

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA,  
FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN PANDAN  
WANGI (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) PADA TIKUS  
YANG DIINDUKSI KARAGENIN**



**Oleh:**

**Ponky Ary Wibowo  
19133786A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA,  
FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN PANDAN  
WANGI (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) PADA TIKUS  
YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh :**

**Ponky Ary Wibowo  
19133786A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

### AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENIN

Oleh  
**Ponky Ary Wibowo**  
**19133786A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Pengujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 8 Juni 2017

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi Dekan,



S. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

A handwritten signature in black ink.

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

A handwritten signature in blue ink.

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

Pengaji :

1. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
2. Anita Nilawati, M.Farm., Apt
3. Yane Dilla Keswara, M.Sc., Apt
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

Four handwritten signatures in black ink, each followed by a dotted line for a signature.

## **PERSEMBAHAN**

*“Maka sesungguhnya dibalik kesulitan itu ada kemudahan,  
Sesungguhnya dibalik kesulitan ada kemudahan “  
(QS Al-insyirah ayat 5-6. )*

*Kebanyakan orang mengatakan bahwa kecerdasanlah yang melahirkan ilmuan besar. Meraka salah, karakterlah yang melahirkannya.  
(Albert Enstein)*

Skripsi ini dipersembahkan penulis untuk :

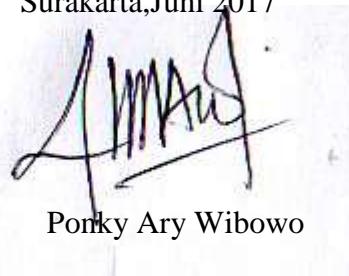
- Allah SWT yang selalu memberiku kesehatan dan kelancaran
- Orangtua dan kakakku yang selalu memberikan motivasi, do'a dan segalanya.
- Sahabat-sahabatku (teman-teman kos MAH ETAN, teman-teman kos Papi Kriwil, dan adek-adek nakal) yang selalu memberikan semangat, do'a dan selalu membantu, perjuangan kita belum selesai, sukses untuk kita semua.
- Serta teman-teman satu angkatan dan almamater.

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta,Juni 2017



Ponky Ary Wibowo

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas semua rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Skripsi dengan judul **“AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENIN”**

Penulis menyadari bahwa selesainya penulisan skripsi ini, tidak lepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak yang bersangkutan baik secara moril maupun material, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan anugerah, nikmat, dan petunjuknya disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan skripsi ini.
5. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan skripsi ini.
6. Iswandi, S.Si, M.Pharm.,Apt selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan.
7. Tim Penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
8. Seluruh staf pepustakaan Universitas Setia Budi Surakarta.
9. Semua teman – teman di Universitas Setia Budi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan kesempatan untuk membantu saya demi terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini ada banyak kekurangan, sehingga saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi sempurnanya skripsi ini. Semoga keberadaan skripsi ini berguna bagi mahasiswa Sarjana Farmasi dan semua orang yang membacanya.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Pandan Wangi.....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Deskripsi tanaman .....	5
4. Kandungan kimia .....	6
4.1 Alkaloid.....	6
4.2 Saponin.....	6
4.3 Flavonoid.....	7
4.4 Tanin.....	7
4.5 Polifenol .....	7
5. Kegunaan tanaman .....	7
B. Inflamasi .....	8
1. Definisi .....	8
2. Tanda inflamasi .....	8

2.1 Rubor .....	8
2.2 Tumor .....	8
2.3 Kalor .....	9
2.4 Dolor.....	9
2.5 Functiolaesa.....	9
3. Mediator-mediator inflamasi .....	9
4. Mekanisme inflamasi .....	10
C. Antiinflamasi .....	12
1. Obat anti-inflamasi non steroid .....	13
2. Obat anti-inflamasi steroid .....	13
D. Simplisia .....	13
1. Pengertian simplisia .....	13
2. Pengumpulan simplisia.....	14
3. Cara pembuatan simplisia .....	14
4. Kualitas simplisia .....	15
4.1. Bahan baku simplisia.....	15
4.2. Proses pembuatan simplisia.....	15
5. Pengemasan dan penyimpanan.....	15
E. Ekstraksi dan Fraksinasi .....	15
1. Ekstraksi .....	15
2. Metode ekstraksi.....	15
2.1 Cara panas .....	15
2.2. Cara dingin .....	17
3. Larutan penyari.....	17
3.1 Etanol 96%.....	17
3.2 n-Heksana.....	18
3.3 Etil asetat .....	18
3.4 Air.....	18
4. Fraksinasi.....	18
F. Metode Uji Antiinflamasi .....	19
1. Metode pembuatan edema buatan .....	19
2. Metode pembentukan eritema .....	19
3. Metode pembentukan kantong granuloma .....	19
4. Metode penghambatan adhesi leukosit.....	20
5. Metode iritasi dengan panas .....	20
6. Metode penumpukan krystal synovitis .....	20
7. Metode iritasi pleura.....	21
8. Metode in vitro .....	21
G. Karagenin .....	21
H. Natrium Diklofenak .....	22
I. Plethysmometer .....	23
J. Hewan Percobaan .....	24
1. Sistematika hewan percobaan .....	24
2. Karakteristik utama tikus.....	24
3. Sifat biologis.....	24
4. Jenis kelamin .....	25

5.	Teknik memegang dan cara penanganan.....	25
6.	Cara pemberian obat.....	25
K.	Landasan Teori .....	25
L.	Hipotesis .....	26
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	28
B.	Variabel Penelitian .....	28
1.	Identifikasi variabel utama .....	28
2.	Klasifikasi variabel utama .....	28
3.	Definisi operasional variabel utama .....	29
C.	Alat dan Bahan .....	29
1.	Alat .....	29
2.	Bahan.....	30
2.1	Bahan sampel .....	30
2.2	Bahan kimia.....	30
D.	Jalan Penelitian .....	30
1.	Determinasi tanaman pandan wangi.....	30
2.	Pengambilan bahan.....	30
3.	Pembuatan serbuk daun pandan wangi .....	30
4.	Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun pandan wangi .	30
5.	Pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi.....	31
6.	Fraksinasi.....	31
7.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun pandan wangi .....	32
7.1	Uji flavonoid .....	32
7.2	Uji saponin .....	32
7.3	Uji tanin.....	33
7.4	Uji Steroid dan triterpenoid.....	33
8.	Pembuatan larutan .....	33
8.1	Larutan CMC-Na 0,5% .....	33
8.2	Larutan lambda karagenan .....	33
8.3	Pembuatan natrium diklofenak.....	33
8.4	Pembuatan sediaan uji .....	34
9.	Uji pendahuluan .....	34
10.	Uji antiinflamasi .....	34
10.1	Penetapan dosis natrium diklofenak.....	34
10.2	Penetapan dosis fraksi .....	34
10.3	Prosedur uji antiinflamasi.....	34
E.	Analisa Data .....	36
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
A.	Hasil Penelitian Tanaman.....	38
B.	Persiapan Bahan .....	38
1.	Hasil Pengeringan dan pembuatan serbuk daun pandan wangi .....	38

2.	Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi ....	39
3.	Hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi .....	39
4.	Hasil pembuatan Ekstrak etanol daun pandan wangi .....	40
5.	Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi	40
6.	Hasil pembuatan fraksi-fraksi daun pandan wangi .....	41
7.	Identifikasi kandungan senyawa kimia .....	41
C.	Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi .....	42
1.	Hasil Uji Pendahuluan .....	42
2.	Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi .....	43
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
A.	Kesimpulan .....	50
B.	Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b>		

## **DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 1. Bagian-bagian tanaman pandan wangi.....	6
Gambar 2. Mekanisme Inflamasi menurut Tjay dan Kirana (2002). .....	11
Gambar 3. Struktur Natrium Diklofenak .....	23
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pandan wangi .....	32
Gambar 5. Alur pengujian antiinflamasi zat uji .....	36
Gambar 6. Rata-rata volume kaki tikus.....	43

## **DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 1. Perlakuan Hewan Uji.....	35
Tabel 2. Hasil pengeringan daun pandan wangi .....	38
Tabel 3. Hasil pembuatan serbuk daun daun pandan wangi.....	38
Tabel 4. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi .....	39
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi.....	39
Tabel 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi.....	40
Tabel 7. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi .....	40
Tabel 8. Hasil pembuatan fraksi-fraksi daun pandan wangi.....	41
Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia .....	41
Tabel 10. Rata-rata AUC dan rata-rata DAI(%) .....	45

## **DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Pandan Wangi.....	58
Lampiran 2. Hasil Pengambilan Bahan Baku .....	59
Lampiran 3. Hasil Pengambilan Hewan Uji .....	60
Lampiran 4. Proses Pembuatan Fraksi Daun Pandan Wangi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi.....	61
Lampiran 5. Data Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Daun Pandan Wangi secara KLT .....	64
Lampiran 6. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap berat basah tanaman daun pandan wangi. ....	67
Lampiran 7. Data hasil presentase berat serbuk daun pandan wangi terhadap berat kering daun pandan wangi.....	68
Lampiran 8. Data hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi ...	69
Lampiran 9. Data hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi .....	70
Lampiran 10. Data hasil pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi.....	71
Lampiran 11. Data hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi	72
Lampiran 12. Data hasil pembuatan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan wangi. ....	73
Lampiran 13. Data hasil uji pendahuluan dan perhitungan dosis fraksi-fraksi....	74
Lampiran 14. Perhitungan dosis dan penimbangan larutan stok. ....	76
Lampiran 15. Data volume telapak kaki tikus sebelum dikurangi Vo.....	80
Lampiran 16. Data Presentasi udema kaki tikus.....	81
Lampiran 17. Data volume udema kaki tikus (Vt – Vo).....	82
Lampiran 18. Data AUC dan DAI (%). ....	83
Lampiran 19. Perhitungan AUC. ....	85
Lampiran 20. Perhitungan DAI (%). ....	86

Lampiran 21. Data hasil uji statistik area under curve.....	88
Lampiran 22. Data hasil uji statistik persen daya antiinflamasi. ....	92

## INTISARI

**WIBOWO, PA., 2017, AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENIN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Inflamasi adalah respon protektif dari tubuh untuk mengeliminasi benda asing yang masuk ke dalam tubuh, membersihkan zat iritan dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol, fraksi-fraksi dari daun pandan wangi dan mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi.

Pengujian dilakukan pada 6 kelompok yaitu kontrol negatif (CMC-Na), Kontrol positif (Natrium Diklofenak 0,45 mg/200gBB), ekstrak etanol 300 mg/KgBB, fraksi n-heksan 65 mg/KgBB, fraksi etil-asetat 42 mg/KgBB, dan fraksi air 133/KgBB. Setiap tikus diinduksi dengan lambda karagenin 1% secara subplantar. Kemudian dihitung volume edema pada jam ke 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; dan 6. Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan oleh kemampuannya dalam menghambat edema akibat induksi lambda karagenin. Untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan dilakukan uji ANOVA.

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak, dan fraksi-fraksi daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi. Ekstrak dan fraksi air memiliki aktivitas antiinflamasi paling tinggi dan sebanding dengan kontrol positif.

---

Kata kunci : Antiinflamasi, fraksi daun pandan wangi, lambda karagenin

## ABSTRACT

**WIBOWO, PA., 2017, ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY of ETHANOL EXTRACT, n-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION FROM PANDAN LEAVES (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb.) IN CARRAGENIN INDUCED RAT PAW EDEMA, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Inflammation occurs as the protective response of the body to eliminate organisms that attack the body, removing irritant substances and regulate tissue repair. The aims of this research were to determine the antiinflammatory activity of ethanol extract, fractions from pandan leaves and to determine the highest activity of the fractions.

This research used 6 groups, negative control (CMC-Na), positive control (Sodium diklofenak 0,45 mg/200gBW), ethanol extract 300 mg/KgBW, n-heksan fraction 65 mg/KgBW, fraction ethyl acetate 42 mg/KgBW, and water fraction 133 mg/KgBW. Each rats induced by carragenin 1% in subplantar. Then measured the volume of edema from hours 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; and 6. The antiinflammatory activity was observed from the ability to inhibited edema due to lambda carragenin induced. ANOVA was done to know the difference in each treatment.

The results of the research showed that extract, and fractions of pandan leaves had antiinflammatory activity. Extract and water fraction showed the highest antiinflamatory activity and compared to the positive control.

---

Key words: antiinflammation, fractions of pandan leaves, lambda carragenin

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Radang atau inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan pada jaringan, yang berfungsi untuk menghancurkan, mengurangi atau mengurung (sekuester) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland 2002). Respon inflamasi ditandai dengan warna merah karena adanya aliran darah yang berlebihan pada daerah cedera, panas yang merupakan respon inflamasi pada permukaan tubuh dan rasa nyeri karena adanya penekanan jaringan akibat edema. Respon itu juga menimbulkan bengkak (edema) karena pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah ke daerah interstitial. Edema merupakan cairan berlebih yang terdapat di sela-sela jaringan (Bagian Farmakologi FKUI 1995).

Inflamasi yang paling umum terjadi karena respon non imunologik dan respon kontak alergi di Indonesia adalah dermatitis kontak, penyakit ini mempunyai prevalensi yang sangat bervariasi. Menurut Perdoski (2009) Sekitar 90% penyakit kulit akibat kerja merupakan dermatitis kontak, baik iritan maupun alergik. Penyakit kulit akibat kerja yang merupakan dermatitis kontak sebesar 92,5%, sekitar 5,4% karena infeksi kulit dan 2,1% penyakit kulit karena sebab lain. Pada studi epidemiologi, Indonesia memperlihatkan bahwa 97% dari 389 kasus adalah dermatitis kontak, dimana 66,3% diantaranya adalah dermatitis kontak iritan dan 33,7% adalah dermatitis kontak alergi (Hudyono 2002).

Cedera menyebabkan membran sel mengalami kerusakan, kemudian fosfolipid akan diubah menjadi asam arakidonat yang dikatalisis oleh fosfolipase A<sub>2</sub>. Asam arakidonat ini selanjutnya akan dimetabolisme oleh lipooksigenase dan sikloooksigenase (COX). Kerusakan sel akibat adanya noksi akan membebaskan berbagai mediator atau substansi radang antara lain histamin, bradikinin, kalidin, serotonin, prostaglandin, leukotrien dan sebagainya (Corwin 2008). Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang

mengalami cedera atau terinviasi agar keduanya dapat menginsolasi, menghancurkan, atau menginaktifkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin 2008).

Pengobatan pasien dengan inflamasi pada umumnya untuk memperlambat atau membatasi proses kerusakan jaringan yang terjadi pada daerah inflamasi (Tjay & Kirana 2002). Obat-obat sintetik yang banyak digunakan sebagai antiinflamasi adalah golongan antiinflamasi non steroid (AINS) dan golongan kortikosteroid. Penggunaan obat-obat tersebut banyak menimbulkan efek samping dan yang sering terjadi adalah gangguan saluran pencernaan dan peningkatan tekanan darah (Wilmana & Sulista 2007).

Efek samping tersebut dapat mengurangi keefektifan obat maka diperlukan alternatif pengobatan menggunakan tanaman obat berkhasiat yang diharapkan memiliki efektivitas yang lebih baik. Hal ini memacu pengembangan produk herbal sesuai dengan gerakan *back to nature* oleh WHO. Penggunaan obat tradisional diharapkan memiliki nilai keamanan yang lebih tinggi dari pengobatan modern (WHO 2003).

Indonesia merupakan pusat keanekaragaman hayati dan menduduki urutan kedua di dunia. 30.000 spesies yang telah teridentifikasi, diketahui sekurang-kurangnya 9.600 spesies yang berkhasiat sebagai obat, salah satu tanaman berkhasiat di Indonesia adalah pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius, Roxb*) (Depkes 2014). Pandan wangi terdapat hampir di seluruh Indonesia, terutama daerah tropis dan banyak ditanam di halaman atau di kebun (Weny 2009).

Beberapa literatur menyebutkan bahwa daun pandan wangi kaya alkaloid, terpenoid, steroid, flavanoid dan saponin. Senyawa-senyawa ini berpotensi sebagai antioksidan alami (Yadial 2009). Menurut penelitian Jimtaisong & Panvipa (2013), daun pandan wangi dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari dosis ekstrak 0,810 mg/ml.

Penelitian mengenai efek antiinflamasi pada tanaman pandan wangi telah banyak dilakukan, daun pandan wangi mengandung flavonoid yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi (antiradang) (Hapsari 2010). Mekanisme aktivitas antiinflamasi dari flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu dengan

penghambatan aktivitas enzim COX dan lipooksigenase, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi netrofil, dan penghambatan pelepasan histamin (Nijveltd *et al.* 2001). Pada dosis 125 mg/kgBB, ekstrak etanol daun pandan wangi mempunyai efek antiinflamasi terhadap edema kaki tikus jantan yang diinduksi karagenin (Triswanto 2016).

Perlu penelitian lebih lanjut tentang aktivitas fraksi n-heksana, etil asetat dan fraksi air daun pandan wangi sebagai antiinflamasi terhadap penurunan edema pada telapak kaki tikus putih jantan galur wistar yang telah diinduksi karagenin. Aktivitas fraksi n-heksana, etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% daun pandan wangi dibandingkan dengan pembanding natrium diklofenak. Fraksinasi bertujuan untuk mengelompokkan senyawa berdasarkan kepolarannya, n-heksana merupakan senyawa nonpolar yang dapat menarik senyawa terpenoid, triterpenoid, sterol dan alkaloid (Sarker 2006). Senyawa semi polar seperti etil asetat menurut Harborne (2006) dapat melarutkan senyawa flavonoid. Sedangkan air merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa polar seperti saponin, glikosida flavonoid, garam alkaloid, tanin dan gula (Depkes 1986). Berdasarkan uraian di atas, akan dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan zat-zat berdasarkan tingkat kepolarannya untuk diketahui aktivitas antiinflamasinya. Dengan adanya hasil dari penelitian ini, dapat dilanjutkan penelitian lanjutan ke arah obat herbal terstandar dan fitofarmaka.

## B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin?

Kedua, apakah fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin?

Ketiga, apakah fraksi n-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanol daun pandan wangi yang mempunyai aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada tikus yang diinduksi karagenin?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Pertama, Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun pandan wangi pada tikus yang diinduksi karagenin.

Kedua, Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari fraksi n-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanol daun pandan wangi pada tikus yang diinduksi karagenin.

Ketiga Untuk mengetahui fraksi n-heksana, etil asetat dan air ekstrak etanol daun pandan wangi yang mempunyai aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada tikus yang diinduksi karagenin.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan pada umumnya, dalam hal penggunaan fraksi daun pandan wangi pada terapi inflamasi yang lebih rasional, sekaligus menjadi dasar penelitian selanjutnya, khususnya pengembangan penelitian antiinflamasi dan obat herbal lainnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Pandan Wangi**

##### **1. Sistematika tanaman**

Sistematika tanaman daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius, Roxb.*) menurut Depkes (2000) sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Subdivisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Monocotyledonae
Bangsa	:	Pandanales
Suku	:	Pandanaceae
Marga	:	Pandanus
Jenis	:	<i>Pandanus amaryllifolius, Roxb.</i>

##### **2. Nama daerah**

Pandan wangi merupakan tanaman yang banyak digunakan di Indonesia, daunnya banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional maupun untuk bumbu masakan. Di Indonesia pandan wangi disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti di Jawa: pandan rampe, pandan seungit, pandan room, pandan wangi. Sumatera: seuku bangu, seuku musang, pandan jau, pandan bebau, pandan harum, pandan rempai, pandan wangi, pandan musang. Sulawesi: pondang, pondan, ponda, pondago. Maluku: Kelamoni, haomoni, kekermoni, ormonfoni, pondak, pondaki, pudaka. Bali: pandan arum. Nusa Tenggara: bonak (Dalimarta 2009).

##### **3. Deskripsi tanaman**

Pohon menjalar, tinggi 1-2 m, batang bulat berdiameter 2-4 mm, duduk daun bercabang, menjalar. Daun tunggal, duduk, pangkal menempel batang, tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Helai daun berbentuk pita, tipis, licin, ujung runcing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40-80 cm, lebar 3-5 cm, berduri menempel pada ibu tulang daun permukaan bawah, warna hijau. Daun

memanjang, tersusun rapat, panjang antara 19-34 cm dan lebar 1,2-1,5 cm (Dalimartha 2002).

Bunga majemuk, berbentuk bongkol, berumah dua, bunga betina berdiri sendiri, bakal buah jumlah 5-18, benang sari jumlah 4, panjang putik 5-18 cm, warna putih. Buah batu, menggantung, bentuk bola, diameter 4-7,5 cm, dinding buah bersabut, warna jingga. Akar besar, tunggang, beberapa keluar dari pangkal batang dan cabang, panjang 4,5-9 cm, diameter 1-2 mm (Dalimartha 2002). Tanaman pandan wangi dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1. Bagian-bagian tanaman pandan wangi**

#### **4. Kandungan kimia**

Daun pandan wangi mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan polifenol (Dalimartha 2009).

