 10 Februari 2012. <http://staff.ui.ac.id/internal/0600500045/material/STATISTIKANOVACompatibilityMode.pdf>.
- Arkeman, H., & David. (2006). Efek Vitamin C dan E terhadap Sel Goblet Saluran Nafas pada Tikus Akibat Paparan Pada Asap Rokok. *Universa Medicina* April-Juni 2006, Vol. 25 No. 2, 61-66.
- Arnita. (2006 - April). "Terapi Arthritis: Alih strategi Terapi OAINS". *Majalah Farmacia* Vol.5 No.9, 46.
- Bahtiar, A., Nakamura, T., Kishida, K., Katsura, J., Nitta, M., Ishida-Kitagawa, N., et al. (2011). The l-Ser analog 290 promotes bone recovery in OP and RA mice. *Pharmacological Research*, 64(3), 203-209.
- Bendele, A. (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact.*, Vol.1, No.4, 377-385.
- Besral. (2010). *Pengolahan dan Analisa Data-1 Menggunakan SPSS*. Depok: Departemen Biostatistika Fakultas Kesehatan Masyarakat UI, 23-30, 58-64.
- Cantorna, M. T. (2000). Vitamin D and Autoimmunity: Is Vitamin D Status an Environmental Factor Affecting Autoimmune Disease Prevalence?. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). *Exp Biol Med* March 2000 vol. 223 no. 3, 230-233.
- Carter, M. A. (2012). Arthritis Reumatoid. Dalam S. Price, & L. Wilson, *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit* (ed 6., Vol. 2). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1385-1389.
- CCRC Farmasi UGM. (2008). *Rumput Mutiara (Hedyotis corymbosa (L.) Lamk.)*. [http://www.crc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=124](http://www.crc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=124), diakses pada tanggal 16 Januari 2012

- Chondrex. (2012). *Adjuvant Induced Arthritis-Adjuvant*. 20 Januari 2012. <http://www.chondrex.com/animal-models/adjuvant-induced-arthritis-adjuvants>.
- Dalimartha, S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda, 144-150.
- Daud, R. (2000). Diagnosis dan Penatalaksanaan Reumatoid Arthritis. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran No. 129*. Jakarta: PT. Kalbe Farma, 10-11.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Bakti Husada, hal 10, 31.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 119-123.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia* (ed. 1). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 174-175.
- Endrini, S. (2011). Antioxidant activity and anticarcinogenic properties of “rumpun mutiara” {*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.} and “pohpohan” {*Pilea trinervia* (Roxb.) Wight}. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(16), pp. 3715-3718.
- European Pharmacopoeia 5.0. (2005). *Diclofenac Sodium* dalam ebook *European Pharmacopoeia 5.0* hal 1420-1421.
- Federer W. T. (1991). *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker.
- Fitriyah, N. (2001). *Efek Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (Zingiber Officinale Rosc.) Terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang Tikus Putih Betina Ra (Rheumatoid Arthritis) Yang Diinduksi Oleh Complete Freund's Adjuvant*. Depok: Skripsi Sarjana S1 farmasi UI.
- Ginanjar, E.; Sumariyono; Setiati, S.; Setiyohadi, B. (2007). Vitamin D and Autoimmune Disease. Riview Article: *Acta Med Indones-Indones J Intern Med*. Vol 39 Number 3 July-September 2007, 133-140.
- Global information Hub on Integrated medicine. (2010). *Oldenlandia corymbosa* L. 18 Januari 2012. <http://www.globinmed.com/index.php?option=com>.
- Guidlines for the research use of adjuvant*. (2005). 24 Januari 2012. <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/freunds.pdf>.

- Harmita dan Hayun. (2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku Dan Sediaan Farmasi* Ed. 1. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 220.
- Higdon, J., Victoria J. D., Hector F. DeLuca. (2011). *Vitamin D*. Linus Pauling Institute, Oregon State University. 14 Februari 2012. <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminD/>.
- Hoff, J. (2000). Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal Technique volume 29, no 10*, 47-53.
- Ilavarasan, R., Mallika, K., Venkataraman. (2005). Anti-inflammatory and antioxidant activities of Cassia Fistula Linn Bark extracts. *Africa Journal Traditional CAM, Vol.2*, 70-85.
- Integrated Taxonomic Information System. (2012). *Oldenlandia corymbosa* L. Taxonomic Serial No. 35078. 4 Juni 2012. [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=35078](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=35078).
- IPTEKnet BPPT. (2005). Tanaman Obat Indonesia, Rumput Mutiara. 20 Januari 2012. [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?id=54](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=54).
- James Cook University Australia. (2012). *Oldenlandia corymbosa*. 4 Juni 2012. [http://wwwpublic.jcu.edu.au/discovernature/plantfamily/rubiaceae/JCUDEV\\_011672](http://wwwpublic.jcu.edu.au/discovernature/plantfamily/rubiaceae/JCUDEV_011672).
- Kumar, V., Abbas, A.K., & Fausto, N. (2005). *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease 7<sup>th</sup> Edition Volume 1*. Philadelphia USA: ELSEVIER SAUNDERS, 48-51.
- Kumar, V., Abbas, A.K., & Fausto, N. (2005). *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease 7<sup>th</sup> Edition Volume 2*. Philadelphia USA: ELSEVIER SAUNDERS, 1305-1309.
- Mansjoer, S. (1997). Efek Antiradang Minyak Atsiri Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc., Zingiberaceae) Terhadap Udem Buatan Pada Tikus Putih Betina Galur Wistar. *Majalah Farmasi Indonesia 8 (1)* hal 35-41.
- Merck Indonesia. (2012). Spektroskopi Atom-Prinsip Analitis. 14 Maret 2012. <http://www.merck-chemicals.co.id/prinsipanalitik/>.
- Merck Manual. (2008). Rheumatoid Arthritis. Dalam *Merck Manual*. USA: Merck. 18 Januari 2012. [http://www.merckmanuals.com/professional/musculoskeletalandconnective\\_tissue\\_disorders/jointdisorders/rheumatoid\\_arthritis\\_ra.html](http://www.merckmanuals.com/professional/musculoskeletalandconnective_tissue_disorders/jointdisorders/rheumatoid_arthritis_ra.html).
- Mulyaningsih, S., & Darmawan, E. (2006). Efek Anti Arthritis Pisang Ambon (*Musa paradisiacal sapientum* L.) dan Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)  
**Universitas Indonesia**

terhadap Adjuvant-Induced Arthritic Pada Tikus. *Biodeversitas*, Vol.7, No.3, 273-277.