**4.1 Alkaloid.** Alkaloid bersifat basa larut dalam pelarut organik yang relatif kurang polar seperti eter, kloroform, tetapi tidak larut dalam air. Alkaloid berbentuk padatan kristal, sedikit amorf, dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai dekomposisi (Lenny 2006).

**4.2 Saponin.** Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan & Mulyani 2004). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan

hemolisis sel darah merah. Terdapat dua jenis saponin yaitu triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Saponin bersifat spermisida, antimikroba, antiperadangan dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay & Kirana 2002).

**4.3 Flavonoid.** Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai obat. Pigmen atau zat warna yang terdapat dalam tumbuhan-tumbuhan seperti zat warna merah, ungu, biru, kuning, dan hijau tergolong senyawa flavonoid. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan, merendam radikal bebas, dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel (Hernani & Raharjo 2005). Flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi (antiradang) (Hapsari 2010).

**4.4 Tanin.** Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal. Menurut Simon and Kerry (2000), senyawa flavonoid, steroid dan tanin dalam bentuk bebas dan kompleks tanin-protein berkhasiat sebagai anti inflamasi.

**4.5 Polifenol.** Polifenol menurut Hernani dan Raharjo (2005) merupakan bahan polimer penting dalam tumbuhan dan cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida. Antioksidan polifenol memiliki aktivitas biologis sebagai penangkap radikal bebas sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti kanker.

## 5. Kegunaan tanaman

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai penyedap, pewangi, dan pemberi warna hijau pada masakan. Daun pandan wangi berkhasiat antioksidan, menghitamkan rambut, rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, reumatik, sakit perut disertai gelisah, serta pegal linu (Dalimarta 2002). Selain itu daun pandan wangi juga digunakan sebagai tonikum, penambah nasu makan, dan penenang (Dalimarta 2000).

## B. Inflamasi

### 1. Definisi

Inflamasi adalah respon pertahanan tubuh terhadap invasi benda asing, kerusakan jaringan atau keduanya. Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia dan pengaruh fisika. Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang cedera atau terinvansi agar keduanya dapat mengisolasi, menghancurkan atau mengaktifkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin 2008).

### 2. Tanda inflamasi

Inflamasi dicetuskan oleh pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak dan migrasi sel (Mycek *et al.* 2001). Ketika proses inflamasi berlangsung, terjadi reaksi vaskuler dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih dan mediator kimia berkumpul pada tempat cedera jaringan atau infeksi (Taufik *et al.* 2008). Tanda klasik umum yang terjadi pada proses inflamasi yaitu *rubor* (kemerahan), *tumor* (pembengkakan), *kalor* (panas setempat yang berlebihan), *dolor* (rasa nyeri), dan *funtiolaesa* (gangguan fungsi/kehilangan fungsi jaringan yang terkena).

**2.1 Rubor.** Rubor terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi yang terjadi karena darah terkumpul di daerah jaringan yang cedera akibat dari pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, histamin). Ketika reaksi radang timbul maka pembuluh darah melebar (vasodilatasi pembuluh darah) sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam jaringan yang cedera (Price & Wilson 2005).

**2.2 Tumor.** Tumor (pembengkakan) merupakan tahap dua dari inflamasi (Price & Wilson 2005). Gejala paling nyata pada peradangan adalah pembengkakan yang disebabkan oleh terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler, adanya peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang mengalami cedera sehingga protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah ke ruang interstitium (Corwin 2008).

**2.3 Kalor.** Kalor (panas) berjalan sejajar dengan kemerahan karena disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah (banyaknya darah yang disalurkan), atau mungkin karena pirogen yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus (Price & Wilson 2005). Fenomena panas lokal ini tidak terlihat pada tempat peradangan jauh di dalam tubuh karena jaringan sudah mempunyai suhu 37°C (Taufik *et al.* 2008).

**2.4 Dolor.** Dolor (nyeri) disebabkan banyak cara, perubahan lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung saraf, timbulnya keadaan hiperalgia akibat pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin atau zat kimia bioaktif lainnya dapat merangsang saraf, pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan peningkatan tekanan lokal juga dapat merangsang saraf (Price & Wilson 2005). Peregangan akibat edema menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa nyeri (Wilmana & Sulista 2007).

**2.5 Functiolaesa.** Functiolaesa adalah kenyataan adanya perubahan, gangguan dan kegagalan fungsi telah diketahui pada daerah yang bengkak (Price & Wilson 2005).

### 3. Mediator-mediator inflamasi

Kerusakan sel akibat adanya noksi akan membebaskan berbagai mediator atau substansi radang antara lain histamin, bradikinin, kalidin, serotonin, prostaglandin, leukotrien dan sebagainya. Histamin terdapat pada semua jaringan juga pada leukosit basofil. Histamin disimpan dalam sel mast dan dibebaskan sebagai hasil interaksi antigen dengan antibodi IgE pada permukaan sel mast, berperan pada reaksi hipersensitif dan alergi. Substan tersebut merupakan mediator pertama dari sedemikian banyak mediator lain, segera muncul dalam beberapa detik. Reseptor-reseptor histamin adalah H<sub>1</sub> dan H<sub>2</sub>. Stimulasi pada kedua reseptor ini menyebabkan vasodilatasi pada arterial dan pembuluh darah koronaria, merendahkan resistensi kapiler dan menurunkan tekanan darah sistemik. Pada reaksi radang permeabilitas kapiler mengikat karena dibebaskannya histamin (Mansjoer 2003).

Kalikrein ialah kalikreinogen yang tidak aktif terdapat dalam pankreas, mukosa usus dan plasma darah. Kalikreinogen diaktivasi oleh faktor hageman

melalui penguraian enzimatik dihasilkan kinin aktif yaitu bradikinin dan kalidin, keduanya autakoid. Sebagai mediator radang bradikinin dan kalidin, menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas kapiler dan berperan meningkatkan potensi prostaglandin (Mansjoer 2003).

Serotonin dalam konsentrasi tinggi terdapat pada platelet darah, perifer mukosa usus dan di beberapa bagian otak. Salah satu reseptor serotonin yang terdapat pada membran platelet ialah 5-HF2, jika distimulasi akan meningkatkan agregasi platelet (Mansjoer 2003).

Mediator ekosanoid berasal dari dua famili berbeda, dari alur siklooksigenase dihasilkan prostaglandin dan dari alur lipooksigenase dihasilkan leukotrien (Mansjoer 2003). Prostaglandin dapat meningkatkan aliran darah ke tempat yang mengalami inflamasi, meningkatkan permeabilitas kapiler dan merangsang reseptor nyeri. Leukotrien merupakan produk akhir dari metabolisme asam arakidonat pada jalur lipooksigenase. Senyawa ini dapat meningkatkan permeabilitas kapiler dan meningkatkan adhesi leukosit pada pembuluh kapiler selama cedera atau infeksi (Corwin 2008).

#### **4. Mekanisme inflamasi**

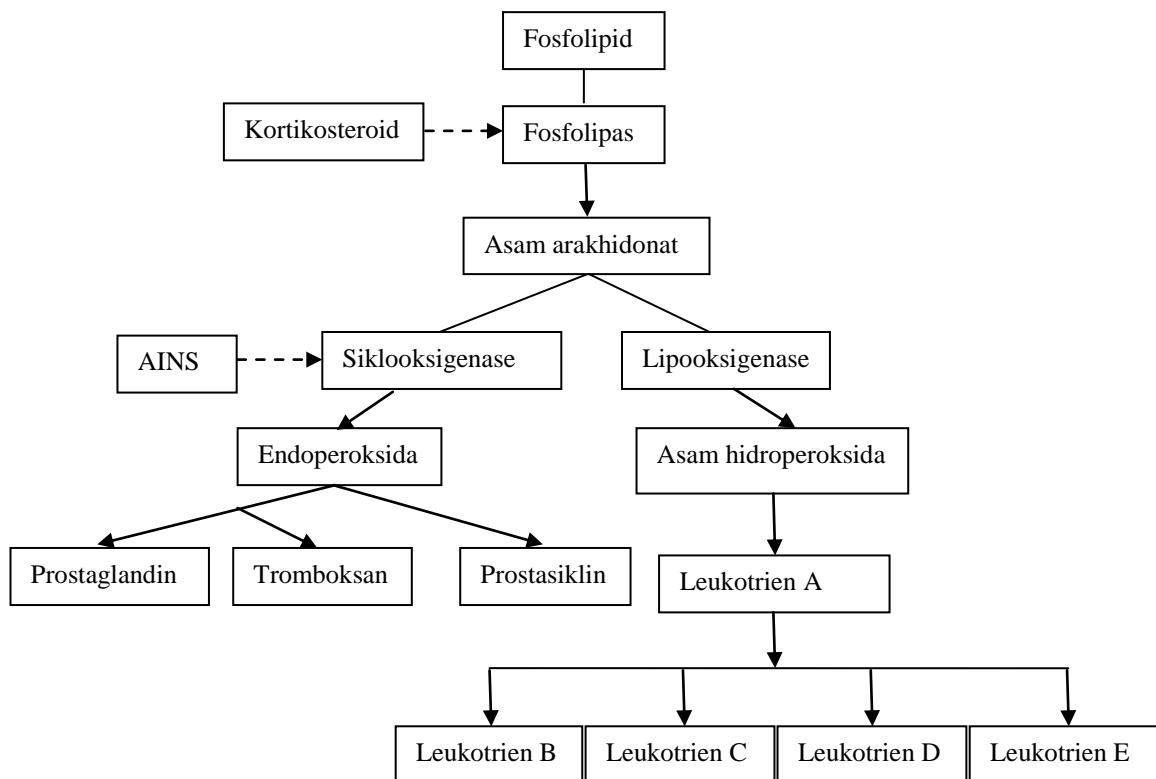
Tubuh mengalami peradangan dimulai dari beberapa stimulus, misalnya : virus, bakteri, protozoa, atau fungi oleh trauma. Stimulus-stimulus dapat merusak jaringan, mengakibatkan sel mast pecah dan terlepasnya mediator-mediator inflamasi. Terjadinya vasodilatasi dari seluruh pembuluh darah pada daerah inflamasi sehingga aliran darah meningkat. Terjadinya perubahan volume darah dalam kapiler dan venula, yang menyebabkan sel-sel endotel pembuluh darah meregang dan terjadinya kenaikan permeabilitas pembuluh darah, protein plasma keluar dari pembuluh, timbulah edema. Infiltrasi leukosit ke tempat inflamasi, pada tingkat awal infiltrasi oleh neutrofil, selanjutnya infiltrasi oleh sel monosit (Katzung 2007).

Peradangan umumnya dibagi dalam tiga fase yaitu peradangan akut, respon imun dan peradangan kronis. Peradangan akut merupakan respon awal terjadinya luka di jaringan yang diperantara oleh pelepasan mediator inflamasi dan mendahului perkembangan respon imun (Vogel 2002).

Fase akut ditandai dengan vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler (Vogel 2002). Pada inflamasi akut ini peradangan terjadi dengan onset yang tiba-tiba ditandai oleh tanda akut peradangan (kemerahan, panas, bengak, nyeri, hilangnya fungsi) dengan proses eksudatif dan vaskuler yang dominan (Dorland 2008).

Fase respon imun ditandai dengan infiltrasi leukosit dan sel fagosit. Respon imun terjadi bila sel yang mempunyai kemampuan imunologi diaktifasi untuk menimbulkan respon terhadap organisme asing atau zat antigenik yang dilepaskan selama respon peradangan akut atau kronis (Vogel 2002)

Peradangan kronis melibatkan pelepasan sejumlah mediator yang tidak menonjol pada respon akut. Beberapa diantaranya yaitu interleukin 1,2, dan 3; TNF-alfa2; dan interferon. Pada fase ini terjadi degenerasi jaringan dan fibrosis (Vogel 2002). Berikut merupakan mekanisme terjadinya inflamasi:



Gambar 2. Mekanisme Inflamasi menurut Tjay dan Kirana (2002).

### C. Antiinflamasi

Pengobatan pada inflamasi mempunyai 2 tujuan utama yaitu pertama, meringankan rasa nyeri, yang seringkali merupakan gejala awal yang terlihat dan keluhan terus menerus dari pasien dan kedua memperlambat atau membatasi proses kerusakan jaringan (Katzung 2002).

Antiinflamasi adalah sebutan untuk agen atau obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan (Dorland 2002). Terdapat tiga mekanisme yang digunakan untuk menekan peradangan yaitu pertama penghambatan enzim siklooksigenase (COX). COX mengkatalisa sintetis pembawa pesan kimia yang poten yang disebut prostaglandin, yang mengatur peradangan, suhu tubuh, analgesia, agregasi trombosit dan sejumlah proses lain. Obat-obat penghambat prostaglandin adalah AINS (Olson 2003).

Mekanisme kedua untuk mengurangi peradangan melibatkan penghambatan fungsi-fungsi imun. Dalam proses peradangan, peran prostaglandin adalah untuk memanggil sistem imun. Infiltrasi jaringan lokal oleh imun dan pelepasan mediator kimiawi oleh sel-sel seperti itu menyebabkan gejala peradangan (panas, kemerahan, nyeri). Kortikosteroid merupakan obat yang dapat menghambat fungsi imun. Mekanisme kerja kortikosteroid adalah menghambat aktivitas fosfolipase, sehingga mencegah pelepasan awal asam arakidonat yang diperlukan untuk mengaktivasi jalur enzim berikutnya (Olson 2003).

Mekanisme ketiga untuk mengobati peradangan adalah mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun. Histamin, yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil sebagai respon terhadap antigen, menyebabkan peradangan dan kontraksi bronkus dengan mengikat respon histamin pada sel-sel bronkus, aktivitas ini dapat dihambat oleh antagonis reseptor histamin 1 maupun histamin 2 (Olson 2003). Mekanisme kerja obat antihistamin dalam menghilangkan gejala-gejala alergi berlangsung melalui kompetisi dengan menghambat histamin berikatan dengan reseptor H1 dan H2 di organ sasaran. Contoh antihistamin adalah klorfeniramine, difenhidramine, prometazin, hidroksisin, loratadin, setirizin dan feksofenadin (Katzung 2007).

Secara umum pengobatan inflamasi dibagi menjadi 2 golongan besar, yaitu:

### **1. Obat anti-inflamasi non steroid**

Obat-obat anti-inflamasi non steroid (AINS) merupakan suatu grub obat yang secara kimiawi tidak sama dan berbeda aktivitas anti-inflamasinya. Obat-obat ini bekerja dengan jalan menghambat enzim siklooksigease tetapi tidak menghambat enzim lipooksigenase (Mycek *et al.* 2001)

AINS menghambat siklooksigenase (COX) sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan yang berperan dalam menimbulkan reaksi peradagan terganggu. Tetapi anti-inflamasi non steroid tidak menghambat biosintesis leukonutrien yang diketahui berperan dalam proses inflamasi (Wilmana & Sulista 2007).

Termasuk dalam golongan ini antara lain aspirin, ibuprofen, naproksen, fenoprifien, indometasin, sulindak, tolmetin, fenilbutazon, piroksikan, asam mefenamat, natrium diklofenak, dan diflunisal. Indikasi obat ini adalah penyakit-penyakit yang disertai radang terutama penyakit rematik yang disertai peradangan. Efek samping yang sering terjadi adalah induksi tukak lambung atau tukak peptik yang kadang-kadang disertai anemia sekunder akibat peradangan saluran cerna (Wilmana & Sulista 2007).

### **2. Obat anti-inflamasi steroid**

Efek glukokortikoid berhubungan dengan kemampuan untuk merangsang biosintesis protein lipomodulin yang dapat menghambat kerja enzimatik fosfolipase, suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakidonat dan metabolitnya seperti prostaglandin (PG), leukotrien (LT), prostasiklin dan tromboksan. Glukokortikoid dapat memblok jalur siklooksigenase dan lipooksigenase. Sedangkan NSAID hanya memblok siklooksigenase (Katzung 2002).

## **D. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya

berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

## **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Depkes 2007).

## **3. Cara pembuatan simplisia**

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar (Depkes 2007).

Pencucian dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengubahan bentuk dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhinya kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (Depkes 2007).

#### **4. Kualitas simplisia**

Beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas simplisia antara lain :

**4.1. Bahan baku simplisia.** Berdasarkan bahan bakunya, simplisia bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia yang diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen, dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Tetapi jika pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Depkes 1985).

**4.2. Proses pembuatan simplisia.** Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan. Adapun tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, pengubahan bentuk, pengepakan dan penyimpanan (Depkes 1985).

#### **5. Pengemasan dan penyimpanan**

Pengemasan simplisia dapat menggunakan wadah yang inert, tidak beracun, melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan. Sedangkan penyimpanan simplisia sebaiknya ditempat yang kelembabannya rendah, terlindung dari sinar matahari, dan terlindung dari gangguan serangga maupun tikus.

### **E. Ekstraksi dan Fraksinasi**

#### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes 2000). Ekstraksi bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia.

#### **2. Metode ekstraksi**

Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik senyawa aktif tersebut antara lain :

**2.1 Cara panas.** Beberapa metode ekstraksi cara panas antara lain :

**2.1.1 Soxhlet.** Soxhletasi adalah penggabungan antara maserasi dan perkolasii. Soxhletasi membutuhkan bahan pelarut sangat sedikit, juga secara terus menerus diperbaharui, artinya dimasukkan bahan pelarut bebas bahan aktif. Bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantung ekstraksi di dalam sebuah alat soxhlet dari gelas yang bekerja kontinyu. Wadah gelas yang didalamnya terdapat kantung yang diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin aliran balik dan dihubungkan melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran melalui pipa pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes ke atas bahan yang diekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi tertimbun melalui penguapan kontinyu dari bahan pelarut murni berikutnya (Voigt 1994).

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi berkesinambungan sehingga sampel terekstraksi dengan sempurna, proses ekstraksi lebih cepat dibanding maserasi dan pelarut yang digunakan stabil. Sedangkan kelemahannya adalah sampel yang digunakan harus sampel yang tahan panas atau tidak dapat digunakan pada sampel yang tidak tahan panas, karena sampel yang tidak tahan panas akan teroksidasi atau tereduksi ketika proses soxhletasi berlangsung (Sarker 2006).

**2.1.2. Refluks.** Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang umumnya konstan dengan adanya pendingin balik. Pengulangan ekstraksi pada residu pertama dilakukan 3-5 kali sehingga diperoleh hasil ekstrak yang sempurna (Depkes 1962).

**2.1.3. Digesti.** Digesti adalah proses maserasi dengan pengadukan kontinyu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan yang pada umumnya dilakukan pada suhu 40-50°C (Depkes 1962).

**2.1.4. Infus.** Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes 1979).

**2.1.5. Dekok.** Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes 1962).

**2.2. Cara dingin.** Metode ekstraksi menggunakan cara dingin antara lain :

**2.2.1. Maserasi.** Maserasi merupakan metode sederhana, metode ini cocok untuk ekstraksi awal. Serbuk simplisia direndam dalam pelarut yang sesuai di dalam wadah tertutup pada suhu kamar, dengan pengadukan sesekali dan konstan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kerugian utama maserasi adalah proses ekstraksi lama yaitu beberapa jam sampai beberapa minggu. Selain itu, beberapa senyawa tidak dapat diekstraksi secara efisien jika mereka kurang larut pada suhu kamar (Sarker 2006).

**2.2.2. Perkolasi.** Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu kamar. Dalam perkolası, bahan serbuk simplisia direndam dengan pelarut wadah berbentuk kerucut dengan keran di bagian bawah. Pelarut tambahan kemudian dituangkan di atas serbuk simplisia dan dibiarkan meresap perlahan (tetes demi tetes). Beberapa kelemahan perkolası adalah memerlukan pelarut dalam jumlah besar dan prosesnya ekstraksi membutuhkan waktu yang lama (Sarker 2006).

### 3. Larutan penyari

Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, logam berat, udara, cahaya dan derajat keasaman. Diketahuinya zat aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan cairan penyari. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor (Depkes 1986). Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% dan untuk fraksinasi digunakan n-heksana, etil asetat dan air.

**3.1 Etanol 96%.** Etanol 96% merupakan larutan penyari yang mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, selektif, tidak beracun, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Depkes 1986). Pemilihan Etanol

96% didasarkan pada penelitian Agustiningsih *et al.* (2010), dimana senyawa fenolik dan flavonoid maksimal diekstraksi dengan etanol 96%.

**3.2 n-Heksana.** n-Heksana merupakan pelarut non polar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. n-Heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid dan karotenoid (Kristijono 2008). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol dan alkaloid (Sarker 2006).