- Murtin, Hastuti, R., Gunawan. (n.d) *Efek Destruksi Terhadap Penentuan Kadar Cu(II) Dalam Air Sumur, Air Laut Dan Air Limbah Pelapisan Krom Menggunakan AAS*. Lab. Analitik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro Semarang, hal 3-5. 25 Januari 2012. [http://eprints.undip.ac.id/2920/1/Jurnal\\_Riset\\_Murty.pdf](http://eprints.undip.ac.id/2920/1/Jurnal_Riset_Murty.pdf).
- NIOSH Manual of Analytical Methods*. (1994). Method 8005, Issue 2. Dalam *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)* edisi 4, 1-6. 8 Februari 2012. <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/8005.pdf>.
- Priyanto. (2009). *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*. Jakarta: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi (Leskonfi), 125-130.
- Raji, Udoh U.S., Oluwadara O.O, Akinsomisoye O.S, Awobajo O, & Adheshoga K. (2002). Anti-inflammatory and Analgesic Properties of the Rhizome Extract of *Zingiber officinale*. *African Journal of Biomedical Research*, 5, 121-124.
- Reumatologi. (2006 - Juni). *Reumatologi*, "OAINS Konvensional Masih Jadi Pilihan". *Majalah Farmacia* Vol.5 No.11, 62.
- Rheumatoid Arthritis Health Center. (2009). *Blood Test to Diagnose Arthritis*. 10 Februari 2012. <http://www.webmd.com/rheumatoid-arthritis/guide/blood-tests>.
- Schett, G., & Redlich, K. (2009). Osteoclast & Osteoblast. Dalam Hochberg, M. C.; Silman, A. J., Smolen, J. S., Weinblatt, M. E., Weisman, M. H. *Rheumatoid Arthritis*. Philadelphia: MOSBY Elsevier, 163-167.
- Setiyohadi, B. (2007). Struktur dan metabolisme tulang. Dalam Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., S. K., Marcellus; Setiati, S. (2007). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1098-1101.
- 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-November 2011, Vol: 2, Issue: 6*, 306-309.
- Suralkar, A. A. (2008). In – vivo Animal Models for Evaluation of Antiinflammatory Activity. Vol 6, *Article Review*, Issue 2. 25 Januari 2012. <http://www.pharmainfo.net/reviews/vivo-animal-models-evaluation-anti-inflammatory-activity>.

- Texas Department of State Health Services, Laboratory Services Section. (n.d). *Serum Separation Protocol for Field Personnel*. 17 Maret 2012. <https://www.dshs.state.tx.us/lab/CLIAtrainingSlides.pdf>.
- Torowati, Asminar & Rahmiati. (2008). *Analisis Unsur Pb, Ni Dan Cu Dalam Larutan Uranium Hasil Stripping Efluen Uranium Bidang Bahan Bakar Nuklir*. Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir – BATAN ISSN 1979-2409, 2-3.
- Walwadkar, S.D., Suryakar, A.N., Katkam, R.V., Kumar, K.M. & Ankush, R.D. (2006). Oxidative Stress and Calcium-Phosphorus Levels in Rheumatoid Arthritis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2006 / 21 (2) 134-137.
- Wardah, Sopandi, T., & Setiawan, I. (2007). Efek Pemberian Iridoid Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*, Lamk.) terhadap Total Bilirubin, Alkalin Phosphatase, dan Glutation Kelinci yang Terpapar Acetaminophen. *SAINTEK*, Vol. 11, No. 1, Juli 2007, 23-33.
- Wilmana, P.F., & G.G, Sulistia. (2009). *Analgesik-antipiretik, analgesik – antiinflamasi non steroid dan obat pirai*. Dalam: Sulistia G.G. 2009. *Farmakologi dan terapi*, ed. 7. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 230-246.
- Wilson, L. M. (2012). Respon tubuh terhadap cedera. Dalam S. Price & L. Wilson, *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit* (ed 6., Vol. I). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 56-67.
- Zold, E., et al. (2008). Vitamin D Deficiency in Undifferentiated Connective Tissue Disease. *Research Article: Arthritis Research and Therapy* 2008, 2-5. 14 Februari 2012. <http://arthritis-research.com/content/10/5/R123>.

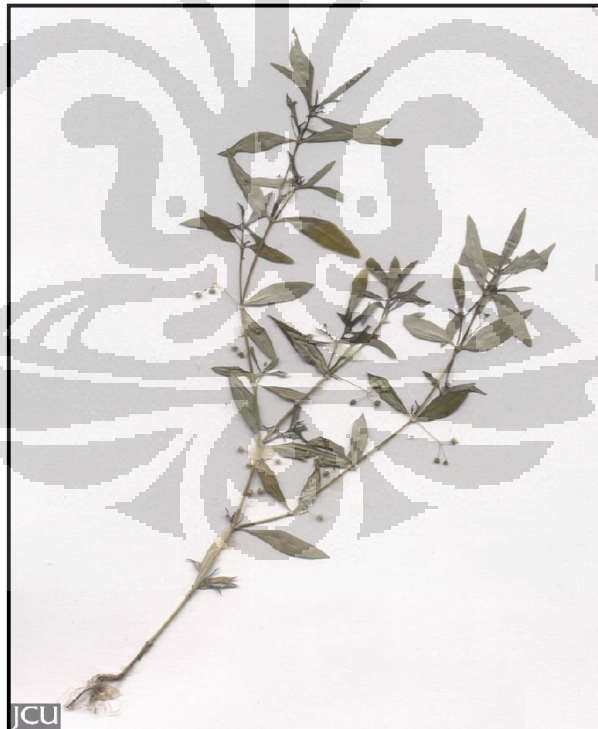
# GAMBAR





[Sumber: James Cook University Australia, 2012]

Gambar 3.1 Tanaman Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.)



[Sumber: James Cook University Australia, 2012]

Gambar 3.2 Simplisia Herba Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.)



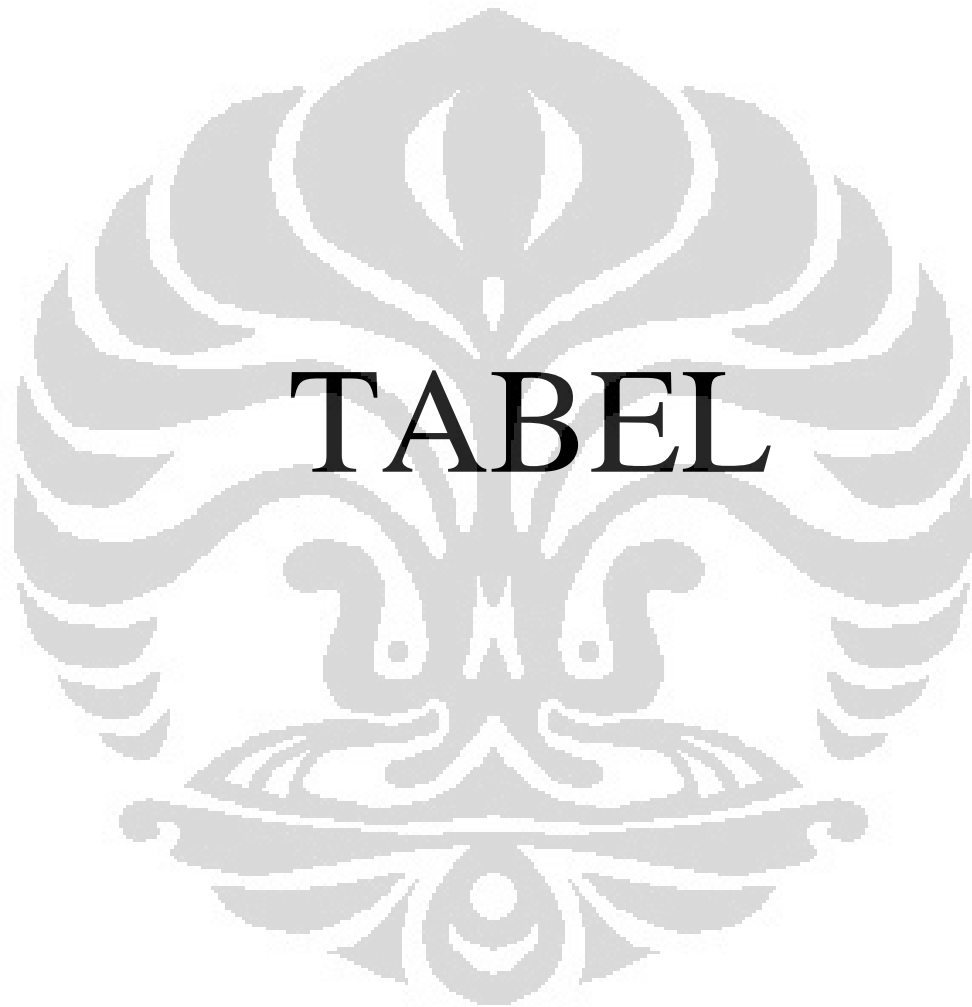
Gambar 3.3 Alat Pletismometer dan Pengukuran Volume Telapak Kaki Tikus



[sumber: Fitriyah, 2011]

Gambar 3.4 Spektrofotometer Serapan Atom (Shimadzu AA 6300)





**Tabel 4.7** Volume telapak kaki tikus pada hari ke-1 sampai 28 setelah diinduksi 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA)

Perlakuan	N (Ulangan Tikus)	Volume Telapak Kaki ( $\mu$ l)				
		Hari-1	Hari-7	Hari-14	Hari-21	Hari-28
Kontrol Normal	1	24	28	24	25	24
	2	25	27	25	24	25
	3	25	27	27	26	25
	4	23	24	23	24	24
	5	23	23	23	23	23
	6	23	23	22	23	23
	<b>Rata-rata</b>	23.8333	25.3333	24.0000	24.1667	24.0000
	<b>Standar Deviasi</b>	0.9832	2.2509	1.7889	1.1690	0.8944
	<b>Koefisien Variasi</b>	4.1253	8.8852	7.4536	4.8374	3.7268
Kontrol Negatif	1	23	43	46	48	51
	2	25	50	46	43	41
	3	27	41	38	42	40
	4	21	38	38	35	37
	5	23	38	39	36	36
	6	21	35	36	32	40
	<b>Rata-rata</b>	23.3333	40.8333	40.5000	39.3333	40.8333
	<b>Standar Deviasi</b>	2.3381	5.2694	4.3704	5.9889	5.3448
	<b>Koefisien Variasi</b>	10.0204	12.9047	10.7910	15.2260	13.0893
Kontrol Positif	1	27	35	35	43	47
	2	25	37	43	52	43
	3	21	35	36	28	34
	4	24	41	49	46	49
	5	24	34	34	33	35
	6	22	31	31	29	35
	<b>Rata-rata</b>	23.8333	35.5000	38.0000	38.5000	40.5000
	<b>Standar Deviasi</b>	2.1370	3.3317	6.6933	9.8944	6.6858
	<b>Koefisien Variasi</b>	8.9663	9.3850	17.6139	25.6999	16.5082
Dosis 1	1	26	43	42	43	48
	2	26	43	42	43	48
	3	26	43	38	41	43
	4	26	37	38	40	39
	5	24	37	30	33	36
	6	26	44	32	34	37
	<b>Rata-rata</b>	25.6667	41.1667	37.0000	39.0000	41.8333

(lanjutan)