**3.3 Etil asetat.** Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah menguap dan mudah terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terlindungi dari panas, Etil asetat merupakan cairan jernih tidak berwarna pada suhu kamar dengan bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air bercampur etanol dan eter, Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah alkaloid, Etil asetat dapat juga melarutkan senyawa-senyawa fenolik seperti: fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan antrakuinon (Harbone 2006).

**3.4 Air.** Air digunakan sebagai cairan penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah terbakar, tidak mudah menguap, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan senyawa-senyawa polar seperti saponin, glikosida flavonoid, garam alkaloid, tanin dan gula (Depkes 1986).

#### 4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarnya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harborne 2006). Fraksinasi ini umumnya dilakukan dengan menggunakan metode corong pisah atau kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan salah satu metode pemurnian senyawa dengan menggunakan kolom (Trifany 2012). Corong pisah merupakan peralatan laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen-

komponen dalam campuran antara dua fase pelarut yang memiliki massa jenis berbeda yang tidak tercampur (Haznawati 2012).

## **F. Metode Uji Antiinflamasi**

### **1. Metode pembuatan edema buatan**

Metode udema kaki termasuk metode yang banyak digunakan untuk pengujian antiinflamasi suatu zat uji. Metode ini berdasar atas kemampuan zat uji untuk menghambat udema yang terbentuk akibat iritan yang diinjeksikan secara intraplantar pada kaki belakang tikus. Volume udema diukur sebelum dan sesudah pemberian iritan. Iritan yang bisa dipakai sebagai penginduksi antara lain formalin, karagenin, ragi, dan dekstran. Iritan yang memiliki kepekaan tinggi dan sering digunakan ialah karagenin. Efektivitas zat uji ditentukan dengan lebih sedikitnya volume udem yang terbentuk. Pada metode ini dapat ditentukan durasi efek antiinflamasi dari zat uji (Vogel 2002).

### **2. Metode pembentukan eritema**

Metode ini berdasarkan pengamatan secara visual terhadap eritema pada kulit hewan yang telah dicukur bulunya. Eritema dibentuk akibat iritasi sinar UV selama 20 detik, sehingga terjadi vasodilatasi yang diikuti dengan meningkatnya permeabilitas pembuluh darah dan leukositosis lokal. Dua jam kemudian eritema yang terbentuk diamati (Vogel 2002). Metode ini dapat menggunakan hewan uji babi, pengamatan visual pada kulit hewan yang telah dicukur bulunya (Patel *et al.* 2012). Eritema yang terbentuk diamati 2 jam dan 4 jam setelah paparan sinar UV. Intensitas eritema ditentukan dengan skor 0-4 oleh dua peneliti yang berbeda. Faktor subyektif sulit dihilangkan pada penentuan skor intensitas eritema karena penilaian masing-masing peneliti bisa berbeda-beda (Vogel 2002).

### **3. Metode pembentukan kantong granuloma**

Metode ini berdasarkan pengukuran volume eksudat yang terbentuk di dalam kantong granuloma. Mula-mula benda berbentuk pelet yang terbuat dari kapas yang ditanam di bawah kulit abdomen tikus menembus lapisan linia alba. Respon yang terjadi berupa gejala iritasi, migrasi leukosit dan makrofag ke tempat radang yang mengakibatkan kerusakan jaringan dan timbulah granuloma (Vogel 2002).

Teknik ini dilakukan dengan cara memberikan senyawa secara subkutan pada hewan percobaan. Granulasi jaringan mulai membelah dan akan terus membelah sampai menutupi bagian kantong granuloma. Jaringan ini terdiri dari fibrolas, sel-sel endotel, leukosit polimorfonuklear dan infiltrasi makrofag. Salah satu keuntungan dari teknik ini adalah kemungkinan untuk membawa senyawa uji untuk kontak langsung dengan sel target dengan menginjeksikannya pada kantong granuloma, senyawa dapat diberikan secara peroral atau injeksi parenteral (Patel *et al.* 2012).

#### **4. Metode penghambatan adhesi leukosit**

Adhesi leukosit pada membran endothelium bisa terjadi pada proses peradangan. Leukosit pada sirkulasi darah mempunyai kecenderungan melekat pada dinding pembuluh darah dan kecenderungan ini makin meningkat saat terjadi inflamasi pada metode ini. Adhesi leukosit tersebut ditiru fMet-Leu-Phe (FMLP) yang sekaligus bertindak sebagai penginduksi radang (Vogel 2002).

#### **5. Metode iritasi dengan panas**

Metode ini berdasarkan pengukuran luas radang dan berat edema yang terbentuk setelah diiritasi dengan panas. Mula-mula hewan diberi zat warna tripan biru yang disuntik secara iv, dimana zat ini akan berikatan dengan albumin plasma. Kemudian pada daerah penyuntikan tersebut dirangsang dengan panas yang cukup tinggi. Panas menyebabkan pembebasan histamin endogen sehingga timbul inflamasi. Zat warna akan keluar dari pembuluh darah yang mengalami dilatasi bersama-sama dengan albumin plasma sehingga jaringan yang meradang kelihatan berwarna. Penilaian derajat inflamasi diketahui dengan mengukur luas radang akibat pembesaran zat ke jaringan yang meradang. Pengukuran juga dapat dilakukan dengan menimbang edema yang terbentuk, dimana jaringan yang meradang dipotong kemudian ditimbang (Vogel 2002).

#### **6. Metode penumpukan krystal synovitis**

Pada percobaan ini telapak kaki tikus disuntik dengan suspensi ragi brewer dalam larutan metil selulosa secara subkutan. Akibat penyuntikan ini menyebabkan peningkatan suhu rektal. Pada waktu 18 jam setelah penyuntikan diberikan obat secara oral dan suhu rektal diukur dalam selang waktu 30 menit (Vogel 2002).

## 7. Metode iritasi pleura

Metode ini berdasarkan pengukuran volume eksudat yang terbentuk karena iritasi dengan induktor radang. Adanya aktifitas obat yang diuji ditandai dengan berkurangnya volume eksudat. Obat diberikan secara oral. Satu jam kemudian disuntik dengan induktor radang seperti formalin secara intrapleura. Setelah 24 jam, hewan dibunuh dengan eter lalu rongga dada pleura dibuka dan volume eksudat inflamasi diukur (Vogel 2002). Dapat digunakan zat iritan prostaglandin, bradikinin, histamin, dextran, antigen dan mikroba (Patel *et al.* 2012). Parameter yang dapat digunakan yaitu penentuan jumlah sel darah putih pada cairan eksudat menggunakan coulter counter atau hematositometer, penentuan aktivitas enzim lisosom, penentuan fibronektin, dan penentuan PgE2 (Vogel 2002).

## 8. Metode in vitro

Metode ini digunakan untuk mengetahui peran dan pengaruh substansi fisiologis seperti histamin, serotonin, bradikinin, substansi P, kelompok eikosanoid (prostaglandin, tromboksan dan leukotrien) dan lain-lain dalam proses terjadinya inflamasi. Metode in vitro untuk pengujian antiinflamasi antara lain: penghambatan ikatan reseptor 3H-bradikinin, ikatan reseptor neurokinin, uji kemotaksis leukosit polimorfonuklear dan inhibisi COX-1 dan COX-2 (Vogel 2002).

## G. Karagenin

Karagenin merupakan polisakarida hasil ekstrak rumput laut keluarga Euchecma, chondrus, dan gigartina. Bentuknya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau serta memberikan rasa berlendir dilidah. Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentukan gelnya, karagenin dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu lambda karagenin, iota karagenin, dan kappa karagenin. Ketiga karagenin ini memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C (Rowe *et al.* 2009). Tipe karagenin lambda dibandingkan dengan jenis karagenin yang lain, lambda karagenin memiliki kelebihan paling cepat menginduksi terjadinya inflamasi dan membentuk gel yang baik dan tidak keras (Morris 2003).

Karagenin dipilih karena dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 jam hingga 2,5 jam setelah diinduksi dan fase terakhir pada 3 jam setelah induksi terjadi pelepasan prostaglandin lalu volume edema maksimal dan bertahan 5 jam setelah induksi (Morris 2003), oleh karena itu karagenin dapat digunakan sebagai iritan pada metode uji efek antiinflamasi suatu obat, terutama yang bekerja menghambat sintesis prostaglandin (Winter *et al.* 1962).

Karagenin sebagai penginduksi radang memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi dibandingkan dengan senyawa iritan lainnya (Morris 2003).

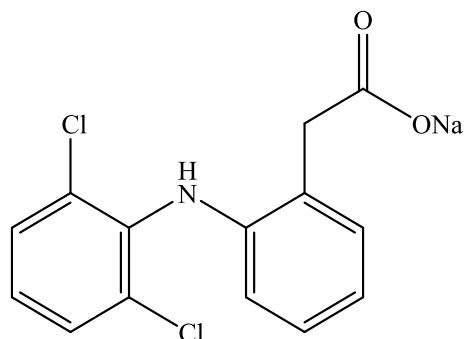
#### **H. Natrium Diklofenak**

Suatu diantara obat golongan AINS yang digunakan untuk mengatasi nyeri dan inflamasi adalah natrium diklofenak. AINS derivat fenil asetat ini, memiliki aktivitas analgesik dan antipiretik serta memiliki potensi efek anti inflamasi kuat dengan efek samping iritasi terhadap saluran cerna yang lebih rendah jika dibandingkan untuk mengatasi radang pada penyakit karena artritis (Gilman 2007).

Natrium diklofenak diabsorbsi cepat dan sempurna setelah pemberian peroral. Konsentrasi plasma obat ini tercapai dalam 2-3 jam. Pemberian bersama makanan akan memperlambat laju absorpsi tetapi tidak mengubah jumlah yang diabsorbsi. Bioavailabilitas sekitar 50% akibat metabolisme lintas pertama yang cukup besar. Obat ini 99% terikat pada protein plasma dan waktu paruhnya berada pada rentang 1-3 jam. Natrium diklofenak diakumulasi di cairan sinovial setelah pemberian oral. Hal ini menjelaskan bahwa efek terapi disendi jauh lebih panjang daripada waktu paruhnya. Dosis untuk radang akut arthritis adalah 100-150 mg sehari terbagi dalam 2-3 dosis (Wilmana & Sulista 2007). Diklofenak merupakan obat anti radang yang diizinkan untuk beberapa penggunaan di AS. Diklofenak

mempunyai aktivitas analgesik, antipiretik, dan antiradang. Senyawa ini merupakan inhibitor siklookksigenase, dan potensinya jauh lebih besar daripada indometasin, naproksen, atau beberapa senyawa lain. Selain itu diklofenak tampak menurunkan konsentrasi intrasel arakidonat bebas dalam leukosit, mungkin dengan mengubah pelepasan atau pengambilan asam lemak tersebut (Gilman 2007).

Diklofenak digunakan untuk pengobatan dalam jangka waktu lama seperti arthritis rheumatoid, osteoarthritis dan spondilitis ankilosa. Obat ini lebih poten dari indometasin atau naproksen. Diklofenak bertumpuk pada cairan sinovial. Ekresi obat ini dan metabolitnya bersama dengan urin. Toksisitas yang ditimbulkan adalah masalah saluran pencernaan dan kadar enzim hepar meningkat (Mycek *et al.* 2001).



**Gambar 3. Struktur Natrium Diklofenak**

### I. Plethysmometer

Plethysmometer berfungsi untuk mengukur efektivitas agen anti-inflamasi untuk mengurangi kondisi edema. Dalam penggunaannya, kaki dimasukkan ke dalam air, yang terkandung dalam sel air khusus yang resistance tersebut berubah karena perendaman kaki (plethysmometer bekerja berdasarkan hukum Archimedes). Resistensi perubahan ini dikalibrasi dalam ml dan ditampilkan pada monitor elektronik (Campden 2017).

Volume kaki yang ditampilkan pada layar grafis multifungsi dalam empat digit, dengan resolusi 0,01 ml. Kunci nol disediakan untuk nol meter sebelum setiap pengukuran (Ugo Basile 2017).

## **J. Hewan Percobaan**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino galur wistar dengan berat badan 150-200 gram. Pengelompokan dilakukan secara acak terdiri dari 5 ekor tikus.

### **1. Sistematika hewan percobaan**

Sugiyanto (2010) mengemukakan bahwa kedudukan tikus dalam sistematika adalah sebagai berikut:

Filum	:	Chordata
Subfilum	:	Vertebrata
Classis	:	Mamalia
Subclass	:	Plasentalia
Ordo	:	Rodentia
Familia	:	Muridae
Genus	:	Rattus
Spesies	:	<i>Rattus norvegicus</i>

### **2. Karakteristik utama tikus**

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan relatif dan resiten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus dapat tinggal sendirian dalam kandang asal bisa mendengar dan melihat tikus lain. Meskipun mudah ditangani, kadang tikus menjadi agresif terutama saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi. Hewan ini harus diperlakukan dengan halus namun sigap dan makanannya harus dijaga agar tetap memenuhi kebutuhannya (Sugiyanto 2010).

### **3. Sifat biologis**

Tikus dapat bertahan hidup 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Lama bunting tikus mempunyai waktu 20-22 hari dan dapat melakukan kawin lagi setelah 1 sampai 24 jam, tikus tumbuh dewasa pada umur 40-60 hari. Tikus dapat dikawinkan pada umur ke 10 minggu. Aktivitas perkawinan tikus dilakukan secara kelompok yaitu 3 betina dengan 1 jantan pada malam hari (nocturnal). Siklus kelamin dari tikus adalah poliestrus, siklus estrusnya 4-5 hari yang mempunyai lama estrus 9-20 jam (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

Berat tikus dewasa jantan dapat mencapai 300-400 gram sedangkan betina 250-300 gram, pada waktu lahir mempunyai berat antara 5-6 gram. Rata-rata tikus dapat melahirkan 9 ekor bahkan mencapai 20 ekor. Suhu rektal tikus berkisar antara 36-39°C (rata-rata 37,5°C) (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

#### **4. Jenis kelamin**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan karena kecepatan metabolisme obat lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina dan kondisi biologis tubuh lebih stabil. Pada tikus betina mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui dan menstruasi (Sugiyanto 2010).

#### **5. Teknik memegang dan cara penanganan**

Tikus cenderung menggigit bila ditangkap, lebih-lebih jika merasa takut. Tikus sebaiknya ditangkap dengan memegang ekor pada bagian pangkal ekornya (bukan pada bagian ujungnya). Diangkat dan diletakkan di atas alas kasar atau kawat ram, kemudian tikus ditarik pelan-pelan dan dengan cepat dipegang di bagian tengukunya dengan ibu jari dan jari telunjuk dengan menggunakan tangan kelingking, sambil menunggu sesaat sebelum tikus diletakkan di atas kawat ram dengan tetap memegang ekor tikus supaya tikus tidak membalik ke tangan pemegang (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

#### **6. Cara pemberian obat**

Pemberian obat pada hewan uji dilakukan secara oral. Pemberian obat secara oral dilakukan dengan jarum khusus, ukuran 20 dan panjangnya lebih panjang 5 cm untuk memasukkan senyawa langsung melalui esofagus. Jarum ini ujungnya bulat dan berlubang ke samping, akan tetapi melalui jarum ini perlu hati-hati dalam pelaksanaannya agar dinding esofagus hewan uji tidak tembus (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

### **K. Landasan Teori**

Penelitian mengenai efek antiinflamasi pada tanaman pandan wangi telah banyak dilakukan, daun pandan wangi mengandung flavonoid yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi (antiradang) (Hapsari 2010). Flavonoid merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, dan aseton (Robinson 1995). Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi melalui efek

penghambatan jalur metabolisme asam arachidonat, pembentukan prostaklandin, pelepasan histamin, atau '*radical scavenging*' suatu molekul. Melalui mekanisme tersebut, sel lebih terlindungi dari pengaruh negatif, sehingga dapat meningkatkan viabilitas sel ( Loggia *et al.* 1986). Pada dosis 125 mg/kg BB, ekstrak etanol daun pandan wangi mempunyai efek antiinflamasi terhadap edema kaki tikus jantan yang diinduksi karagenin (Triswanto 2016).

Dalam beberapa literatur disebutkan bahwa daun pandan wangi kaya alkaloid, terpenoid, steroid, flavanoid dan saponin. Senyawa-senyawa ini berpotensi sebagai antioksidan alami (Yadial 2009). Dari beberapa kandungan tersebut, steroid, terpenoid, saponin, dan flavonoid diduga merupakan kandungan yang memiliki aktivitas antiinflamasi.

Untuk memisahkan senyawa-senyawa yang aktif sebagai antiinflamasi dari senyawa lain dilakukan proses fraksinasi ekstrak daun pandan wangi. Fraksinasi dilakukan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda,karena kelarutan suatu zat dipengaruhi oleh polaritas pelarut. Pelarut polar yang digunakan adalah air yang dapat melarutkan senyawa seperti tanin, glikosida saponin dan flavonoid. Pelarut semi polar yang digunakan adalah etil asetat, dimana fitosterol dan flavonoid dapat larut didalamnya. n-Heksana merupakan pelarut non polar yang digunakan dalam proses fraksinasi ini, pelarut ini dapat melarutkan terpenoid, triterpenoid, sterol dan alkaloid. Hasil dari fraksinasi dilakukan pengujian antiinflamasi pada hewan uji.

Pengujian antiinflamasi menggunakan metode pembentukan edema buatan dengan penginduksi lambda karagenin. Dimana karagenin memiliki tiga fase dalam pembentukan edema. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin, kedua adalah pelepasan bradikin dan fase terakhir adalah pelepasan prostaglandin.

## L. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dalam penelitian dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin.

Kedua, fraksi n-heksana, etil-asetat dan air dari ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi pada kaki tikus yang diinduksi karagenin.

Ketiga, fraksi etil-asetat ekstrak etanol daun pandan wangi yang memiliki aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada tikus yang diinduksi karagenin.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius, Roxb*) yang diperoleh secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel digunakan dalam penelitian ini adalah daun pandan wangi yang sudah tua, masih segar dan berwarna hijau.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah fraksi dari ekstrak etanol daun pandan menggunakan n-heksana sebagai pelarut nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar. Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun pandan.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun pandan wangi yang diinduksi pada hewan uji.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap tikus putih jantan.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan

kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi pengukur atau peneliti, kondisi hewan uji, laboratorium, alat-alat laboratorium, metode uji, ekstraksi dan fraksinasi.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun pandan wangi adalah daun yang diambil dari tanaman pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius,Roxb*) dari pangkal batang sampai ujung daun, yang digunakan segar dan berwarna hijau.

Kedua, ekstrak etanol daun pandan adalah ekstrak yang diperoleh dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Ketiga, fraksi n-heksan adalah filtrat hasil partisi antara ekstrak etanol daun pandan yang dipartisi dengan air dan n-heksana.

Keempat, fraksi etil asetat adalah residu hasil n-heksana yang dipartisi dengan etil asetat dan diambil filtratnya.

Kelima, fraksi air dari daun pandan wangi adalah residu sisa partisi dengan etil asetat.

Ketujuh, metode induksi inflamasi yang digunakan adalah metode pembuatan edema buatan dengan penginduksi karagenin.

Keenam, daya antiinflamasi (DAI) adalah aktivitas yang dapat diukur dari kemampuannya dalam menghambat volume edema telapak kaki yang dihasilkan akibat induksi karagenin.

## **C. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penyebuk, ayakan no. 40, bejana, micro pipet, neraca analitik, alat streling-bidwell dan corong. Alat untuk membuat ekstrak etanol daun pandan wangi yaitu alat soxhlet, kertas saring, rotary evaporator, beaker glass (pyrex), gelas ukur (pyrex), cawan porselen, mortir, stamfer, micropipet dan waterbath. Alat pengukur edema kaki tikus adalah pletismometer dengan prinsip kerja berdasarkan hukum Archimedes.

## 2. Bahan

**2.1 Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan adalah daun pandan wangi yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan Kimia yang digunakan antara lain air suling, lambda karagenin, etanol 96%, n-heksana, etilasetat, CMC-Na dan Natrum diklofenak dari PT. Kimia Farma, Bandung.

## D. Jalan Penelitian

### 1. Determinasi tanaman pandan wangi

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah menetapkan sampel yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman. Determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### 2. Pengambilan bahan

Daun pandan wangi yang diambil mulai dari pangkal batang hingga ujung daun, berwarna hijau yang masih segar dan wangi. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil lalu dikeringkan untuk menjaga keawetan dan mencegah timbulnya jamur.

### 3. Pembuatan serbuk daun pandan wangi

Bahan baku segar dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu dengan air bersih, setelah itu dirajang lalu bahan diletakkan pada loyang yang terbuat dari alumunium dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C. Bahan yang dikeringkan juga memudahkan dalam proses penyerbukan (Harborne 2006). Daun pandan yang telah kering kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan no 40. Serbuk daun pandan wangi dikemas dan disimpan dalam wadah yang inert dan tidak beracun, untuk melindungi serbuk dan mencegah kerusakan.

### 4. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun pandan wangi

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menimbang serbuk 20 gram dan ekstrak daun pandan wangi sebanyak 10 gram, masing-masing bahan dimasukkan dalam labu destilasi yang berbeda dengan ditambah pelarut xylene sampai serbuk maupun ekstrak terendam, kemudian memasang alat Sterling-

Bidwell, lalu dipanaskan dengan api kecil dan dihentikan sudah tidak ada uap air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut (Sudarmadji 2010), dan dihitung persen kadar airnya dengan rumus:

$$\text{Persen kadar air} = \frac{V}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

V : jumlah air yang terdestilasi (ml)

W : jumlah sampel yang diambil (gram), (Apriyantono dkk 1989)

### **5. Pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi**

Ekstrak dibuat dengan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 96%, diambil serbuk daun pandan wangi yang telah halus sebanyak 50 gram. Serbuk dimasukkan kedalam kertas saring dan diikat dengan tali, hal ini bertujuan agar pada saat proses ekstraksi padatan serbuk tidak terbawa oleh aliran pelarut. Alat soxhletasi dipasang, pemanas diletakkan dibawah labu alas bulat. Kebocoran dapat dihindari pada saat proses ekstraksi berlangsung, yaitu dengan mengoleskan vaselin tipis-tipis pada tiap penghubung alat-alat gelas yang digunakan. Kemudian sampel yang telah ditimbang dan dibungkus klongsong dimasukkan ke badan soxhlet. Pelarut 150 ml ditambahkan pada labu alas bulat berukuran 500 ml sampai semua serbuk terbasahi. Dilakukan 6 kali pengulangan.

Kemudian sampel dipanaskan hingga uap cairan penyari naik keatas pipa samping kemudian diembunkan oleh kondensor bola. Karena adanya pipa sifon maka setelah cairan mencapai permukaan sifon seluruh cairan kemudian turun kelabu (1 siklus), penyarian dilakukan hingga cairan penyari menjadi bening. Ekstrak yang sudah diperoleh kemudian dievaporasi dengan evaporator pada suhu penangas 50°C. Kemudian dihitung persen rendemen, dengan rumus berikut:

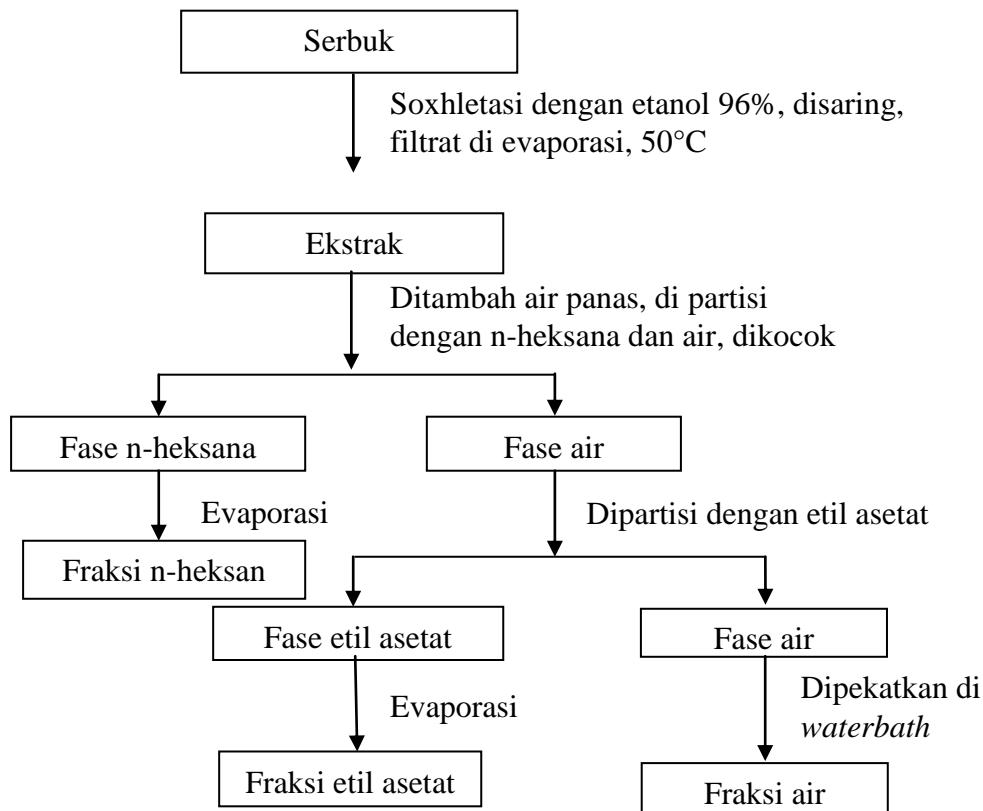
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

### **6. Fraksinasi**

Ekstrak etanol daun pandan wangi sebanyak 10 gram dipartisi dengan air panas, kemudian difraksinasi dengan n-heksana 50 ml sebanyak tiga kali dan air sebanyak 50 ml dalam corong pisah. Filtrat air lalu dipartisi di corong pisah

dengan etil asetat 50ml sebanyak tiga kali. Semua fraksi yang diperoleh dipekaktan dengan evaporator pada suhu penangas  $40^{\circ}\text{C}$  lalu ditimbang. Fraksi air juga kemudian dipekaktan di waterbath lalu ditimbang.

Alur pembuatan sediaan uji dijelaskan pada gambar di bawah ini.



**Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pandan wangi**

## 7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun pandan wangi

**7.1 Uji flavonoid.** Fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5).

Deteksi senyawa flavonoid dilakukan dengan perekasi sitroborat. Setelah dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  akan terjadi flouoresensi kuning kehijauan, pada UV 366 nm dan pada UV 254 nm berwarna gelap (Harborne 2006). Pada hasil pengamatan setelah disemprot sitroborat menunjukkan adanya flouoresensi kuning kehijauan menandakan adanya senyawa flavonoid.

**7.2 Uji saponin.** Fase gerak etil asetat : kloroform : air : asam formiat (100:13,5:10:0,2) bercak disemprot dengan pereaksi semprot Liebermann-Burchard (LB), pembuatan LB dengan 1 ml asam asetat anhidrat di campur 1 ml kloroform didinginkan pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  dan ditambahkan 1 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  konsentrat

(Sarker 2006). Setelah disemprot dipanaskan pada suhu 110°C hingga warna bercak terlihat jelas. Secara visual dengan pereaksi semprot LB memberikan warna hijau atau biru untuk saponin steroid dan warna merah muda, merah, ungu atau violet untuk saponin triterpenoid (Farnsworth 1996).

**7.3 Uji tanin.** Fase gerak kloroform : etil asetat : asam formiat (0,3:5,4:0,3), dielusi hingga batas. Lempeng dikeringkan, diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 365 nm, lalu bercak tanin direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  10% (Hellmut 1990). Menurut Harborne (2006) pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$  10% digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik. Secara visual akan memberikan warna hijau, biru, merah atau hitam.

**7.4 Uji Steroid dan triterpenoid.** Fase gerak n-heksan : Etil asetat (9:1), elusikan hingga batas angkat dan keringkan, selanjutnya disemprot dengan pereaksi anisaldehid kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 menit dideteksi menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm berwarna hijau (Harborne 2006).

## 8. Pembuatan larutan

**8.1 Larutan CMC-Na 0,5%.** Menimbang 500 mg CMC-Na dimasukkan dalam cawan penguap ditambahkan air suling secukupnya dan dipanaskan sampai mengembang. Pindahkan kedalam mortir dan gerus sambil menambahkan air suling sedikit demi sedikit sampai 100 ml, diaduk sampai homogen.

**8.2 Larutan lambda karagenin.** Larutan lambda karagenin yang digunakan sebagai zat peradang dibuat dengan cara : 100 mg lambda karagenin dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis (0,90%) hingga volume 10 ml, akan diperoleh larutan lambda karagenin 1% (b/v), sebelum disuntikkan larutan lambda karagenan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**8.3 Pembuatan natrium diklofenak.** Larutan stok ini dibuat dengan cara suspensi natrium diklofenak kedalam CMC-Na. Menimbang 500 mg CMC-Na kemudian dimasukkan kedalam cawan penguap, ditambahkan air suling secukupnya dan dipanaskan sampai mengembang. Dimasukkan kedalam mortir sambil digerus sampai homogen. Menimbang 45 mg natrium diklofenak dimasukkan kedalam mortir yang berisi suspensi CMC-Na, gerus sambil

ditambahkan air suling sampai volume 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,45 mg/ml.

**8.4 Pembuatan sediaan uji.** Pembuatan sediaan uji ekstrak dan fraksi dilakukan dengan cara menimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan ke dalam cawan penguap yang telah berisi air panas dan diaduk, tunggu 10 menit hingga mengembang. Ekstrak daun pandan wangi maupun fraksi ditimbang, lalu digerus dalam mortir dengan tujuan untuk mengecilkan partikel setelah itu ditambahkan larutan suspensi CMC-Na sampai volume yang diinginkan dan diaduk sampai homogen.

## 9. Uji pendahuluan

Pada uji pendahuluan, dosis ekstrak daun pandan wangi yang digunakan sesuai dengan penelitian sebelumnya. Menurut (Triswanto 2016) dosis efektif ekstrak etanol daun pandan wangi sebagai antiinflamasi adalah 125 mg/kg BB tikus.

## 10. Uji antiinflamasi

**10.1 Penetapan dosis natrium diklofenak.** Pada manusia dengan berat badan rata-rata 70 kg dosis Natrium diklofenak adalah 25 mg/70kg BB. Dengan menggunakan faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,45 mg/200g BB tikus.

**10.2 Penetapan dosis fraksi.** Penetapan dosis fraksi sesuai dengan hasil uji pendahuluan. Dari uji pendahuluan didapatkan dosis ekstrak daun pandan sebagai antiinflamasi, sehingga dapat ditetapkan dosis fraksi yaitu dari persen rendemen fraksi dikalikan dengan dosis ekstrak daun pandan wangi.

**10.3 Prosedur uji antiinflamasi.** Pada penelitian ini digunakan masing-masing 5 hewan uji setiap kelompok percobaan. Prosedur uji antiinflamasi yaitu tikus dipuaskan 10 jam sebelum pengujian, air minum tetap diminumkan. Tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak. Ada 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kaki kiri belakang setiap tikus yang akan diinduksi diberi tanda pada mata kaki, kemudian diukur volumenya terlebih dahulu dengan cara memasukkan telapak kaki tikus kedalam raksa hingga batas tanda. Setiap tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya.

**Tabel 1. Perlakuan Hewan Uji**

<b>Kelompok</b>	<b>Perlakuan</b>
I	Kontrol negatif (CMC-Na).
II	Kontrol positif (natrium diklofenak) dosis 0,45 mg/ 200 g BB.
III	Ekstrak etanol daun pandan wangi (300 mg/KgBB tikus).
IV	Fraksi n-heksana (65 mg/KgBB tikus).
V	Fraksi etil asetat (42 mg/KgBB tikus).
VI	Fraksi air dosis (133 mg/KgBB tikus).

Satu jam setelah penginduksian zat uji, kemudian diinduksi dengan larutan lambda karagenin 1% pada telapak kaki kiri belakang dengan volume 0,1 ml. Volume telapak kaki diukur pada menit ke 30, 60, 120, 180, 240, 300 dan 360 setelah diinduksi lambda karagenin dengan cara memasukkan telapak kaki tikus ke dalam alat pletismometer hingga tanda batas. DAI obat uji ditunjukkan oleh kemampuannya dalam menghambat volume edema telapak kaki yang dihasilkan akibat induksi lambda karagenin (Winter *et al.* 1962). Hitung AUC (Area Under Curve) dan DAI (Daya Antiinflamasi). Semua data yang diperoleh dianalisis secara statistik terhadap volume telapak kaki dan dihitung presentase penghambatan edema. Daya antiinflamasi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

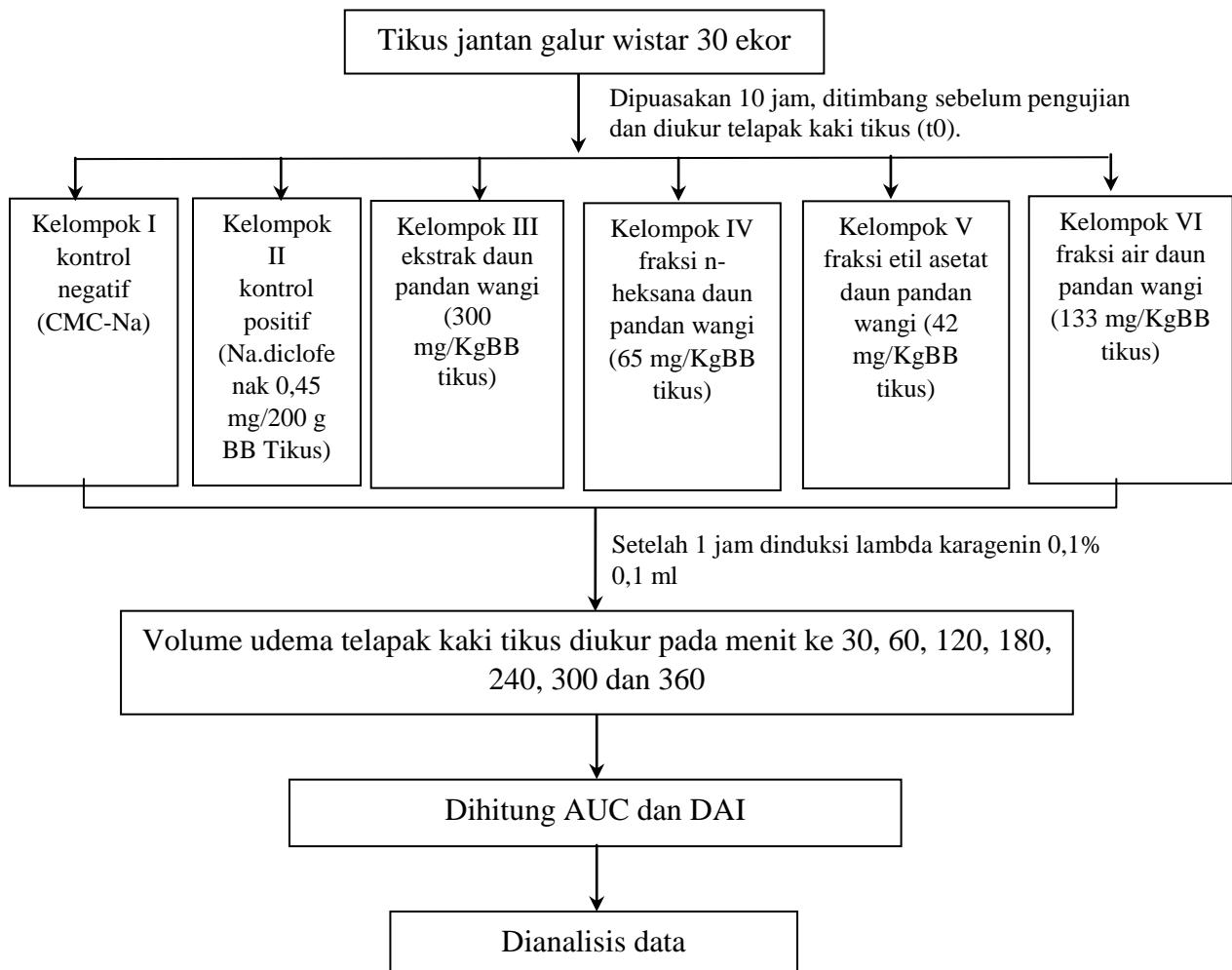
$$\text{DAI} = \frac{\text{AUC}_k - \text{AUC}_p}{\text{AUC}_k} \times 100\%$$

Keterangan :

$\text{AUC}_k$  : AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kontrol negatif

$\text{AUC}_p$  : AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kelompok perlakuan tiap individu.

Alur pengujian antiinflamasi dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



**Gambar 5. Alur pengujian antiinflamasi zat uji**

### E. Analisa Data

Pengaruh pemberian fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol 96% daun pandan wangi terhadap efek antiinflamasi dilakukan dengan menghitung volume edemanya.

$$V_u = V_t - V_o \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan :

$V_u$  : volume edema kaki tikus tiap waktu t

$V_t$  : volume edema kaki tikus setelah diradangkan dengan karagenan 1% pada waktu (t)

$V_o$  : volume edema kaki tikus sebelum dikaragenan 1%

Setelah didapat data volume edema, kemudian dibuat kurva perbandingan volume edema versus waktu. Kemudian dihitung AUC (*Area under the curve*) yaitu luas daerah rata-rata dibawah kurva yang merupakan hubungan volume edema rata-rata tiap satuan waktu. Dengan rumus :

$$AUC_{n-1} = \frac{Vt_{n-1} + Vt_n}{2} (t_n - t_{n-1}) \quad \dots \dots \dots (2)$$

## Keterangan :

**V<sub>t<sub>n-1</sub></sub>** : volume edema rata-rata pada t<sub>n-1</sub>

$Vt_n$  : volume rata-rata pada  $t_n$

Daya antiinflamasi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$DAI = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\% \quad \dots \dots \dots \quad (3)$$

## Keterangan :

AUC<sub>k</sub> : AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kontrol negatif

AUC<sub>P</sub> : AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kelompok perlakuan tiap individu.

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Kolmogorov Smirnov* untuk melihat distribusi data dan dianalisis dengan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan uji LSD untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. Jika salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis untuk melihat adanya perbedaan. Apabila terdapat perbedaan bermakna dilakukan uji Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian Tanaman**

Determinasi tanaman pandan wangi dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hasil determinasi tanaman pandan wangi sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801-802b-803b-804a. **225. Pandanaceae.** 1b. **2. Pandanus.** 1b-25a-26a-27a. **Pandanus amaryllifolius Roxb.** Hasil dapat dilihat pada lampiran 1.

#### **B. Persiapan Bahan**

##### **1. Hasil Pengeringan dan pembuatan serbuk daun pandan wangi**

**Tabel 2. Hasil pengeringan daun pandan wangi**

<b>Berat Basah (g)</b>	<b>Berat Kering (g)</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>	<b>LOD (%)</b>
7500	1500	20	80

Hasil rendemen berat daun pandan wangi dari berat basah yaitu berat daun pandan wangi basah 7500 gram menghasilkan berat serbuk kering daun pandan wangi sebesar 1500 gram, sehingga rendemennya adalah 20 %. Daun pandan wangi dijadikan serbuk untuk meningkatkan efektivitas proses penyarian. Data perhitungan dapat dilihat dalam lampiran 6.

Pengeringan bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman. Selain itu pengeringan juga dapat dilakukan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan jamur, dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Jika tidak dilakukan pengeringan maka akan terjadi kerusakan akibat peruraian zat aktif secara enzimatis seperti hidrolisis, oksidasi dan polimerisasi.

Berikut adalah hasil pembuatan serbuk daun pandan wangi:

**Tabel 3. Hasil pembuatan serbuk daun pandan wangi.**

<b>Berat Kering (g)</b>	<b>Serbuk Kering (g)</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>	<b>LOP (%)</b>
1500	1050	70	30

Hasil rendemen berat serbuk daun pandan wangi terhadap berat daun pandan wangi kering yakni 70%. Tujuan dari pengayakan ini agar partikel yang dihasilkan menjadi seragam sehingga pengekstraksian dapat berlangsung efektif. Data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 7.

## 2. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi

**Tabel 4. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi**

No	Kadar lembab (%)
1	4,5
2	4,5
3	4,0
<b>Rata-rata</b>	<b>4,3±0,29</b>

Penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi diperoleh menggunakan Moisture balance. Penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi dilakukan 3 kali dan didapatkan rata-rata 4,3%. Hasil ini menunjukkan bahwa susut pengeringan serbuk daun pandan wangi memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes 1979). Data pengukuran kadar lembab dapat dilihat pada lampiran 8.