	<b>Standar Deviasi</b>	0.8165	3.2506	5.0200	4.4272	5.3448
	<b>Koefisien Variasi</b>	3.1812	7.8963	13.5675	11.3518	12.7764
Dosis 2	1	25	35	28	34	49
	2	20	27	37	36	36
	3	26	38	39	34	36
	4	22	38	40	34	35
	5	25	41	40	41	34
	6	25	42	42	40	35
	<b>Rata-rata</b>	23.8333	36.8333	37.6667	36.5000	37.5000
	<b>Standar Deviasi</b>	2.3166	5.4191	5.0067	3.2094	5.6833
	<b>Koefisien Variasi</b>	9.7200	14.7125	13.2920	8.7928	15.1555
Dosis 3	1	25	42	45	37	40
	2	25	38	38	37	37
	3	29	47	47	44	50
	4	23	48	39	36	43
	5	20	31	30	30	29
	6	27	42	41	40	42
	<b>Rata-rata</b>	24.8333	41.3333	40.0000	37.3333	40.1667
	<b>Standar Deviasi</b>	3.1252	6.2503	6.0000	4.6332	6.9690
	<b>Koefisien Variasi</b>	12.5846	15.1218	15.0000	12.4104	17.3502

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan saline dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

**Tabel 4.8** Volume sampel serum yang digunakan untuk analisis kadar kalsium (mL)

N (Ullangan Tikus)	Kelompok					
	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
1	0,8	0,7	0,8	0,8	0,9	1,0
2	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	0,5
3	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8
4	0,5	0,6	0,8	0,8	0,7	0,8
5	0,7	0,8	0,8	0,8	0,5	0,8
6	0,7	0,6	-	0,8	0,7	0,8

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

**Tabel 4.9** Absorbansi hasil pengukuran kadar kalsium serum darah dengan spektrofotometri serapan atom pada panjang gelombang 422,7 nm (A)

N (Ullangan Tikus)	Kelompok					
	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
1	0,2434	0,1932	0,2810	0,2780	0,2348	0,2274
2	0,2690	0,1544	0,2594	0,2698	0,3145	0,2206
3	0,3085	0,1274	0,3596	0,3234	0,2421	0,2701
4	0,2264	0,1440	0,3968	0,3118	0,2990	0,2972
5	0,2289	0,1248	0,3338	0,3258	0,1968	0,2668
6	0,2510	0,1791	-	0,3158	0,2562	0,2298

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28; untuk larutan blanko sampel dihasilkan absorbansi sebesar 0,0028.

**Tabel 4.10** Hasil uji Mann-Whitney volume udem telapak kaki tikus

Kelompok		Hari-7	Hari-14	Hari-21	Hari-28
Kontrol Normal	(-)	√	√	√	√
	(+)	√	√	√	√
	D I	√	√	√	√
	D II	√	√	√	√
	D III	√	√	√	√
Kontrol Negatif	(+)	√	-	-	-
	D I	-	-	-	-
	D II	-	-	-	-
	D III	-	-	-	-
Kontrol Positif	D I	√	-	-	-
	D II	-	-	-	-
	D III	-	-	-	-
Antar Kelompok Dosis	D I >> D II	-	-	-	-
	D I >> D III	-	-	-	-
	D II >> D III	-	-	-	-

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.

**Tabel 4.11** Hasil uji beda nyata terkecil kadar kalsium serum darah tikus

Kelompok		Hari-28
Kontrol Normal	(-)	√
	(+)	-
	D I	-
	D II	-
	D III	-
Kontrol Negatif	(+)	√
	D I	√
	D II	√
	D III	√
Kontrol Positif	D I	-
	D II	-
	D III	√
Antar Kelompok Dosis	D I >> D II	-
	D I >> D III	-
	D II >> D III	-

Keterangan: kelompok kontrol normal disuntik dengan larutan salin dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol negatif disuntik dengan CFA dan diberi suspensi CMC 0,5%; kelompok kontrol positif disuntik dengan CFA dan diberi natrium diklofenak 1 mg/200 g bb tikus; kelompok dosis 1, 2, 3 disuntik dengan CFA dan diberi suspensi ekstrak rumput mutiara dengan dosis berturut-turut 28,06 mg/200g bb tikus, 63,13 mg/200g bb tikus, dan 142,04 mg/200g bb tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-28.



# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Penentuan dosis dan pembuatan bahan uji

### 1.1 Penentuan dosis dan pembuatan suspensi ekstrak etanol herba rumput mutiara

Dosis ekstrak rumput mutiara yang dipakai pada penelitian ini sebagai antiinflamasi berdasarkan dosis yang biasa diberikan kepada pasien. Menurut kemasan sediaan kapsul rumput mutiara, dosis untuk peradangan yaitu sehari 2x2 kapsul. Satu kapsul tersebut berisi 500 mg serbuk rumput mutiara. Salah satu dokter sekaligus praktisi herbal sering menggunakan dosis rumput mutiara sebesar 3x3 kapsul @ 500 mg sebagai antiinflamasi. Kedua dosis tersebut menjadi acuan dalam penelitian ini, dimana dosis yang tertera pada kemasan sediaan kapsul rumput mutiara dijadikan dosis kedua sedangkan dosis rumput mutiara yang biasa diberikan dokter dijadikan dosis ketiga. Dosis pertama diperoleh dengan membagi dosis kedua dengan angka 2,25 sebagai angka kelipatan dosis.

$$\begin{aligned} \text{Dosis I} &= \text{Dosis II} / 2,25 \\ &= 360 \text{ mg} / 2,25 = 160 \text{ mg} \\ \text{Dosis II} &= 2 \times 2 \text{ kapsul @ } 500 \text{ mg} \\ &= 2000 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 360 \text{ mg} \\ \text{Dosis III} &= 3 \times 3 \text{ kapsul @ } 500 \text{ mg} \\ &= 4500 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 810 \text{ mg} \end{aligned}$$

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh 17,5355%, maka berat ekstrak yang ditimbang:

$$\text{Dosis I} = 17,5355\% \times 160 \text{ mg} = 28,06 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak rumput mutiara adalah 2 mL/200g bb

Jika volume dosis I rumput mutiara yang akan dibuat adalah 20 mL, maka berat ekstrak rumput mutiara yang ditimbang:

$$(20 \text{ mL} / 2 \text{ mL}) \times 28,06 \text{ mg} = 280,6 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis II} = 17,5355\% \times 360 \text{ mg} = 63,13 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak rumput mutiara adalah 2 mL/200g bb



(lanjutan)