## 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi

**Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi**

No	Kadar Air (% v/b)
1	6,5
2	6,0
3	6,0
<b>Rata-rata</b>	<b>6,2±0,3</b>

Kadar air rata-rata yang diperoleh dari serbuk daun pandan wangi sebesar 6,2%. Kandungan air pada sampel tersebut masih di bawah 10%, yang artinya serbuk tersebut memenuhi syarat dan menunjukkan bahwa serbuk daun pandan wangi dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama untuk digunakan lebih lanjut. Bila kadar air yang terkandung dalam suatu bahan kurang dari 10% maka kestabilan optimum bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat

dikurangi, karena air merupakan media yang baik untuk perkembangbiakan bakteri (Depkes 1979). Perhitungan kadar air serbuk dapat dilihat pada lampiran 9. Hasil penetapan kadar air lebih tinggi daripada hasil penetapan kelembapan serbuk, hasil ini kemungkinan disebabkan karena waktu pengujian kelembapan serbuk dibatasi hanya 5 menit sehingga penguapan tidak maksimal akibatnya hasil hasil tidak maksimal, dan pada waktu selesai uji kelembapan serbuk tidak langsung melakukan uji penetapan kadar air akibatnya serbuk kembali lembab karena penyimpanan. Sehingga didapatkan hasil uji kadar air lebih besar dari uji kelembapan serbuk.

#### **4. Hasil pembuatan Ekstrak etanol daun pandan wangi**

**Tabel 6. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi**

<b>Penimbangan (g)</b>	<b>Ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen (%b/b)</b>
300	<b>70,222</b>	<b>23,41</b>

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa dari 300 gram bahan serbuk daun pandan wangi yang disoxhletasi dengan etanol 96% diperoleh ekstrak sebanyak 70,222 gram dengan pesentase rendemen sebanyak 23,41%. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada lampiran 10.

#### **5. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi**

**Tabel 7. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi**

<b>No</b>	<b>Kadar Air (% v/b)</b>
1	7,96
2	6,99
3	6,99
<b>Rata-rata</b>	<b>7,31±0,56</b>

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi adalah sebesar 7,31 %, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10%. Perhitungan kadar air ekstrak dapat dilihat pada lampiran 11.

## 6. Hasil pembuatan fraksi-fraksi daun pandan wangi

Tabel 8. Hasil pembuatan fraksi-fraksi daun pandan wangi

<b>Ekstrak (g)</b>	<b>Fraksi</b>	<b>Fraksi Kental (g)</b>	<b>Rendemen Fraksi (%)</b>	<b>Total Rendemen (%)</b>
10	n-Heksana	2,312	23,12	79,55
	Etil asetat	1,210	12,10	
	Air	4,433	44,33	
10	n-Heksana	1,979	19,79	79,87
	Etil asetat	1,601	16,01	
	Air	4,407	44,07	

Tabel diatas menunjukkan hasil dari 2 kali fraksinasi ekstrak etanol daun pandan wangi, masing-masing didapatkan total rendemen sebanyak 79,55% dan 79,87%. Rendemen terbanyak diperoleh oleh fraksi air. Perhitungan persen rendemen fraksi dapat dilihat pada lampiran 12.

## 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia

<b>Identifikasi</b>	<b>Ekstrak</b>	<b>Fraksi n-Heksan</b>	<b>Fraksi Etil Asetat</b>	<b>Fraksi Air</b>
Flavonoid	+	-	+	+
Saponin	+	-	+	+
Tanin	+	-	+	+
Steroid	+	+	-	-

Keterangan :

+ = Mengandung senyawa

- = Tidak mengandung senyawa

Hasil identifikasi kandungan senyawa flavonoid secara kromatografi lapis tipis (KLT) secara visual setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat menunjukkan bercak berwarna hijau kekuningan memudar kurang jelas, jika dilihat dengan UV 254 nm terlihat bercak berwarna hijau gelap, sedangkan jika dilihat dengan UV 366 nm terlihat bercak tampak berfluoresensi hijau. Bercak yang tampak berfluoresensi menunjukkan adanya ikatan terkonjugasi lebih panjang (Wagner 2001). Hasil identifikasi positif flavonoid ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun pandan wangi, fraksi etil asetat dan fraksi air daun pandan wangi. Hasil positif juga ditunjukkan oleh baku pembanding flavonoid yaitu rutin 0,1 %, yang menunjukkan bercak berwarna hijau pudar. Hasil ini sesuai dengan penelitian

Ghasemzadeh et al. (2013) dan Jimtaisong & Panvipa (2013), dimana flavonoid yang terdapat dalam daun pandan wangi adalah kuersetin, epikatekin, katekin, naringin, kaempferol dan rutin. Menurut penelitian Mari *et al.* 2007, flavonoid genistein, kaempferol, kuercetin, dan daidzein menghambat aktivitas STAT-1 dan NF-kB. Isorhamnetin, naringin dan pelargonidin hanya menghambat aktivitas NF-kB, dan beberapa senyawa fenolik memberikan aktivitas penghambatan ekspresi iNOS dan produksi NO saat macrophage diaktivasi.

Identifikasi kandungan senyawa saponin didapatkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pandan wangi. Hasil positif secara visual terlihat bercak berwarna hijau setelah dilakukan penyemprotan dengan pereaksi LB. Pada UV 366 nm bercak nampak berwarna violet dan jika dilihat dengan UV 254 nm bercak memudar, timbulnya bercak berwarna violet menegaskan adanya kandungan senyawa saponin dalam ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air daun pandan wangi. Untuk pembanding saponin, pada UV 366 nm terlihat bercak merah muda dan pada UV 254 nm bercak memudar.

Uji identifikasi tanin didapatkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air daun pandan wangi. Pada UV 254 nm bercak terlihat kehitaman, dan pada UV 366 bercak memudar. Untuk pembanding asam galat bercak terlihat jelas setelah di semprot dengan  $\text{FeCl}_3$  berwarna biru kehitaman.

Hasil identifikasi steroid dan triterpenoid secara KLT secara visual terlihat warna biru, pada UV 366 terlihat bercak berwarna hijau gelap dan hampir tidak terlihat karena bercak yang dominan berwarna merah muda sedangkan pada UV 254 nm terjadi peredaman. Hasil ini sesuai dengan penelitian Singh dan Parle (2015), yaitu jenis-jenis steroid dalam tanaman pandan adalah  $\alpha$ -spinasterol, stigmast-7-en-3 $\beta$ -ol,  $\alpha$ -spinasterolcaproate, stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-one.

### C. Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi

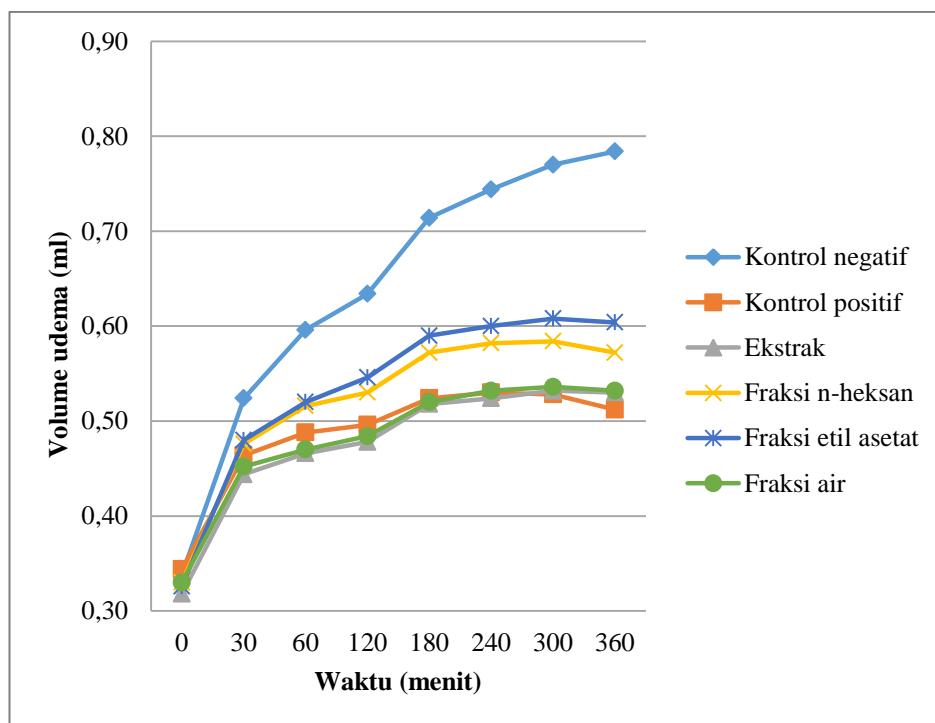
#### 1. Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan bertujuan untuk mengetahui dan menentukan dosis efektif ekstrak etanol daun pandan wangi. Pada uji pendahuluan menggunakan 4

kelompok hewan uji (masing-masing kelompok 2 hewan uji), dengan perlakuan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 125 mg/KgBB dan ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 250 mg/KgBB. Dari uji pendahuluan didapatkan hasil bahwa dosis 250 mg/KgBB merupakan dosis yang daya antiinflamasinya paling mendekati kontrol positif. Hasil daya antiinflamasi dari dosis pendahuluan kurang bagus untuk dikatakan sebagai dosis efektif, sehingga dipilihlah dosis efektif untuk ekstrak etanol daun pandan wangi adalah 300 mg/KgBB. Data hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada lampiran 12. Sehingga dari hasil tersebut maka dapat ditetapkan dosis uji untuk fraksi n-heksana, etil asetat dan fraksi air. Penetapan dosis fraksi n-heksana daun pandan wangi adalah sebagai berikut 65 mg/KgBB, dosis fraksi etil asetat adalah 42 mg/KgBB, dan dosis fraksi air adalah 133 mg/KgBB.

## 2. Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan uji aktivitas antiinflamasi adalah volume telapak kaki tikus, di bawah ini merupakan kurva rata-rata telapak kaki tikus tiap perlakuan:



Gambar 6. Rata-rata volume kaki tikus

Dari gambar di atas terlihat bahwa volume telapak kaki tikus pada keseluruhan kelompok meningkat 30 menit setelah pemberian karagenin dan bertahan sampai menit ke 360. Pada kelompok kontrol negatif CMC-Na yang diinduksi karagenin volume telapak kaki tikus meningkat tanpa mengalami penurunan karena CMC-Na merupakan *suspending agent* yang tidak memiliki aktivitas antiinflamasi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Morris (2003) dan Lumbanraja (2009) bahwa karagenin dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin berlangsung selama 90 menit, histamin dan serotonin akan dilepaskan dari sel ketika terjadi reaksi hipersensitivitas atau rusaknya sel. Pelepasan histamin ini dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 jam hingga 2,5 jam setelah diinduksi. Bradikinin bereaksi lokal menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas kapiler dan meningkatkan potensi dilepaskannya prostaglandin. Fase terakhir pada 3 jam setelah induksi terjadi pelepasan prostaglandin, prostaglandin sebagai penyebab radang akan berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator-mediator inflamasi yang dilepaskan secara lokal, seperti histamin, serotonin, dan leukotrien. Akibatnya volume edema maksimal terjadi pada fase ini dan bertahan 5 jam setelah induksi karagenin. Selain itu terjadi juga fagosit ke daerah inflamasi akibatnya terjadi pembengkakkan pada daerah tersebut (Hamor 1996).

Berdasarkan hasil statistik perlakuan terhadap volume kaki tikus tiap waktu pada kelompok kontrol positif yang diinduksi natrium diklofenak dengan dosis 0,45 mg/200gBB tikus, volume telapak kaki tikus meningkat pada menit ke 30, mengalami peningkatan secara lambat sampai menit ke 180, dan relatif stabil sampai menit ke 360. Natrium diklofenak memberikan efek terapi penghambatan edema yang dimulai pada menit ke 30. Natrium diklofenak merupakan obat golongan AINS yang bekerja menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam metabolisme arakhidonat menjadi prostaglandin (Tjay dan Kirana 2002). Absorpsi natrium diklofenak berlangsung cepat dan lengkap, natrium diklofenak terikat 99% pada protein plasma, mengalami first pass effect sebesar 40-50%,

memiliki waktu paruh 1-2 jam, serta memiliki onset 30 menit dan durasi 8 jam (Katzung 2007).

Pada kelompok ekstrak etanol daun pandan wangi 300 mg/KgBB tikus dan fraksi air daun pandan wangi 133 mg/KgBB tikus, memberikan gambaran data statistik perlakuan terhadap volume kaki tikus tiap waktuyang sebanding dengan kelompok kontrol positif dan berbeda bermakna dengan kontrol negatif CMC-Na, dimana peningkatan volume udema dimulai dari menit ke 30, kemudian diikuti dengan peningkatan volume secara lambat sampai menit ke 180, dan relatif stabil sampai menit ke 360. Hasil ini sesuai dengan penelitian Triswanto (2016), ekstrak etanol daun pandan wangi dengan dosis 250 mg/KgBB tikus, menghambat volume udema yang dimulai pada menit ke 60, kemudian stabil sampain menit ke 210, dan kurva volume udema berangsut turun sampai menit ke 330.

Pada kelompok fraksi n-heksan dosis 65 mg/KgBB tikus dan fraksi etil asetat dosis 42 mg/KgBB tikus, berdasarkan hasil statistika perlakuan terhadap volume kaki tikus tiap waktu, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan kontrol negatif, kontrol positif, kelompok ekstrak dan fraksi air, serta statistika menunjukkan fraksi n-heksan sebanding dengan fraksi etil asetat. Peningkatan volume udema kaki tikus dimulai dari menit ke 30, dan peningkatan bertahp sampai volume maksimal tercapai pada menit ke 180, selanjutnya kurva relatif stabil sampai menit ke 360. Selanjutnya data volume edema dapat dihitung dari data volume telapak kaki tikus hasil pengukuran, yang kemudian digunakan untuk menghitung AUC (*Area Under Curve*).

**Tabel 10. Rata-rata AUC dan rata-rata DAI(%)**

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Rata-rata AUC±SD</b>	<b>Rata-Rata DAI(%)±SD</b>
CMC-Na	0,289±0,004	-
Kontrol positif	0,136±0,011	52,787±3,214
Ekstrak	0,151±0,012	47,543±3,347
Fraksi n-heksan	0,183±0,011 <sup>a</sup>	36,568±3,100 <sup>a</sup>
Fraksi etil asetat	0,200±0,015 <sup>a</sup>	30,630±4,653 <sup>a</sup>
Fraksi air	0,146±0,017	49,548±5,794

Ket :

<sup>a</sup> : berbeda makna dengan kontrol positif berdasarkan homogeneous subsets.

DAI ditunjukkan dengan semakin kecilnya AUC, semakin kecil nilai AUC yang diperoleh semakin besar kemampuan DAI sediaan uji yang diberikan pada kelompok perlakuan. Hasil Uji Statistik menunjukkan data AUC dan DAI terdistribusi normal dengan signifikansi  $AUC(0,370 > 0,05)$  dan  $DAI(0,359 > 0,05)$  dan homogen dengan nilai signifikansi  $AUC(0,205 > 0,05)$  dan  $DAI(0,070 > 0,05)$ . Hasil yang diperoleh dari uji *One Way ANOVA* untuk AUC dan DAI menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi  $(0,000 < 0,005)$ . Pada uji LSD diketahui terdapat perbedaan bermakna, nilai AUC dan DAI kelompok ekstrak dan fraksi-fraksi daun pandan wangi dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa kelompok ekstrak dan fraksi-fraksi daun pandan wangi dapat menghambat inflamasi akibat induksi karagenin. Selain itu hasil statistika menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air tidak berbeda makna dengan kelompok natrium diklofenak. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air daun pandan wangi mempunyai efek antiinflamasi yang sebanding dengan kelompok kontrol positif natrium diklofenak.

Hasil DAI kelompok ekstrak daun pandan wangi 300mg/KgBB tikus sebesar 47,543%, hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Triswanto (2016) dengan dosis 250mg/KgBB tikus memberikan efek DAI sebesar 42,44% dan flavonoid merupakan kandungan dari daun pandan wangi yang diduga berperan sebagai antiinflamasi. Dari hasil identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT diperoleh bahwa ekstrak pandan wangi mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Flavanoid, glikosida, alkaloid, steroid, terpenoid, saponins dan tanin yang banyak terdapat pada tanaman pandanaceae dapat bersifat sebagai antiinflamasi, sesuai dengan penelitian Londonkar (2010), Panda *et al.* (2008), dan Triswanto (2016).

.Flavonoid dalam pandan wangi diduga bekerja dengan memblok histamin maupun mediator inflamasi lain dan dapat menginhibisi *nuclear factor* dan *signal transducer and activator of transcription 1* (STAT 1) (Xie *et al.* 1994). Saponin diduga mampu berinteraksi dengan membran lipid, seperti fosfolipid yang merupakan prekursor prostaglandin dan mediator-mediator lainnya, saponin

diduga juga mampu menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vaskuler (Pinheiro *et al.* 2013). Menurut Singh dan Parle (2015), jenis-jenis steroid dalam tanaman pandan adalah  $\alpha$ -spinasterol, stigmast-7-en-3 $\beta$ -ol,  $\alpha$ -spinasterol caproate, stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-one. Steroid ini mampu menginhibisi nitrit oksida sintase dan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-4, IL-8 dan IL-12, steroid juga berpotensi menginhibisi aktivasi faktor transkrpsi seperti *nuclear factor (NF- $\kappa$ B)* yang merupakan pengatur inflamasi dan respon imun (Rungeler *et al.* 1999). Sedangkan menurut Simon dan Kerry (2000), senyawa tanin baik dalam bentuk bebas dan maupun dalam bentuk kompleks dengan protein dapat bekerja sebagai antiinflamasi.

Pada penelitian ini fraksi air dengan dosis 133mg/KgBB tikus memiliki DAI paling tinggi yaitu 49,548%, dimana pada data homogeneous subsets fraksi air sebanding dengan kontrol positif natrium diklofenak.. Hasil ini didukung oleh penelitian Agustiningsih (2010), bahwa pada hasil optimasi cairan menggunakan penyari etanol 96% didapatkan kadar fenolik total 478,7629 mg/g ekstrak daun pandan wangi dan kadar flavonoid total 99,4096 mg/g ekstrak. Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida (Markham 1982). Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena pada umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel (Harbone 2006). Hasil ini juga didukung dengan identifikasi secara KLT, bahwa pada fraksi air menunjukkan fluouresensi hijau. Bercak yang tampak berfluouresensi menunjukkan adanya ikatan terkonjugasi lebih panjang (Wagner 2001). Bercak dengan fluouresensi berwarna hijau tersebut, diduga karena kompleks senyawa fenolik dari daun pandan wangi termasuk flavonoid dan polifenol yang berikatan dengan glikosida sehingga cenderung mudah larut dalam pelarut air. Sehingga dalam proses fraksinasi didapatkan persen rendemen dari fraksi air yang paling tinggi diantara fraksi-fraksi yang lain, yaitu 44,20%. Besarnya persen rendemen dari fraksi air mempengaruhi aktivitasnya sebagai antiinflamasi.

Pada hasil KLT, fraksi air positif mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid yang terdapat dalam daun pandan wangi adalah kuersetin, epikatekin, katekin, naringin, kaempferol dan rutin (Ghasemzadeh et al. 2013, Jimtaisong & Panvipa 2013). Kaempferol dan kuercetin mampu menghambat aktivitas STAT-1 dan NF-kB (Mari *et al.* 2007). Telah ditemukan bahwa kuercetin menghambat sekresi mitogen yang merangsang imunoglobulin, isotipe IgG, IgM, dan IgA secara *in vitro* (Cumella *et al.* 1987). Kuersetin dan katekin memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi, dimana aktivitas antioksidan tersebut memungkinkan flavonoid untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak dan proses inflamasi dapat terhambat (Lugasi *et al.* 2003). Sebagai zat antiinflamasi kaempferol mampu mempengaruhi fungsi leukosit dalam menghambat pelepasan glukosaminase dan lysozym (Wei *et al.* 2001). Naringin hanya mampu menghambat aktivitas NF-kB (Mari *et al.* 2007). Beberapa flavonoid dilaporkan menghambat adhesi, agregasi, dan sekresi trombosit secara signifikan pada konsentrasi 1-10mM (Beretz & Cazenave 1988). Efek flavonoid pada penghambatan adhesi, agregasi, dan sekresi trombosit, dikaitkan dengan penghambatan metabolisme asam arakidonat oleh karbon monoksida (Corvazier & Maclouf 1985).

Selain flavonoid, saponin diduga mampu menginhibisi produksi NO dan menurunkan produksi prostaglandin dan TNF (Jung *et al.* 2005). Adanya senyawa fenolik dan polifenol yang banyak terdapat dalam kandungan fraksi air daun pandan wangi, mendukung aksinya sebagai antiinflamasi melalui aktivitas polifenol sebagai antioksidan (Hernani & Raharjo 2005). Antioksidan terlibat dalam proses perbaikan sel yang rusak. Kerusakan sel yang diakibatkan oleh adanya radikal bebas dapat diatasi dengan adanya antioksidan yang berfungsi sebagai agen penurun oksidator sebelum merusak sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi. Beberapa penelitian antioksidan polifenol mampu mengurangi stres oksidatif dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai pengubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) polifenol untuk mengikat radikal bebas

dan membuangnya melalui sistem eksresi (Zheng & Wang 2001). Menurut penelitian Jimtaisong & Panvipa (2013) daun pandan wangi dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  dari dosis ekstrak 0,810 mg/ml. Dan menurut penelitian Ghasemzadeh *et al.* 2013, aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  diperoleh dari dosis ekstrak daun pandan wangi sebesar 0,640 mg/ml.