Jika volume dosis I rumput mutiara yang akan dibuat adalah 20 mL, maka berat ekstrak rumput mutiara yang ditimbang:

$$(20 \text{ mL}/2 \text{ mL}) \times 63,13 \text{ mg} = 631,3 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis III} = 17,5355\% \times 810 \text{ mg} = 142,04 \text{ mg}$$

Volume pemberian untuk ekstrak rumput mutiara adalah 2 mL/200g bb

Jika volume dosis I rumput mutiara yang akan dibuat adalah 20 mL, maka berat ekstrak rumput mutiara yang ditimbang:

$$(20 \text{ mL}/2 \text{ mL}) \times 142,04 \text{ mg} = 1420,4 \text{ mg}$$

Sesuai perhitungan di atas, untuk membuat suspensi ekstrak rumput mutiara dosis I dengan volume yang akan dibuat sebanyak 20 mL diperlukan ekstrak kental sebanyak 280,6 mg. Suspensikan 280,4 mg ekstrak rumput mutiara dengan larutan CMC 0,5% hingga 20 ml. Untuk dosis II dan dosis III rumput mutiara, cara membuatnya sama seperti pada dosis I.

#### 1.2 Penentuan dosis dan pembuatan suspensi natrium diklofenak

Ilavarasan, dkk (2005) menggunakan dosis natrium diklofenak sebesar 5 mg/Kg atau 1 mg/200g dalam penelitiannya (Fitriah, 2011). Oleh karena itu, dosis tersebut akan digunakan pada penelitian ini. Dalam 2 mL suspensi mengandung 1 mg natrium diklofenak. Untuk membuat 50 mL suspensi tersebut diperlukan natrium diklofenak sebanyak  $50 \text{ mL}/2 \text{ mL} \times 1 \text{ mg} = 25 \text{ mg}$ . Ditimbang sebanyak 25 mg serbuk natrium diklofenak kemudian digerus dan disuspensikan dengan CMC 0,5% sampai 50 mL.

**Lampiran 2.** Penentuan % penghambatan volume udem rata-rata dan kadar kalsium serum darah tikus

2.1 Cara memperoleh % penghambatan volume udem rata-rata

Rumus % penghambatan udem rata-rata :

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

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

Contoh perhitungan % penghambatan udem rata-rata pada kelompok dosis I hari ke-7 :

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

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

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

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

2.2 Cara memperoleh kadar kalsium serum darah

Persamaan kurva kalibrasi,  $y = 0,0733x + 0,0076$

Contoh perhitungan kadar kalsium pada kelompok dosis III tikus ke-1 :

$y = 0,2274$ , nilai  $y$  setelah dikurangi absorbansi blanko sebesar 0,0028 adalah 0,2246.

(lanjutan)

$$0,2246 = 0,0733x + 0,0076$$

$$x = 2,9604 \text{ ppm}$$

$$Kadar = \frac{X(\text{ppm}).FD(\text{ml}).FP(1000)}{W(\text{mg})}$$

x : kadar dalam ppm (2,9604 ppm)

fd : faktor dilution (10,0 mL)

fp : faktor pengenceran (10)

v : volume sampel (1 mL)

maka,

$$Kadar = \frac{2,9604(\text{ppm}).10,0(\text{mL}).10}{1(\text{mL})}$$

$$= 296,04 \text{ ppm.mL/mL}$$

$$= 296,04 \mu\text{g/mL. mL/mL}$$

$$= 296,04 \mu\text{g/mL}$$

$$= 0,29604 \text{ mg/mL}$$

$$= 29,604 \text{ mg/dL}$$

**Lampiran 3.** Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-1

3.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-1

a. Tujuan: untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA

b. Hipotesis :

$H_0$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi normal

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Hari_1 Kontrol Negatif	.908	6	.421
Kontrol Normal	.775	6	.035
Kontrol Positif	.967	6	.875
Dosis 1	.496	6	.000
Dosis 2	.823	6	.094
Dosis 3	.978	6	.939

e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi normal.

3.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-1

a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA

b. Hipotesis :

$H_0$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen

(lanjutan)

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari_1	Based on Mean	1.727	5	30	.159
	Based on Median	1.120	5	30	.371
	Based on Median and with adjusted df	1.120	5	20.399	.381
	Based on trimmed mean	1.683	5	30	.169

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti data volume telapak kaki tikus terdistribusi homogen.

### 3.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap volume udem telapak kaki tikus pada hari ke-1

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

(lanjutan)

d. Hasil :

	Hari_1
Chi-Square	6.549
Df	5
Asymp. Sig.	.256

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

3.4 Uji Mann-Whitney terhadap volume udem telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-1

a. Tujuan: untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis:

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

(lanjutan)

d.Hasil :

Kelompok		Asymp. Sig (2-tailed)
Kontrol normal	Kontrol negatif	,503
	Kontrol positif	1,000
	Dosis 1	,009
	Dosis 2	,616
	Dosis 3	,361
Kontrol negatif	Kontrol positif	,626
	Dosis 1	,067
	Dosis 2	,683
	Dosis 3	,370
Dosis 1	Kontrol positif	,094
	Dosis 2	,048
	Dosis 3	,506
Dosis 2	Kontrol positif	,744
	Dosis 3	,560
Dosis 3	Kontrol positif	,466

- e. Kesimpulan :  $H_0$  ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelompok dosis 1; antara dosis 1 dengan dosis 2. Hal ini berarti, pada pengukuran volume udem telapak kaki tikus terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan kelompok kontrol normal dengan kelompok dosis 1; antara dosis 1 dengan dosis 2. Namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis 2, dan dosis 3; antara kelompok kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya; antara kelompok dosis 1 dengan kelompok kontrol positif dan dosis 3; antara kelompok dosis 2 dengan kelompok kontrol positif dan dosis 3; dan antara kelompok dosis 3 dengan kelompok kontrol positif.

**Lampiran 4.** Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-7

4.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-7

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

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Hari_7			
Kontrol Negatif	.922	6	.519
Kontrol Normal	.836	6	.121
Kontrol Positif	.953	6	.763
Dosis 1	.724	6	.011
Dosis 2	.874	6	.243
Dosis 3	.927	6	.558

- e. Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi normal.