Pada penelitian ini fraksi n-heksan dengan dosis 65mg/KgBB tikus memberikan DAI sebesar 36,568%. Fraksi n-heksan memiliki daya antiinflamasi diatas DAI fraksi etil asetat, yaitu sebesar 30,631%. Hasil uji identifikasi senyawa dengan KLT, fraksi n-heksan mengandung senyawa steroid. Steroid dalam daun pandan wangi diduga memiliki mekanisme kerja menghambat aktivitas fosfolipase sehingga mencegah pelepasan awal asam arakhidonat yang diperlukan untuk mengaktifasi jalur enzim berikutnya (Katzung 2002). Menurut Sarker (2006), etil asetat dapat melarutkan senyawa flavonoid, dan hasilnya sesuai dalam penelitian ini fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Ketiganya merupakan senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi, tetapi pada penelitian ini fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan DAI terendah dibandingkan dengan fraksi yang lain. Hal ini diduga karena rendemen yang diperoleh pada saat fraksinasi paling kecil dibandingkat fraksi-fraksi yang lain. Aktivitas antiinflamasi flavonoid diduga aksinya sebagai antihistamin. Histamin merupakan mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Flavonoid dapat menghambat histamin dari sel mast (Nijveldt *et al.* 2001). Saponin diduga bekerja dengan menghambat dehidrogenase prostaglandin, sehingga peradangan dapat dikurangi (Jung *et al* 2005).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Hasil penelitian aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb) pada tikus yang diinduksi karagenin dapat disimpulkan sebagai berikut

Pertama, ekstrak etanol daun pandan wangi 300 mg/KgBB memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin dan sebanding dengan kontrol positif.

Kedua, fraksi n-heksan 65 mg/KgBB, fraksi etil asetat 42 mg/KgBB, dan fraksi air 133 mg/KgBB dari ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenin.

Ketiga, fraksi air 133 mg/KgBB dari ekstrak etanol daun pandan wangi merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada tikus yang diinduksi karagenin dan sebanding dengan kontrol positif.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antiinflamasi dengan menggunakan metode fraksi yang lain.

Kedua, perlu dilakukan uji toksisitas pada fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*, Roxb) untuk mengetahui keamanan dan batasan dosis.

## DAFTAR PUSTAKA

- [FK UI] Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. 1995. *Farmakologi dan Terapi* FK UI. Jakarta: FK UI. hlm 209-210, 219.
- [PERDOSKI] Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia. 2009. *Kategori Galeri Kesehatan; Dermatitis Kontak*. PERDOSKI.
- Agustiningsih, Wildan A, Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Secara Maserasi Terhadap Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total. *Momentum* 7:36-41.
- Apriyanto A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Budiyanto S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analis Pangan*. Bogor: Universitas Pangan dan Gizi IPB. hlm 7-9.
- Beretz A, Cazenave JP. 1988. *The Effect of Flavonoids on Bloodvessel Wall Interactions*. Di dalam: Cody V, Middleton E, Harborne JB, Beretz A, editor. *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*. New York, USA : Alan R. Liss, Inc. hlm 187–200.
- Bibitbunga. 2017. *Tanaman Pandan Wangi* (pandan leaves). <http://bibitbunga.com/?s=pandan+wangi> [ 12 Januari 2017]
- Campden instruments ltd. 2017. *Plethysmometer Test for Mice and Rats Model i520*. <https://campdeninstruments.com/products/plethysmometer-test>. [ 12 Januari 2017]
- Corvazier E, Maclouf J. 1985. Interference of Some Flavonoids and Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs with Oxidative Metabolism of Arachidonic Acid by Human Platelets and Neutrophils. *Biochimica et Biophysica Acta* 835: 315–321.
- Corwin, Elizabeth J. 2008. *Handbook of Pathophysiology*. Ed ke-3. Philadelphia: Lippincort Williams & Wilkins. hlm 138-143.
- Cumella JC, Faden H, Middleton F. 1987. Selective Activity of Plant Flavonoids on Neutrophil Chemiluminescence (CL). *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 77 : 131.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Dalimartha S. 2002. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Cetakan I. Jakarta: Trubus Agriwidya.

- Dalimartha S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Depkes RI. 1962. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-1. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-3. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. hlm 12.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 4-6.
- Depkes RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2007. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 10.
- Depkes RI. 2014. *Kebijakan dan Program Pengembangan Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat dan Pusat Ekstrak Daerah Untuk Mendukung Kemandirian Bahan Baku Obat*. Rapat Konsultasi Teknis Direktorat Bina Produksi dan Distribusi Kefarmasian; Makassar, 23-25 April2014. Makasar: Depkes. hlm 6.
- Dorland WN. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Ed ke-29. Jakarta: EGC. hlm 68-556.
- Dorland WN. 2008. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Y. B. Hartanto, W. K. Nirmala, Ardy, S. Setiono, editor. Ed ke-28. Jakarta: Elsevier.
- Farnsworth NR. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science* 55(3).
- Ghasemzadeh, Ali, Jaafar. 2013. Profiling of Phenolic Compounds and their Antioxidant and Anticancer Activities In Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Extracts From Different Locations of Malaysia. *BMC. Complementary and Alternative Medicine* 13:341.
- Gilman AG. 2007. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Ed ke-10, Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, penerjemah; Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi*. Jilid ke-1. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Hamor GH. 1996. *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. Lea, Febiger, penerjemah; Foye WO, editor. Yogyakarta: UGM Press. Terjemahan dari: *Principle of Medicinal Chemistry*.
- Hapsari L, Mulyani W. 2010. *Pembuatan Konsentrat Zat Warna untuk Bahan Makanan dari Daun Pandan (Pandanus Amaryllifolius Roxb) dan Biji Kesumba (Bixa Orellana Linn Beserta Penerapannya* [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung : Penerbit ITB.
- Haznawati H. 2013. *Fraksinasi*. <http://darknessthe.blogspot.com>. [ 12 Desember 2016]
- Hellmut J. 1990. *Thin Layer Chromatography Reagents and Detection Methods*. Vol 1a. hlm 401.
- Hernani, Raharjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hudyono J. Nov 2002. *Dermatosis akibat kerja*. Majalah Kedokteran Indonesia.
- Jimtaisong A, Panvipa K. 2013. Antioxidant Activity of Pandanus amaryllifolius Leaf and Root Extract and its Application in Topical Emulsion. *Trop J Pharm* 3: 425.
- Jung HJ et al. 2005. Isolation of Saponins with The Inhibitory Effect on Nitric Oxide, Prostaglandin E2 and Tumor Necrosis Factor Production from Pleurospermum kamtschaticum. *Biol Pharm Bull* 28: 1668-1671.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-8. Jakarta: Salemba Medika. hlm 567.
- Katzung BG. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-13. Buku 3. Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Katzung BG. 2007. *Basic and Clinical Pharmacology*. Ed ke-10. McGraw Hill Lange. hlm 566-568.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloid*. Medan : fakultas MIPA. Universitas Sumatra Utara.

- Loggia RD, Tubaro A., Dri P, Zilli C., Del Negro P. 1986. *The Role of Flavonoids in the Antiinflammatory Activity of Chamolia recutita. Plant Flavonoid in Biology dan Medicine. Biochemical, Pharmaceutical and Structure Activity Relationship.* Alan R. Liss, Inc. Pp. 481-484
- Londonkar R. 2010. Anti-Inflammatory Activity of *Pandanus odaratissimus* extract. *International Journal of Pharmacology* 6: 311-314.
- Lugasi A, Hovari J, Sagi KV, Biro L. 2003. The Role of Antioxidant Phytonutrients In the Prevention of Disease. *Acta Biologica Szegedensis* 47:119-125.
- Lumbanraja LB. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L) terhadap radang pada tikus [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Mansjoer, Soewarni. 2003. *Mekanisme Kerja Obat Antiradang.* Medan : Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara..
- Mari H, Riina N, Pia V, Eeva M. 2007. Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: *Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF-κB Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF-κB Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages.* *Mediators of Inflammation* 10.1155/2007/45673
- Markham KR. 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Alih Bahasa: Kosasih Padmawinata (1908). Bandung: ITB.
- Morris Christoper J. 2003. *Carrragenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse.* Di dalam: P. G. Winyard and D. A. Willoughy, editor. *Methods in Molecular Biology.* Vol ke-225.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar.* Jakarta: Widya medika. hlm 407-415.
- Nijveldt RJ et al. 2001. Flavonoids: a Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications. *American Journal of Clinical and Nutrition* 74: 422.
- Olson DM. 2003. *The Rule of Prostaglandins in The Initiation of Parturition.* University of Alberta. Edmonton, Canada.
- Panda P, Panda DP, Panda PK, Nayak SS. 2008. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Pandanus fascicularis* Lamk. leaves in animal models. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 7: 485-493.

- Patel, Mitul, Murugananthan, Sivallingae GKP. 2012. A Review :*In Vivo* Animal Models in Preclinical Evaluation of Antiinflammatory Activity. *International Journal of Pharmateucical Research and Allied Science* 1:1-5.
- Pinheiro MMG, Fernandes SBO, Fingolo CE, Boylan F, Fernandes PD. 2013. Anti-inflammatory Activity of Ethanol Extract and Fractions From *Couroupita guianensis* Aublet leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 146.
- Price SA, Wilzon LM. 2005. *Patofisiologi; Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Ed ke-4. Diterjemahkan oleh P. Nugraha. Jakarta : EGC. hlm 36-50.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-2. Bandung : Institut Teknologi Bandung. hlm 71, 156, 191.
- Rowe Raymond C, Paul J Sheskey, Marian E Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Ed ke-6. London: Pharmaceutical Press. 122-125.
- Rungeler P et al. 1999. Inhibition of Transcription Factor *NF-kappa B* by Sesquiterpene Lactones: a Proposed Molecular Mechanism of Action. *Bioorg Med Chem* 7: 2343-2352.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. hlm 30-32, 340-342.
- Simon K, Kerry B. 2000. *Principles and Practice of Phytotherapy. Modern Herbal Medicine*. New York: Churchill livingstone. hlm 32, 69, 291.
- Singh G, Parle A. 2015. Unique pandanus - Flavour, food and medicine. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5: 08-14
- Smith JN, Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembibakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Sudarmadji S. 2010. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sugiyanto. 2010. *Petunjuk Praktikum Farmakologi Dasar*. Edisi 20. Yogyakarta: Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi UGM.
- Taufik LH, Wahyuningtyas N, Wahyuni AS. 2008. Efek antiinflamasi Ekstrak Patikan Kebo (*Euphorbia hirta l*) Pada tikus Putih Jantan.

- Tjay TH, Kirana R. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Sampingnya*. Ed ke-5. Jakarta : PT. Elexmedia Komputindo Kelompok Gramedia. hlm 313.
- Trifany AW. 2012. *Kromatografi Kolom*. <http://data-farmasi.blogspot.com>. [ 12 Desember 2016].
- Triswanto S. 2016. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius, Roxb) Pada Mencit Jantan (Mus musculus)*. Samarinda: Akademi Farmasi Samarinda
- Ugo Basile SRL. 2013. *Plethysmometer Cat. No. 37140*. <https://www.ugobasile.com>. [12 Januari 2017]
- Vogel HG. 2002. *Drug Discovery and Evaluation : Pharmacological Assays*. Ed ke-2. Germany: Springer. hlm 1047, 1094-1103.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerrono. Ed ke-5. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Wagner H, Bladt S. 2001. *Plant Drug Analysis: a Thin Layer Chromatography Atlas*. Ed ke-2. Germany : Springer. hlm 196-197
- Wei BL; Lu CM; Tsao LT; Wang JP; Lin CN. 2001. In vitro anti-inflammatory effects of quercetin 3-O-methyl ether and other constituents from Rhamnus species. *Planta Med* 67:745-747.
- Weny E. 2009. *Pengaruh Ekstrak Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.) 6 mg/gr BB Terhadap Waktu Induksi Tidur dan Lama Waktu Tidur Mencit Balb/c yang diinduksi Thiopental 0,546 mg/20mg BB [KTI]*. Semarang: Fakultas Farmasi, Universitas Diponegoro.
- WHO. 2003. *Tradisional Medicine*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. [ 28 November 2016].
- Wilmana PF, Sulista GG. 2007. *Analgesik-Antipiretik, Analgesik-Antiinflamasi Non Steroid Dan Obat Pirai*. Di Dalam: Sulista GG. *Farmakologi Dan Terapi*. Ed-5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm 230-246, 500-506.
- Winter CA, Risley EA, Nuss GW. 1962. *Carragenan- Induced Udem in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs*. Proc. Soc. Exp. Biol Med.
- Xie QW, Kashiwabara Y, Nathan C. 1994. Role of Transcription Factor NF- $\kappa$ B/ Rel in Induction of Nitric Oxide Synthase. *Journal of Biological Chemistry* 17: 4705-4708.

Yadial SZT. 2009. Minuman Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius*, Roxb) Sebagai Minuman Sehat. *Journal Sains and Technology*, pp.220-241

Zheng W, Wang SY. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected. *Journal Agric Food Chem* 49: 5165-5170.

**Lampiran 1.** Hasil Determinasi Tanaman Pandan Wangi.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 035 /UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Ponky Ary Wibowo  
NIM : 19133786A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

**HASIL DETERMINASI TUMBUHAN**

**Nama Sampel :** *Pandanus amaryllifolius* Roxb.  
**Familia :** Pandanaceae

**Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968):**  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-  
803b-804a \_\_\_\_\_ 225. **Pandanaceae**  
1b \_\_\_\_\_ 2. **Pandanus**  
1b-25a-26a-27a \_\_\_\_\_ **Pandanus amaryllifolius** Roxb.

**Deskripsi Tumbuhan :**

Habitus : perdu, tahunan, tumbuh tegak, tinggi 0.5 – 1 m. Akar : memiliki akar tunjang yang menopang tumbuhan ini bila telah cukup besar dan beberapa keluar di sekitar pangkal batang dan cabang, panjang 4.5-9 cm, diameter 1-2 mm. Batang : bulat, diameter 3-4 mm, dengan bekas duduk daun, bercabang, menjalar. Daun : tunggal, duduk dengan pangkal daun memeluk batang, tersusun berbaris tiga dalam garis spiral (trisiostik), helaian daun berbentuk pita, panjang 40-80 cm, lebar 2-4.5 cm, permukaan licin, ujung runcing, tepi rata atau berduri, tulang daun sejajar, berduri tempel pada ibu tulang daun pada permukaan bawah daun dan bagian ujung daun, permukaan atas daun berwarna hijau tua, permukaan bawah daun hijau muda, berbau wangi. Bunga : majemuk, bentuk bongkol, warnanya putih. Buah : buah batu, menggantung, bentuk bola, diameter 4 - 7.5 cm, dinding buah berambut, berwarna jingga. Biji : kecil, mempunyai endosperm berdaging dan lembaga yang kecil.

Surakarta, 1 Februari 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 20003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 2. Hasil Pengambilan Bahan Baku.**



Plant  
Jakarta

Jakarta, 06 Februari 2017

Nomor : 133 /KF- PJ/P3-TR/II/2017-044  
Lampiran : Ada

Kepada Yth,  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Jl. Let. Jend. Sutoyo  
Solo

Up. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Dengan hormat,

Perihal : Penelitian Tugas Akhir

Menunjuk surat no. 1930/A10-4/21.01.17 dan 1994/A10-4/31.01.17 tanggal 21 Januari 2017 dan tanggal 31 Januari 2017 perihal tersebut diatas, perihal tersebut diatas, bersama ini kami informasikan bahwa kami dapat memberikan bahan baku untuk penelitian mahasiswa atas nama Punky Ary Wibowo (NIM:19133786A) sebagai berikut :

- |   |                  |
|---|------------------|
| 1. Natrii Dichlofenac                       | Sebanyak 3 gram  |
| 2. Natrii Carboxymethylcell/natrii cmc fish | Sebanyak 25 gram |

Sedangkan untuk Lambda Karagenan 1 gram kami tidak mempunyai bahan baku tersebut.

Adapun biaya penggantian sebesar Rp. 60.000,- (Enam puluh ribu rupiah) sudah termasuk ongkos kirim mohon dapat ditransfer ke Bank Bukopin Cabang Pulogadung No. 1013459017 dan bukti transfer di fax ke 021 4603143.

Bahan baku baru dapat dikirim setelah bukti transfer pembayaran kami terima.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapan terima kasih.

Hormat kami,

Iffen Nugraha, S.Si., MM., Apt.  
Plant Manager

Tembusan Yth :

1. Asman Pengendalian Proses Produksi
2. Asman SDM & Akuntansi
3. Arsip

Jl. Rawa gelam V No. 1  
Kawasan Industri Pulogadung  
Jakarta Timur 13930  
Telp. 4609384 (Hunting), 4603344  
Fax. 4603343  
email : dpt@kfm.co.id

[www.kimiafarmaco.id](http://www.kimiafarmaco.id)

**Lampiran 3. Hasil Pengambilan Hewan Uji**



**PEMERINTAH KOTA SURAKARTA  
DINAS PERTANIAN,  
KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN**  
JL. Yap Tjwan Bing (Jagalan) No. 26 Telp. (0271) 656816 – Fax. (0271) 656816  
Website [www.dispertan.surakarta.co.id](http://www.dispertan.surakarta.co.id) E-mail [pertanian\\_ska@yahoo.co.id](mailto:pertanian_ska@yahoo.co.id)  
SURAKARTA Kode Pos 57124

**SURAT KETERANGAN KESEHATAN HEWAN**

Nomor : 524.3/1.068

Yang bertandatangan di bawah ini **drh. Abdul Aziz MK.** Dokter Hewan yang berwenang di wilayah **Kota Surakarta**, menerangkan bahwa pada hari Rabu tanggal 22, Bulan Februari, Tahun **2017** telah memeriksa hewan di bawah ini :

NO	JENIS HEWAN	SUB SPESIES/ TRAH	JUMLAH (ekor)			UMUR ( bln )	Tanda / Warna
			Jtn	Btn	Total		
1	Tikus	Tikus Putih/ Wistar	30	0	30	3 - 5	Putih

Menerangkan bahwa hewan-hewan tersebut di atas : **sehat** , atau saat pemeriksaan tidak menunjukkan tanda klinis penyakit hewan menular.

**KETERANGAN :**

Nama pemilik/pengirim : Sdr. Yulianto Ratno Saputro  
 No KTP/SIM pemilik/pengirim : 3372053007720003  
 No telp. Pemilik/pengirim : 082133998945  
 Alamat pemilik/pengirim : Pasar Burung Depok Manahan Surakarta.  
 Daerah asal hewan : Pasar Burung Depok Manahan Surakarta  
 Daerah tujuan : Surakarta  
 Nama dan alamat Penerima : Sdr. Ponky Ary Wibowo, Universitas Setia Budi Surakarta  
 Rencana dikirim : Sabtu, 22 April 2017  
 Kendaraan : Mobil.

Setelah sampai di daerah tujuan segera melaporkan ke dinas yang membida fungsi peternakan dan kesehatan hewan.

Surakarta, 22 April 2017

Mengetahui  
 a.n. KEPALA DINAS PERTANIAN,  
 KETAHANAN PANGAN DAN PERIKANAN  
**KOTA SURAKARTA**  
 Kepala Bidang Kesehatan dan Kesmavet  
  
**drh. EVY NURWULANDARI**  
 SURAKARTA Pembina  
 NIP. 197910806 19980303 2 004

Dokter Hewan Berwenang,

**drh. ABDUL AZIZ MK**  
 NIP. 198102428 200501 1 006

**Tembusan Yth. :**

1. Walikota Surakarta (sebagai laporan);
2. Kepala Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Jawa Tengah;
3. Arsip

**Lampiran 4.** Proses Pembuatan Fraksi Daun Pandan Wangi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi.



Hasil sortasi basah



Hasil pengeringan



Serbuk daun pandan wangi



Uji kelembapan serbuk



Penetapan kadar air serbuk



Proses soxhletasi



Titik akhir soxhletasi



Rotari evaporator



Penetapan kadar air ekstrak

### Fraksinasi



Fase n-heksan

Fase Air



Fase etil asetat

Fase Air

### **Uji Aktivitas Antiinflamasi**



Plethysmometer



Induksi lambda karagenan 0,1%

Induksi zat uji



Udema kaki tikus

**Lampiran 5.** Data Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Daun Pandan Wangi secara KLT

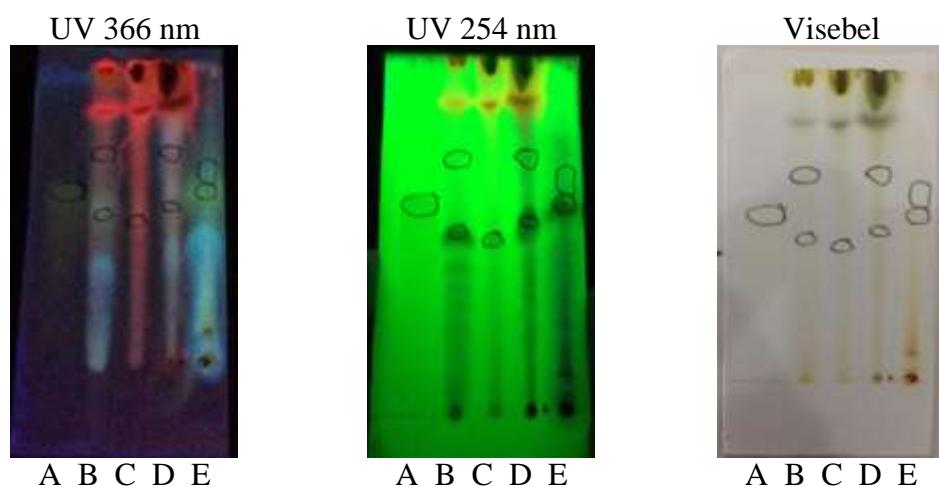
**1. Flavonoid**

Fase diam : silika gel

Fase gerak : n-butanol:asam asetat:air (4:1:5)

Pereaksi semprot : sitroborat

A B C D E : pembanding rutin 0,1%, ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air.