4.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-7

- a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
  - Ho = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen
  - Ha = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen
- c. Kriteria Uji :



(lanjutan)

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari_7	Based on Mean	.877	5	30	.508
	Based on Median	.607	5	30	.695
	Based on Median and with adjusted df	.607	5	22.410	.696
	Based on trimmed mean	.799	5	30	.559

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti data volume telapak kaki tikus terdistribusi homogen.

#### 4.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap volume udem telapak kaki tikus pada hari ke-7

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Hari_7	
Chi-Square	20.031
Df	5
Asymp. Sig.	.001

e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

(lanjutan)

4.4 Uji Mann-Whitney terhadap volume udem telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-7

a. Tujuan: untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis:

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

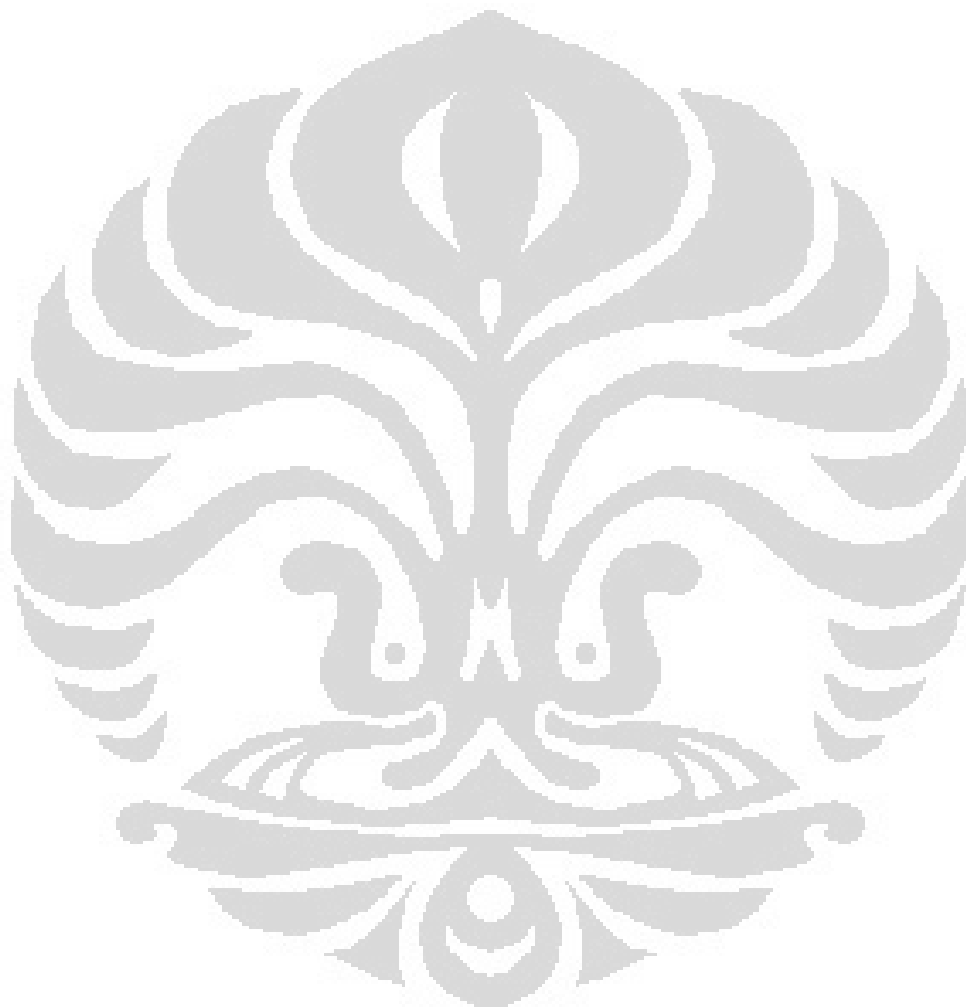
d. Hasil :

Kelompok		Asymp. Sig (2-tailed)
Kontrol normal	Kontrol negatif	,004
	Kontrol positif	,004
	Dosis 1	,004
	Dosis 2	,010
	Dosis 3	,004
Kontrol negatif	Kontrol positif	,043
	Dosis 1	,683
	Dosis 2	,326
	Dosis 3	,747
Dosis 1	Kontrol positif	,015
	Dosis 2	,106
	Dosis 3	1,000
Dosis 2	Kontrol positif	,293
	Dosis 3	,144
Dosis 3	Kontrol positif	,064

e. Kesimpulan : Ho ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya; antara kontrol negatif dengan kontrol positif; antara dosis 1 dengan kontrol positif. Hal ini berarti, pada pengukuran volume udem telapak kaki tikus terdapat perbedaan bermakna antara

(lanjutan)

kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya; antara kontrol negatif dengan kontrol positif; antara dosis 1 dengan kontrol positif. Namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan antara kontrol negatif dengan kelompok dosis 1, 2, dan 3; dan antara ketiga kelompok dosis perlakuan.



**Lampiran 5.** Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-14

5.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-14

a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA

b. Hipotesis :

$H_0$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi normal

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Kelompok	Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	
Hari_14	Kontrol Negatif	.804	6	.064
	Kontrol Normal	.933	6	.607
	Kontrol Positif	.899	6	.366
	Dosis 1	.879	6	.264
	Dosis 2	.787	6	.045
	Dosis 3	.949	6	.735

e. Kesimpulan :  $H_0$  ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi normal.

5.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-14

a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA

b. Hipotesis :

$H_0$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

(lanjutan)

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari_14	Based on Mean	1.412	5	30	.248
	Based on Median	.621	5	30	.685
	Based on Median and with adjusted df	.621	5	22.882	.685
	Based on trimmed mean	1.306	5	30	.288

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti data volume telapak kaki tikus terdistribusi homogen.