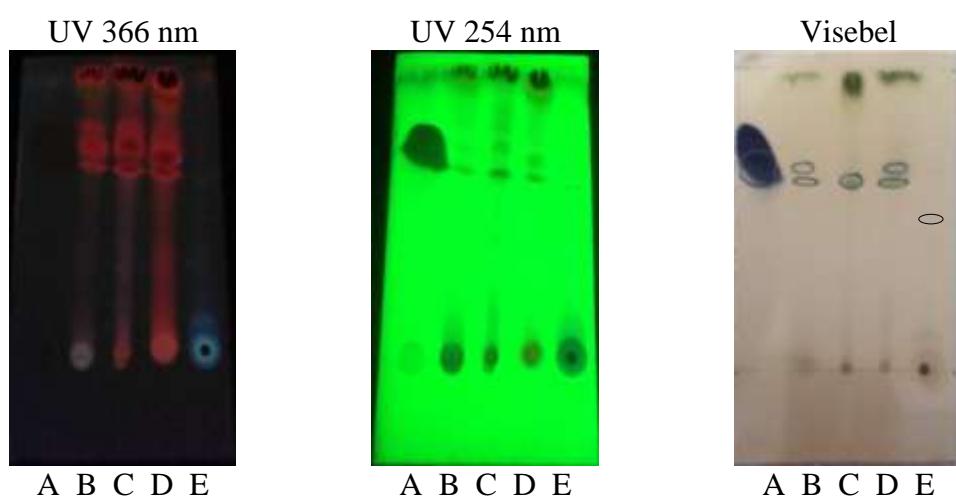
**2. Tanin**

Fase diam : silika gel

Fase gerak : kloroform:etil asetat:asam formiat (0,3:5,4:0,3)

Pereaksi semprot : FeCl<sub>3</sub>10%

A B C D E : pembanding asam galat, ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air.



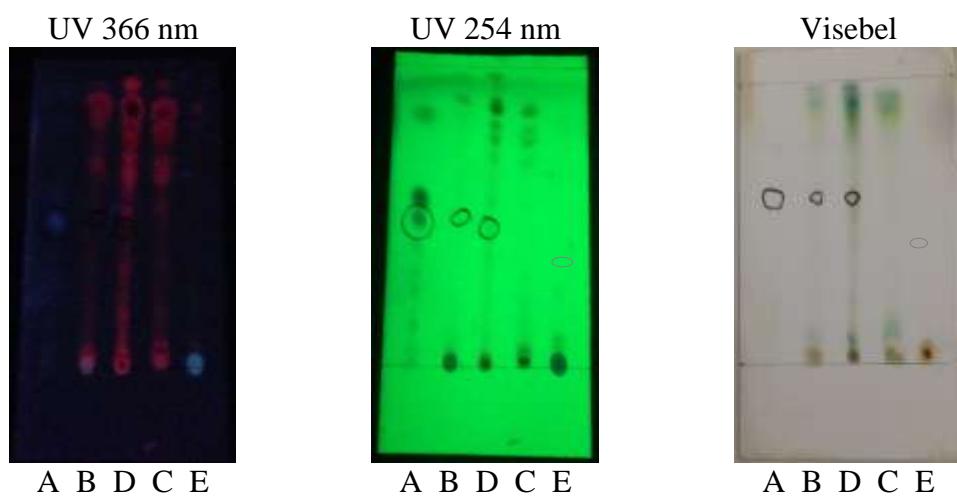
### 3. Saponin

Fase diam : silika gel

Fase gerak : etil asetat:kloroform:air:asam formiat (100:13,5:10:0,2)

Pereaksi semprot : Liebermann Burchard (LB)

A B D C E : pembanding saponin, ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan, fraksi air.



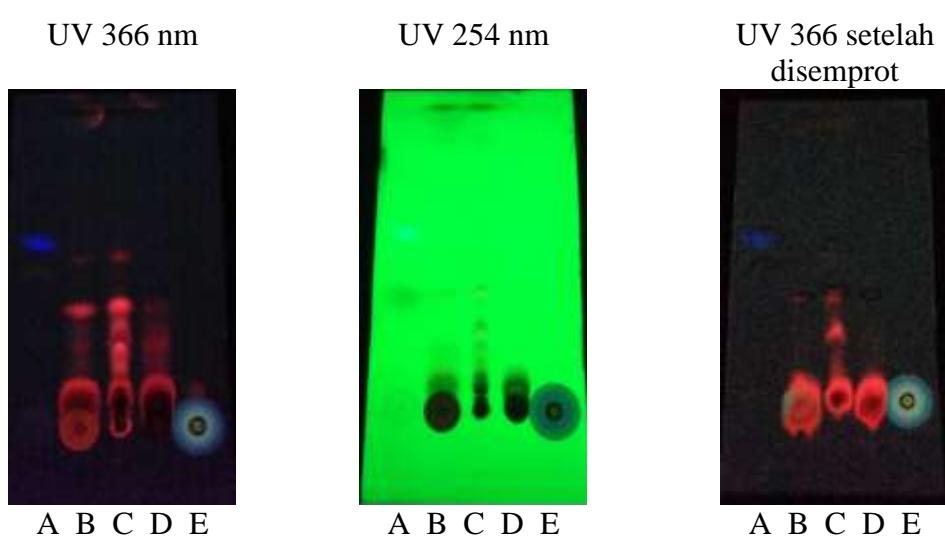
### 4. Steroid

Fase diam : silika gel

Fase gerak : n-heksan : Etil asetat (9:1)

Pereaksi semprot : anisaldehid.

A B C D E : pembanding stigma sterol 0,1%, ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air.



**Perhitungan Nilai Rf :**

**Flavonoid**

$$\text{Rutin} = \frac{3,3}{6} = 0,55$$

$$\text{Ekstrak} = \frac{2,8}{6} = 0,55$$

$$\text{Fx. etil asetat} = \frac{3}{6} = 0,5$$

$$\text{Fx. air} = \frac{3,3}{6} = 0,55$$

**Tanin**

$$\text{As. Galat} = \frac{3,3}{5,5} = 0,6$$

$$\text{Ekstrak} = \frac{3,2}{5,5} = 0,58$$

$$\text{Fx. Etil asetat} = \frac{3,2}{5,5} = 0,58$$

$$\text{Fx. Air} = \frac{3,1}{5,5} = 0,56$$

**Saponin**

$$\text{Saponin} = \frac{2,8}{5,5} = 0,51$$

$$\text{Ekstrak} = \frac{2,7}{5,5} = 0,5$$

$$\text{Fx. Etil asetat} = \frac{2,7}{5,5} = 0,5$$

$$\text{Fx. Air} = \frac{2,6}{5,5} = 0,47$$

**Steroid**

$$\text{Stigma sterol 0,1\%} = \frac{3,0}{5,5} = 0,55$$

$$\text{Ekstrak} = \frac{2,8}{5,5} = 0,51$$

$$\text{Fx. N-heksan} = \frac{2,8}{5,5} = 0,51$$

**Lampiran 6.** Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap berat basah tanaman daun pandan wangi.

Berat Basah (g)	Berat Kering (g)	Rendemen (%b/b)	LOD (%)
7500	1500	20	80

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen } (\%) = \frac{\text{berat kering (g)}}{\text{berat basah (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen } (\%) = \frac{1500 \text{ g}}{7500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen } (\%) = 20 \% \text{ b/b}$$

Perhitungan LOD (Lost On Drying) :

$$\text{LOD } (\%) = \frac{\text{berat basah (g)} - \text{berat kering (g)}}{\text{berat basah (g)}} \times 100\%$$

$$\text{LOD } (\%) = \frac{7500 \text{ g} - 1500 \text{ g}}{7500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{LOD } (\%) = 80 \%$$

**Lampiran 7.** Data hasil presentase berat serbuk daun pandan wangi terhadap berat kering daun pandan wangi.

Berat Kering (g)	Serbuk Kering (g)	Rendemen (%b/b)	LOP (%)
1500	1050	70	30

Perhitungan Rendemen :

$$\text{Rendemen } (\%) = \frac{\text{berat serbuk } (\text{g})}{\text{berat kering } (\text{g})} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen } (\%) = \frac{1050 \text{ g}}{1500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen } (\%) = 70 \% \text{ b/b}$$

Perhitungan LOP (Lost On Pollination) :

$$\text{LOP } (\%) = \frac{\text{berat kering } (\text{g}) - \text{berat serbuk } (\text{g})}{\text{berat kering } (\text{g})} \times 100\%$$

$$\text{LOP } (\%) = \frac{1500 \text{ g} - 1050 \text{ g}}{1500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{LOP } (\%) = 30 \%$$

**Lampiran 8.** Data hasil penetapan kadar lembab serbuk daun pandan wangi.

No	Berat serbuk (g)	Kadar lembab (%)
1	2,0	4,5
2	2,0	4,5
3	2,0	4,0
<b>Rata-rata</b>		<b>4,3±0,29</b>

Perhitungan rata-rata kadar lembab serbuk daun pandan wangi :

$$\frac{4,5+4,5+4,0}{3} = 4,3 \text{ %}$$

**Lampiran 9.** Data hasil penetapan kadar air serbuk daun pandan wangi

No	Penimbangan (g)	Skala Terukur (ml)	Kadar Air (%) v/b)
1	20,00	1,3	6,5
2	20,00	1,2	6,0
3	20,01	1,2	6,0
<b>Rata-rata</b>			<b>6,2±0,3</b>

Rumus perhitungan :  $\frac{\text{volume terukur (ml)}}{\text{berat bahan (g)}} \times 100\%$

$$\text{Kadar air (1)} : \frac{1,3}{20,00} \times 100\% = 6,5\%$$

$$\text{Kadar air (2)} : \frac{1,2}{20,00} \times 100\% = 6,0\%$$

$$\text{Kadar air (3)} : \frac{1,2}{20,01} \times 100\% = 6,0\%$$

Perhitungan rata-rata kadar air serbuk daun pandan wangi :

$$\frac{6,5+6,0+6,0}{3} = 6,2\%$$

**Lampiran 10.** Data hasil pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi

Penimbangan (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%b/b)
300	70,222	23,41

Perhitungan :

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{70,222 \text{ g}}{300} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = 23,41 \%$$

**Lampiran 11.** Data hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun pandan wangi

No.	Penimbangan (g)	Skala Terukur (ml)	Kadar Air (%v/b)
1	10,05	0,8	7,96
2	10,02	0,7	6,99
3	10,02	0,7	6,99
<b>Rata-rata</b>			<b>7,31±0,56</b>

Rumus perhitungan :  $\frac{\text{volume terukur (ml)}}{\text{berat bahan (g)}} \times 100\%$

$$\text{Kadar air (1)} : \frac{0,8}{10,05} \times 100\% = 7,96\%$$

$$\text{Kadar air (2)} : \frac{0,7}{10,02} \times 100\% = 6,99\%$$

$$\text{Kadar air (3)} : \frac{0,7}{10,02} \times 100\% = 6,99\%$$

Perhitungan rata-rata kadar air serbuk daun pandan wangi :

$$\frac{7,96+6,99+6,99}{3} = 7,31\%$$

**Lampiran 12.** Data hasil pembuatan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan wangi.

<b>Ekstrak (g)</b>	<b>Fraksi</b>	<b>Fraksi Kental (g)</b>	<b>Rendemen Fraksi (%)</b>	<b>Total Rendemen (%)</b>
10	n-Heksana	2,312	23,12	79,55
	Etil asetat	1,210	12,10	
	Air	4,433	44,33	
10	n-Heksana	1,979	19,79	79,87
	Etil asetat	1,601	16,01	
	Air	4,407	44,07	

$$\text{Rumus perhitungan} = \frac{\text{bobot fraksi kental (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

Replikasi 1 :

Fraksi n-heksana

$$\text{Kadar} = \frac{2,312}{10} \times 100 \% = 23,12 \%$$

Fraksi etil asetat

$$\text{Kadar} = \frac{1,21}{10} \times 100 \% = 12,10\%$$

Fraksi air

$$\text{Kadar} = \frac{4,433}{10} \times 100 \% = 44,33 \%$$

Replikasi 2 :

Fraksi n-heksana

$$\text{Kadar} = \frac{1,979}{10} \times 100 \% = 19,79\%$$

Fraksi etil asetat

$$\text{Kadar} = \frac{1,601}{10} \times 100 \% = 16,01\%$$

Fraksi air

$$\text{Kadar} = \frac{4,407}{10} \times 100 \% = 44,07 \%$$

Perhitungan rata-rata % rendemen fraksi-fraksi untuk penentuan dosis fraksi

<b>Fraksi</b>	<b>% Rendemen Fraksi</b>	<b>Rata-Rata % rendemen</b>		
		<b>N-heksan</b>	<b>Etil asetat</b>	<b>Air</b>
n-heksan (1)	23,12			<b>21,46</b>
n-heksan (2)	19,79			
etil asetat (1)	12,10			<b>14,06</b>
etil asetat (2)	16,01			
air (1)	44,33			<b>44,20</b>
air (2)	44,07			

**Lampiran 13.** Data hasil uji pendahuluan dan perhitungan dosis fraksi-fraksi.

Perlakuan	V0	V0,5	V1	V2	V3	V4	V5	V6
<b>Kontrol (-)</b>								
1	0,25	0,33	0,38	0,41	0,49	0,52	0,56	0,55
2	0,26	0,35	0,38	0,42	0,49	0,54	0,59	0,59
<b>Kontrol (+)</b>								
1	0,24	0,28	0,3	0,31	0,36	0,37	0,38	0,37
2	0,25	0,3	0,33	0,33	0,33	0,38	0,4	0,38
<b>Ekstrak 1 (125mg/KgBB)</b>								
1	0,27	0,33	0,37	0,39	0,46	0,46	0,48	0,48
2	0,25	0,31	0,34	0,37	0,43	0,44	0,47	0,46
<b>Ekstrak 2 (250mg/KgBB)</b>								
1	0,24	0,29	0,32	0,34	0,39	0,39	0,4	0,39
2	0,27	0,33	0,35	0,38	0,42	0,43	0,44	0,44

$$\text{Volume udema} = V_t - V_0$$

Perlakuan	V0	V0,5	V1	V2	V3	V4	V5	V6
<b>Kontrol (-)</b>								
1	0	0,08	0,13	0,16	0,24	0,27	0,31	0,3
2	0	0,09	0,12	0,16	0,23	0,28	0,33	0,33
<b>Kontrol (+)</b>								
1	0	0,04	0,06	0,07	0,12	0,13	0,14	0,13
2	0	0,05	0,08	0,08	0,08	0,13	0,15	0,13
<b>Ekstrak 1 (125mg/KgBB)</b>								
1	0	0,06	0,1	0,12	0,19	0,19	0,21	0,21
2	0	0,06	0,09	0,12	0,18	0,19	0,22	0,21
<b>Ekstrak 2 (250mg/KgBB)</b>								
1	0	0,05	0,08	0,1	0,15	0,15	0,16	0,15
2	0	0,06	0,08	0,11	0,15	0,16	0,17	0,17

**Perhitungan AUC dan DAI Uji Pendahuluan**

<b>No.</b>	<b>Perlakuan</b>									
	<b>AUC<sub>0,5</sub></b>	<b>AUC<sub>1</sub></b>	<b>AUC<sub>2</sub></b>	<b>AUC<sub>3</sub></b>	<b>AUC<sub>4</sub></b>	<b>AUC<sub>5</sub></b>	<b>AUC<sub>6</sub></b>	<b><math>\bar{x}</math> AUC</b>	<b>DAI</b>	<b><math>\bar{x}</math> DAI</b>
<b>Kontrol (-)</b>										
1	0,02	0,0525	0,145	0,2	0,255	0,29	0,305	0,181071		
2	0,0225	0,0525	0,14	0,195	0,255	0,305	0,33	0,185714		
<b>Kontrol (+)</b>										
1	0,01	0,025	0,065	0,095	0,125	0,135	0,135	0,084286	53,45168	<b>54,03353</b>
2	0,0125	0,0325	0,08	0,08	0,105	0,14	0,14	0,084286	54,61538	
<b>Ekstrak 1 (125mg/KgBB)</b>										
1	0,015	0,04	0,11	0,155	0,19	0,2	0,21	0,131429	27,41617	<b>28,61193</b>
2	0,015	0,0375	0,105	0,15	0,185	0,205	0,215	0,130357	29,80769	
<b>Ekstrak 2 (250mg/KgBB)</b>										
1	0,0125	0,0325	0,09	0,125	0,15	0,155	0,155	0,102857	43,19527	<b>42,17456</b>
2	0,015	0,035	0,095	0,13	0,155	0,165	0,17	0,109286	41,15385	

Dari hasil uji pendahuluan dosis ekstrak etanol daun pandan wangi yang mendekati kontrol positif adalah 250 mg/KgBB dengan %DAI sebesar 42,17456%. Hasil dari dosis ini kurang untuk dinyatakan sebagai dosis efektif, sehingga perlu ditingkatkan. Sehingga dosis efektifnya sebesar 300mg/KgBB.

**Perhitungan dosis fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan wangi**

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis fraksi n-heksan} &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 21,46 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 65 \text{ mg/KgBB} \\
 \\
 \text{Dosis fraksi etil asetat} &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 14,06 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 42 \text{ mg/KgBB} \\
 \\
 \text{Dosis fraksi air} &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 44,20 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 133 \text{ mg/KgBB}
 \end{aligned}$$

**Lampiran 14.** Perhitungan dosis dan penimbangan larutan stok.

### **Kelompok 1**

#### **Kontrol negatif CMC-Na 1 %**

Pembuatan larutan stok CMC-Na 1 % = 1000 mg/ 100 ml = 100 mg/ 10 ml.

Dengan enimbang 100 mg CMC-Na disuspensikan dengan air suling sampai volume 10 ml.

Diberikan volume pemberian 1 ml.

### **Kelompok 2**

#### **Dosis ekstrak etanol daun pandan wangi 300 mg/KgBB.**

Sesuai hasil uji pendahuluan dosis 250 mg/KgBB tikus merupakan dosis yang hampir mendekati DAI dari Natrium diklofenak, namun belum mencukupi. Sehingga dosis ditingkatkan, dan dipilihlah dosis 300mg/KgBB tikus, atau 60 mg/200gBB tikus.

Pembuatan larutan stok :

ekstrak etanol daun pandan wangi 600 mg/10 ml (60 mg/1 ml).

Menimbang 600 mg ekstrak etanol daun pandan wangi disuspensikan dengan CMC-Na sampai volume 10 ml.

Volume Pemberian =  $\frac{60 \text{ mg}}{600 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}/200\text{gBB tikus.}$

Volume pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi sesuai berat badan tikus :

$$1. \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$$

$$2. \frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$$

$$3. \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$$

$$4. \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$$

$$5. \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$$

### Kelompok 3

**Dosis fraksi n-heksan**

$$\begin{aligned}
 &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 21,46 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 65 \text{ mg/KgBB} (13 \text{ mg}/200\text{gBB tikus})
 \end{aligned}$$

Pembuatan larutan stok :

Fraksi n-heksan daun pandan wangi 130 mg/ 10 ml ( 13 mg/ 1 ml).