### 5.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap volume udem telapak kaki tikus pada hari ke-14

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

	Hari_14
Chi-Square	15.818
df	5
Asymp. Sig.	.007

(lanjutan)

- e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

5.4 Uji Mann-Whitney terhadap volume udem telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-14

- a. Tujuan: untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis:

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Kelompok		Asymp. Sig (2-tailed)
Kontrol normal	Kontrol negatif	,004
	Kontrol positif	,004
	Dosis 1	,004
	Dosis 2	,004
	Dosis 3	,004
Kontrol negative	Kontrol positif	,227
	Dosis 1	,326
	Dosis 2	,809
Dosis 1	Dosis 3	,808
	Kontrol positif	,872
	Dosis 2	,871
Dosis 2	Dosis 3	,373
	Kontrol positif	,748
Dosis 3	Dosis 3	,470
	Kontrol positif	,522

(lanjutan)

- e. Kesimpulan :  $H_0$  ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Hal ini berarti, pada pengukuran volume udem telapak kaki tikus terdapat perbedaan bermakna antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan antara kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; antara kontrol positif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; dan antara ketiga dosis perlakuan.



**Lampiran 6.** Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-21

6.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-21

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

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Hari_21			
Kontrol Negatif	.951	6	.752
Kontrol Normal	.908	6	.421
Kontrol Positif	.908	6	.425
Dosis 1	.835	6	.118
Dosis 2	.786	6	.044
Dosis 3	.955	6	.781

- e. Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi normal.

6.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-21

- a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
  - Ho = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen



(lanjutan)

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari_21	Based on Mean	7.428	5	30	.000
	Based on Median	5.792	5	30	.001
	Based on Median and with adjusted df	5.792	5	23.718	.001
	Based on trimmed mean	7.340	5	30	.000

e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi homogen.

### 6.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap volume udem telapak kaki tikus pada hari ke-21

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

(lanjutan)

d. Hasil :

	Hari_21
Chi-Square	15.326
Df	5
Asymp. Sig.	.009

e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

6.4 Uji Mann-Whitney terhadap volume udem telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-21

a. Tujuan: untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis:

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Kelompok	Asymp. Sig (2-tailed)	
Kontrol normal	Kontrol negatif	,004
	Kontrol positif	,004
	Dosis 1	,004
	Dosis 2	,004
	Dosis 3	,004
Kontrol negatif	Kontrol positif	,810
	Dosis 1	,872
	Dosis 2	,294
	Dosis 3	,810
Dosis 1	Kontrol positif	,936
	Dosis 2	,367

(lanjutan)

	Dosis 3	,573
Dosis 2	Kontrol positif	1,000
	Dosis 3	,517
Dosis 3	Kontrol positif	1,000

- e. Kesimpulan :  $H_0$  ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Hal ini berarti, pada pengukuran volume udem telapak kaki tikus terdapat perbedaan bermakna antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan antara kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; antara kontrol positif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; dan antara ketiga dosis perlakuan.

**Lampiran 7.** Uji statistik volume telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-28

7.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-28

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

Kelompok	Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	
Hari_28	Kontrol Negatif	.812	6	.075
	Kontrol Normal	.853	6	.167
	Kontrol Positif	.842	6	.136
	Dosis 1	.871	6	.232
	Dosis 2	.621	6	.001
	Dosis 3	.972	6	.905

- e. Kesimpulan : Ho ditolak, berarti data volume telapak kaki tikus tidak terdistribusi normal.

7.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji pada hari ke-28

- a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
  - Ho = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen

(lanjutan)

$H_a$  = data volume telapak kaki tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hari_28	Based on Mean	1.942	5	30	.117
	Based on Median	1.538	5	30	.208
	Based on Median and with adjusted df	1.538	5	19.298	.225
	Based on trimmed mean	1.841	5	30	.135

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti data volume telapak kaki tikus terdistribusi homogen.

### 7.3 Uji Kruskal-Wallis terhadap volume udem telapak kaki tikus pada hari ke-28

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

(lanjutan)

d. Hasil :

	Hari_28
Chi-Square	17.184
df	5
Asymp. Sig.	.004

e. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus tiap kelompok perlakuan.

7.4 Uji Mann-Whitney terhadap volume udem telapak kaki tikus seluruh kelompok uji pada hari ke-28

a. Tujuan: untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis:

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap volume udem telapak kaki tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil :

Kelompok	Asymp. Sig (2-tailed)	
Kontrol normal	Kontrol negatif	,004
	Kontrol positif	,004
	Dosis 1	,004
	Dosis 2	,004
	Dosis 3	,004
Kontrol negatif	Kontrol positif	,630
	Dosis 1	,872
	Dosis 2	,052
	Dosis 3	,809
Dosis 1	Kontrol positif	,469
	Dosis 2	,075
	Dosis 3	,872

(lanjutan)

Dosis 2	Kontrol positif	,743
	Dosis 3	,199
Dosis 3	Kontrol positif	,936

- e. Kesimpulan :  $H_0$  ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Hal ini berarti, pada pengukuran volume udem telapak kaki tikus terdapat perbedaan bermakna antara kontrol normal dengan kelima kelompok lainnya. Namun tidak terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan antara kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; antara kontrol positif dengan kelima kelompok lainnya kecuali kontrol normal; dan antara ketiga dosis perlakuan.

**Lampiran 8.** Uji statistik kadar kalsium serum darah tikus seluruh kelompok uji pada akhir perlakuan

8.1 Uji normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap kadar kalsium serum darah tikus seluruh kelompok uji pada akhir perlakuan

- a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
  - Ho = data kadar kalsium serum darah tikus berasal dari populasi yang terdistribusi normal
  - Ha = data kadar kalsium serum darah tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
- c. Kriteria Uji :
  - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
  - Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- d. Hasil :

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kadar_kalsium Kontrol Normal	.966	6	.867
Kontrol Negatif	.930	6	.577
Kontrol Positif	.961	5	.812
Dosis 1	.832	6	.112
Dosis 2	.979	6	.949
Dosis 3	.987	6	.980

- e. Kesimpulan : Ho diterima, berarti data kadar kalsium serum darah tikus terdistribusi normal.

8.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar kalsium serum darah tikus seluruh kelompok uji pada akhir perlakuan

- a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
  - Ho = data kadar kalsium serum darah tikus berasal dari populasi yang terdistribusi homogen



(lanjutan)

$H_a$  = data kadar kalsium serum darah tikus berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

d. Hasil:

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.651	5	29	.663

e. Kesimpulan:  $H_0$  diterima, berarti data kadar kalsium serum darah tikus terdistribusi homogen.

### 8.3 Uji analisis varians satu arah terhadap seluruh kelompok uji

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari kadar kalsium serum darah tikus tiap perlakuan

b. Hipotesis :

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar kalsium serum darah tikus tiap kelompok perlakuan

$H_a$  = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar kalsium serum darah tikus tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

e. Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2299.352	5	459.870	7.400	.000
Within Groups	1802.170	29	62.144		
Total	4101.522	34			

f. Kesimpulan:  $H_0$  ditolak, berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan.

(lanjutan)

#### 8.4 Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terhadap seluruh kelompok uji

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari kadar kalsium serum tikus antara enam kelompok perlakuan

b. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar kalsium serum darah tikus antara enam kelompok perlakuan

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap kadar kalsium serum darah tikus antara enam kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

d. Hasil :

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	19.9515833 <sup>*</sup>	.000	10.643070	29.260096
	Kontrol Positif	-5.6102833	.249	-15.373134	4.152567
	Dosis 1	-1.8551500	.687	-11.163663	7.453363
	Dosis 2	2.4575833	.593	-6.850930	11.766096
	Dosis 3	4.6813500	.312	-4.627163	13.989863
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	-19.9515833 <sup>*</sup>	.000	-29.260096	-10.643070
	Kontrol Positif	-25.5618667 <sup>*</sup>	.000	-35.324717	-15.799016
	Dosis 1	-21.8067333 <sup>*</sup>	.000	-31.115246	-12.498220
	Dosis 2	-17.4940000 <sup>*</sup>	.001	-26.802513	-8.185487
	Dosis 3	-15.2702333 <sup>*</sup>	.002	-24.578746	-5.961720
Kontrol Positif	Kontrol Normal	5.6102833	.249	-4.152567	15.373134
	Kontrol Negatif	25.5618667 <sup>*</sup>	.000	15.799016	35.324717
	Dosis 1	3.7551333	.438	-6.007717	13.517984
	Dosis 2	8.0678667	.102	-1.694984	17.830717
	Dosis 3	10.2916333 <sup>*</sup>	.040	.528783	20.054484
Dosis 1	Kontrol Normal	1.8551500	.687	-7.453363	11.163663
	Kontrol Negatif	21.8067333 <sup>*</sup>	.000	12.498220	31.115246
	Kontrol Positif	-3.7551333	.438	-13.517984	6.007717
	Dosis 2	4.3127333	.351	-4.995780	13.621246
	Dosis 3	6.5365000	.162	-2.772013	15.845013

(lanjutan)

Dosis 2	Kontrol Normal	-2.4575833	.593	-11.766096	6.850930
	Kontrol Negatif	17.4940000*	.001	8.185487	26.802513
	Kontrol Positif	-8.0678667	.102	-17.830717	1.694984
	Dosis 1	-4.3127333	.351	-13.621246	4.995780
	Dosis 3	2.2237667	.629	-7.084746	11.532280
Dosis 3	Kontrol Normal	-4.6813500	.312	-13.989863	4.627163
	Kontrol Negatif	15.2702333*	.002	5.961720	24.578746
	Kontrol Positif	-10.2916333*	.040	-20.054484	-.528783
	Dosis 1	-6.5365000	.162	-15.845013	2.772013
	Dosis 2	-2.2237667	.629	-11.532280	7.084746

Kesimpulan:  $H_0$  ditolak pada perbandingan antara kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif; antara kelompok kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya; antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, dan dosis 3; antara kelompok dosis 1 dengan kelompok kontrol negatif; antara kelompok dosis 2 dengan kelompok kontrol negatif; antara kelompok dosis 3 dengan kelompok kontrol negatif dan positif. Hal ini berarti terdapat perbedaan bermakna antara kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif; antara kontrol negatif dengan kelima kelompok lainnya; dan antara kontrol positif dengan dosis 3. Namun, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok dosis.

**Lampiran 9. Sertifikat analisis natrium diklofenak PT. Kimia Farma**

**PT. KIMIA FARMA**  
 Plant Jakarta  
 K.F. Plant Jakarta Jl. Rawasalem 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>MC</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 DICLOFENAC	Tgl. Selesai Periksa	: 12/01/2011
		Diperiksa Oleh	: Putri
		Tgl. Periksa Ulang	: 12/01/2012
Merek/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 CHEMINDO
	: 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 ( MIF0006 )
Suatu Pengeringan (105 derajat C, 3 Jam)	0.06	< 0.5 %	%	USP 32
Kadar Terhadap Zat Kering	100.1	99 - 101 %	%	USP 32
Kesimpulan	Ditolak			
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 Kardoko Asisten Pengawasan Mutu	<i>[Signature]</i>	13/1/11	
Approved by	Drs. Tia Mudaningrum Manager Revisi Mutu	<i>[Signature]</i>	14/1/11	

**Lampiran 10.** Sertifikat analisis *complete freund's adjuvant* (CFA) Sigma-Aldrich

Page 1 of 1

# Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH®

<b>Product Name</b>	Freund's Adjuvant, Complete, cell suspension	
<b>Product Number</b>	F5881	
<b>Product Brand</b>	SIGMA	


TEST	SPECIFICATION	LOT 070M8705 RESULTS
Appearance (Color)	Light Yellow to Yellow	Light Yellow
Appearance (Form)	Liquid with particulates	Liquid
Appearance (Turbidity)	Clear	Clear
emulsification assay	Pass	Pass
<b>Note</b>	Forms emulsion with 0.85% NaCl	
	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.	

<b>Specification Date:</b>	JUL 2010
<b>Date of QC Release:</b>	AUG 2010
<b>Print Date:</b>	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 11. 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

---

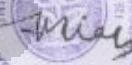

**SURAT KETERANGAN**

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 2017  
Kepala,  
  
  
Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS  
NP. 19460825 197711 1 001

**Lampiran 12.** Sertifikat determinasi tanaman rumput mutiara dari Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM



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

---

**SURAT KETERANGAN**  
Nomor: 0323/T.Tb/II/2012

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

Nama : Indana Ayu Soraya  
NIM : 0906601834  
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

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

Kepala Laboratorium  
Taksonomi Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM

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) and  
RC. Bakhuizen Van den Brink Jr. Ph.D.