Menimbang 130 mg fraksi n-heksan daun pandan wangi disuspensikan dengan CMC-Na sampai volume 10 ml.

$$\text{Volume Pemberian} = \frac{13 \text{ mg}}{130 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}/200\text{gBB tikus.}$$

Volume pemberian fraksi n-heksan daun pandan wangi sesuai berat badan tikus :

$$\begin{array}{ll}
 1. \frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml} & 4. \frac{200}{200} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml} \\
 2. \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml} & 5. \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml} \\
 3. \frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml} &
 \end{array}$$

### Kelompok 4

**Dosis fraksi etil asetat**

$$\begin{aligned}
 &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 14,06 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 42 \text{ mg/KgBB} (8,4 \text{ mg}/200\text{gBB tikus}).
 \end{aligned}$$

Pembuatan larutan stok :

Fraksi etil asetat daun pandan wangi 84 mg/ 10 ml ( 8,4 mg/ 1 ml).

Menimbang 84 mg fraksi etil asetat daun pandan wangi disuspensikan dengan CMC-Na sampai volume 10 ml.

$$\text{Volume Pemberian} = \frac{8,4 \text{ mg}}{84 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}/200\text{gBB tikus.}$$

Volume pemberian fraksi etil asetat daun pandan wangi sesuai berat badan tikus :

$$\begin{array}{ll}
 1. \frac{200}{200} \times 1 \text{ ml} = 1,00 \text{ ml} & 4. \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml} \\
 2. \frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml} & 5. \frac{200}{200} \times 1 \text{ ml} = 1,00 \text{ ml} \\
 3. \frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml} &
 \end{array}$$

## Kelompok 5

**Dosis fraksi air**

$$\begin{aligned}
 &= \% \text{ rendemen} \times \text{dosis efektif ekstrak} \\
 &= 44,20 \% \times 300 \text{ mg/KgBB} \\
 &= 133 \text{ mg/KgBB}
 \end{aligned}$$

Pembuatan larutan stok :

Fraksi n-heksan daun pandan wangi 266 mg/ 10 ml ( 26,6 mg/ 1 ml).

Menimbang 266 mg fraksi air daun pandan wangi disuspensikan dengan CMC-Na sampai volume 10 ml.

$$\text{Volume Pemberian} = \frac{26,6 \text{ mg}}{266 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml/200gBB tikus.}$$

Volume pemberian fraksi air daun pandan wangi sesuai berat badan tikus :

1. $\frac{210}{200} \times 1 \text{ ml} = 1,05 \text{ ml}$	4. $\frac{170}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,85 \text{ ml}$
2. $\frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$	5. $\frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$
3. $\frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$	

## Kelompok 6

### Kontrol positif natrium diklofenak

Dosis lazim natrium diklofenak adalah 25 mg/70KgBB manusia, dengan faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018, maka :

$$\text{Dosis natrium diklofenak} = 0,018 \times 25 \text{ mg/70KgBB} = 0,45 \text{ mg/200gBB tikus.}$$

Larutan stok = 4,5 mg/10 ml.

Ditimbang 4,5 mg natrium diklofenak, diencerkan dan ditambah dengan CMC-Na sampai 10 ml.

$$\text{Volume pemberian/200gBB tikus} = \frac{0,45}{4,5} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml/200gBB tikus.}$$

Volume pemberian natrium diklofenak sesuai berat badan tikus :

1. $\frac{210}{200} \times 1 \text{ ml} = 1,05 \text{ ml}$	4. $\frac{180}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,90 \text{ ml}$
2. $\frac{200}{200} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$	5. $\frac{190}{200} \times 1 \text{ ml} = 0,95 \text{ ml}$
3. $\frac{210}{200} \times 1 \text{ ml} = 1,05 \text{ ml}$	

**Pembuatan larutan stok lambda karagenin**

Lambda karagenin dosis 1 % = 1000 mg/ 100 ml

$$= 10 \text{ mg/ 1ml}$$

1 x pemberian = 0,1 x 30 tikus ( 6 perlakuan x 5 tikus)

$$= 3 \text{ ml}$$

Larutan stok = 3 ml x 10 mg

$$= 30 \text{ mg/ 3 ml}$$

Menimbang lamba karagenan 30 mg di larutkan dengan NaCl 0,9 % sampai 3 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Induksi karagenan 1% sebanyak 1 ml tiap tikus.

**Lampiran 15.** Data volume telapak kaki tikus sebelum dikurangi Vo.

Perlakuan Replikasi	V0	V0,5	V1	V2	V3	V4	V5	V6
Kontrol Negatif CMC Na								
1	0,32	0,51	0,58	0,62	0,69	0,72	0,75	0,76
2	0,34	0,53	0,6	0,63	0,71	0,75	0,77	0,79
3	0,36	0,54	0,61	0,65	0,74	0,77	0,79	0,8
4	0,33	0,52	0,6	0,63	0,71	0,74	0,78	0,79
5	0,34	0,52	0,59	0,64	0,72	0,74	0,76	0,78
Kontrol Positif Natrium Diklofenak 0,45 mg/200gBB tikus								
1	0,36	0,47	0,49	0,5	0,53	0,54	0,54	0,53
2	0,35	0,46	0,48	0,48	0,52	0,52	0,53	0,51
3	0,36	0,49	0,52	0,52	0,53	0,54	0,54	0,52
4	0,32	0,45	0,48	0,5	0,53	0,53	0,52	0,51
5	0,33	0,45	0,47	0,48	0,51	0,52	0,51	0,49
Ekstrak Pandan Wangi 300 mg/KgBB tikus								
1	0,32	0,45	0,46	0,47	0,53	0,54	0,55	0,55
2	0,33	0,45	0,47	0,48	0,52	0,53	0,54	0,54
3	0,31	0,44	0,46	0,47	0,5	0,5	0,52	0,51
4	0,31	0,44	0,48	0,49	0,53	0,54	0,55	0,55
5	0,32	0,44	0,46	0,48	0,51	0,51	0,5	0,5
Fraksi n-heksan Pandan wangi 65 mg/KgBB tikus								
1	0,34	0,49	0,52	0,53	0,56	0,57	0,57	0,55
2	0,32	0,46	0,5	0,52	0,56	0,58	0,58	0,57
3	0,34	0,49	0,53	0,55	0,59	0,59	0,58	0,57
4	0,35	0,5	0,54	0,55	0,62	0,63	0,64	0,63
5	0,3	0,44	0,49	0,5	0,53	0,54	0,55	0,54
Fraksi Etil Asetat 42 mg/KgBB tikus								
1	0,35	0,5	0,55	0,57	0,61	0,62	0,62	0,61
2	0,3	0,45	0,48	0,5	0,54	0,55	0,56	0,56
3	0,32	0,48	0,51	0,57	0,61	0,61	0,61	0,6
4	0,31	0,48	0,53	0,54	0,59	0,61	0,63	0,63
5	0,35	0,49	0,53	0,55	0,6	0,61	0,62	0,62
Fraksi Air 133 mg/KgBB tikus								
1	0,36	0,49	0,53	0,54	0,58	0,6	0,61	0,6
2	0,33	0,45	0,47	0,48	0,51	0,52	0,52	0,51
3	0,34	0,45	0,46	0,47	0,51	0,52	0,52	0,51
4	0,31	0,43	0,44	0,47	0,51	0,52	0,53	0,53
5	0,31	0,44	0,45	0,46	0,49	0,5	0,5	0,51

**Lampiran 16.** Data Presentasi udema kaki tikus.

Perlakuan Replikasi	V0	V0,5	V1	V2	V3	V4	V5	V6
Kontrol Negatif CMC Na								
1	0	159,4	181,3	193,8	215,6	225,0	234,4	237,5
2	0	155,9	176,5	185,3	208,8	220,6	226,5	232,4
3	0	150,0	169,4	180,6	205,6	213,9	219,4	222,2
4	0	157,6	181,8	190,9	215,2	224,2	236,4	239,4
5	0	152,9	173,5	188,2	211,8	217,6	223,5	229,4
Kontrol Positif Natrium Diklofenak 0,45 mg/200gBB tikus								
1	0	130,6	136,1	138,9	147,2	150,0	150,0	147,2
2	0	131,4	137,1	137,1	148,6	148,6	151,4	145,7
3	0	136,1	144,4	144,4	147,2	150,0	150,0	144,4
4	0	140,6	150,0	156,3	165,6	165,6	162,5	159,4
5	0	136,4	142,4	145,5	154,5	157,6	154,5	148,5
Ekstrak Pandan Wangi 300 mg/KgBB tikus								
1	0	140,6	143,8	146,9	165,6	168,8	171,9	171,9
2	0	136,4	142,4	145,5	157,6	160,6	163,6	163,6
3	0	141,9	148,4	151,6	161,3	161,3	167,7	164,5
4	0	141,9	154,8	158,1	171,0	174,2	177,4	177,4
5	0	137,5	143,8	150,0	159,4	159,4	156,3	156,3
Fraksi n-heksan Pandan wangi 65 mg/KgBB tikus								
1	0	144,1	152,9	155,9	164,7	167,6	167,6	161,8
2	0	143,8	156,3	162,5	175,0	181,3	181,3	178,1
3	0	144,1	155,9	161,8	173,5	173,5	170,6	167,6
4	0	142,9	154,3	157,1	177,1	180,0	182,9	180,0
5	0	146,7	163,3	166,7	176,7	180,0	183,3	180,0
Fraksi Etil Asetat 42 mg/KgBB tikus								
1	0	142,9	157,1	162,9	174,3	177,1	177,1	174,3
2	0	150,0	160,0	166,7	180,0	183,3	186,7	186,7
3	0	150,0	159,4	178,1	190,6	190,6	190,6	187,5
4	0	154,8	171,0	174,2	190,3	196,8	203,2	203,2
5	0	140,0	151,4	157,1	171,4	174,3	177,1	177,1
Fraksi Air 133 mg/KgBB tikus								
1	0	136,1	147,2	150,0	161,1	166,7	169,4	166,7
2	0	136,4	142,4	145,5	154,5	157,6	157,6	154,5
3	0	132,4	135,3	138,2	150,0	152,9	152,9	150,0
4	0	138,7	141,9	151,6	164,5	167,7	171,0	171,0
5	0	141,9	145,2	148,4	158,1	161,3	161,3	164,5

**Lampiran 17.** Data volume udema kaki tikus (Vt – Vo).

Perlakuan Replikasi	V0	V0,5	V1	V2	V3	V4	V5	V6
Kontrol Negatif CMC Na								
1	0	0,19	0,26	0,3	0,37	0,4	0,43	0,44
2	0	0,19	0,26	0,29	0,37	0,41	0,43	0,45
3	0	0,18	0,25	0,29	0,38	0,41	0,43	0,44
4	0	0,19	0,27	0,3	0,38	0,41	0,45	0,46
5	0	0,18	0,25	0,3	0,38	0,4	0,42	0,44
Rata-rata		0,186	0,258	0,296	0,376	0,406	0,432	0,446
SD		0,0055	0,0084	0,0055	0,0055	0,0055	0,0110	0,0089
Kontrol Positif Natrium Diklofenak 0,45 mg/200gBB tikus								
1	0	0,11	0,13	0,14	0,17	0,18	0,18	0,17
2	0	0,11	0,13	0,13	0,17	0,17	0,18	0,16
3	0	0,13	0,16	0,16	0,17	0,18	0,18	0,16
4	0	0,13	0,16	0,18	0,21	0,21	0,2	0,19
5	0	0,12	0,14	0,15	0,18	0,19	0,18	0,16
Rata-rata		0,12	0,144	0,152	0,18	0,186	0,184	0,168
SD		0,0100	0,0152	0,0192	0,0173	0,0152	0,0089	0,0130
Ekstrak Pandan Wangi 300 mg/KgBB tikus								
1	0	0,13	0,14	0,15	0,21	0,22	0,23	0,23
2	0	0,12	0,14	0,15	0,19	0,2	0,21	0,21
3	0	0,13	0,15	0,16	0,19	0,19	0,21	0,2
4	0	0,13	0,17	0,18	0,22	0,23	0,24	0,24
5	0	0,12	0,14	0,16	0,19	0,19	0,18	0,18
Rata-rata		0,126	0,148	0,16	0,2	0,206	0,214	0,212
SD		0,0055	0,0130	0,0122	0,0141	0,0182	0,0230	0,0239
Fraksi n-heksan Pandan wangi 65 mg/KgBB tikus								
1	0	0,15	0,18	0,19	0,22	0,23	0,23	0,21
2	0	0,14	0,18	0,2	0,24	0,26	0,26	0,25
3	0	0,15	0,19	0,21	0,25	0,25	0,24	0,23
4	0	0,15	0,19	0,2	0,27	0,28	0,29	0,28
5	0	0,14	0,19	0,2	0,23	0,24	0,25	0,24
Rata-rata		0,146	0,186	0,2	0,242	0,252	0,254	0,242
SD		0,0055	0,0055	0,0071	0,0192	0,0192	0,0230	0,0259
Fraksi Etil Asetat 42 mg/KgBB tikus								
1	0	0,15	0,2	0,22	0,26	0,27	0,27	0,26
2	0	0,15	0,18	0,2	0,24	0,25	0,26	0,26
3	0	0,16	0,19	0,25	0,29	0,29	0,29	0,28
4	0	0,17	0,22	0,23	0,28	0,3	0,32	0,32
5	0	0,14	0,18	0,2	0,25	0,26	0,27	0,27
Rata-rata		0,154	0,194	0,22	0,264	0,274	0,282	0,278
SD		0,0114	0,0167	0,0212	0,0207	0,0207	0,0239	0,0249
Fraksi Air 133 mg/KgBB tikus								
1	0	0,13	0,17	0,18	0,22	0,24	0,25	0,24
2	0	0,12	0,14	0,15	0,18	0,19	0,19	0,18
3	0	0,11	0,12	0,13	0,17	0,18	0,18	0,17
4	0	0,12	0,13	0,16	0,2	0,21	0,22	0,22
5	0	0,13	0,14	0,15	0,18	0,19	0,19	0,2
Rata-rata		0,122	0,14	0,154	0,19	0,202	0,206	0,202
SD		0,0084	0,0187	0,0182	0,0200	0,0239	0,0288	0,0286

**Lampiran 18.** Data AUC dan DAI (%).

<b>Perlakuan</b>	<b>Replikasi</b>	<b>AUC0,5</b>	<b>AUC1</b>	<b>AUC2</b>	<b>AUC3</b>	<b>AUC4</b>	<b>AUC5</b>	<b>AUC6</b>	<b>rata AUC</b>	<b>% DAI</b>
<b>Kontrol Negatif CMC Na</b>	1	0,048	0,113	0,280	0,335	0,385	0,415	0,435	0,287	-
	2	0,048	0,113	0,275	0,330	0,390	0,420	0,440	0,288	-
	3	0,045	0,108	0,270	0,335	0,395	0,420	0,435	0,287	-
	4	0,048	0,115	0,285	0,340	0,395	0,430	0,455	0,295	-
	5	0,045	0,108	0,275	0,340	0,390	0,410	0,430	0,285	-
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,047</b>	<b>0,111</b>	<b>0,277</b>	<b>0,336</b>	<b>0,391</b>	<b>0,419</b>	<b>0,439</b>	<b>0,289</b>	-
	<b>SD</b>	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>	<b>0,006</b>	<b>0,004</b>	<b>0,004</b>	<b>0,007</b>	<b>0,010</b>	<b>0,004</b>	-
<b>Kontrol Positif Natrium Diklofenak 0,45 mg/200gBB tikus</b>	1	0,028	0,060	0,135	0,155	0,175	0,180	0,175	0,130	54,851
	2	0,028	0,060	0,130	0,150	0,170	0,175	0,170	0,126	56,203
	3	0,033	0,073	0,160	0,165	0,175	0,180	0,170	0,136	52,428
	4	0,033	0,073	0,170	0,195	0,210	0,205	0,195	0,154	47,763
	5	0,030	0,065	0,145	0,165	0,185	0,185	0,170	0,135	52,691
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,030</b>	<b>0,066</b>	<b>0,148</b>	<b>0,166</b>	<b>0,183</b>	<b>0,185</b>	<b>0,176</b>	<b>0,136</b>	<b>52,787</b>
	<b>SD</b>	<b>0,003</b>	<b>0,006</b>	<b>0,017</b>	<b>0,017</b>	<b>0,016</b>	<b>0,012</b>	<b>0,011</b>	<b>0,011</b>	<b>3,214</b>
<b>Ekstrak Pandan Wangi 300 mg/KgBB tikus</b>	1	0,033	0,068	0,145	0,180	0,215	0,225	0,230	0,156	45,522
	2	0,030	0,065	0,145	0,170	0,195	0,205	0,210	0,146	49,380
	3	0,033	0,070	0,155	0,175	0,190	0,200	0,205	0,147	48,817
	4	0,033	0,075	0,175	0,200	0,225	0,235	0,240	0,169	42,805
	5	0,030	0,065	0,150	0,175	0,190	0,185	0,180	0,139	51,189
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,032</b>	<b>0,069</b>	<b>0,154</b>	<b>0,180</b>	<b>0,203</b>	<b>0,210</b>	<b>0,213</b>	<b>0,151</b>	<b>47,543</b>
	<b>SD</b>	<b>0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>0,012</b>	<b>0,012</b>	<b>0,016</b>	<b>0,020</b>	<b>0,023</b>	<b>0,012</b>	<b>3,347</b>

<b>Perlakuan</b>	<b>Replikasi</b>	<b>AUC0,5</b>	<b>AUC1</b>	<b>AUC2</b>	<b>AUC3</b>	<b>AUC4</b>	<b>AUC5</b>	<b>AUC6</b>	<b>rata AUC</b>	<b>% DAI</b>
<b>Fraksi n-heksan Pandan wangi 65 mg/KgBB tikus</b>	1	0,038	0,083	0,185	0,205	0,225	0,230	0,220	0,169	41,045
	2	0,035	0,080	0,190	0,220	0,250	0,260	0,255	0,184	35,980
	3	0,038	0,085	0,200	0,230	0,250	0,245	0,235	0,183	36,115
	4	0,038	0,085	0,195	0,235	0,275	0,285	0,285	0,200	32,406
	5	0,035	0,083	0,195	0,215	0,235	0,245	0,245	0,179	37,297
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,037</b>	<b>0,083</b>	<b>0,193</b>	<b>0,221</b>	<b>0,247</b>	<b>0,253</b>	<b>0,248</b>	<b>0,183</b>	<b>36,568</b>
	<b>SD</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,006</b>	<b>0,012</b>	<b>0,019</b>	<b>0,021</b>	<b>0,024</b>	<b>0,011</b>	<b>3,100</b>
	1	0,038	0,088	0,210	0,240	0,265	0,270	0,265	0,196	31,592
	2	0,038	0,083	0,190	0,220	0,245	0,255	0,260	0,184	35,980
	3	0,040	0,088	0,220	0,270	0,290	0,290	0,285	0,212	26,152
<b>Fraksi Etil Asetat 42mg/KgBB tikus</b>	4	0,043	0,098	0,225	0,255	0,290	0,310	0,320	0,220	25,514
	5	0,035	0,080	0,190	0,225	0,255	0,265	0,270	0,189	33,917
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,039</b>	<b>0,087</b>	<b>0,207</b>	<b>0,242</b>	<b>0,269</b>	<b>0,278</b>	<b>0,280</b>	<b>0,200</b>	<b>30,631</b>
	<b>SD</b>	<b>0,003</b>	<b>0,007</b>	<b>0,016</b>	<b>0,021</b>	<b>0,020</b>	<b>0,022</b>	<b>0,024</b>	<b>0,015</b>	<b>4,653</b>
	1	0,033	0,075	0,175	0,200	0,230	0,245	0,245	0,172	40,174
	2	0,030	0,065	0,145	0,165	0,185	0,190	0,185	0,138	52,109
	3	0,028	0,058	0,125	0,150	0,175	0,180	0,175	0,127	55,666
	4	0,030	0,063	0,145	0,180	0,205	0,215	0,220	0,151	48,851
	5	0,033	0,068	0,145	0,165	0,185	0,190	0,195	0,140	50,939
	<b>Rata-rata</b>	<b>0,031</b>	<b>0,066</b>	<b>0,147</b>	<b>0,172</b>	<b>0,196</b>	<b>0,204</b>	<b>0,204</b>	<b>0,146</b>	<b>49,548</b>
	<b>SD</b>	<b>0,002</b>	<b>0,006</b>	<b>0,018</b>	<b>0,019</b>	<b>0,022</b>	<b>0,026</b>	<b>0,028</b>	<b>0,017</b>	<b>5,794</b>

**Lampiran 19.** Perhitungan AUC.

$$AUC_{n-1}^n = \frac{Vt_{n-1} + Vt_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Kontrol negatif CMC-Na

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,19}{2}(0,5-0)$$

$$= 0,048$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,19+0,26}{2}(1-0,5)$$

$$= 0,113$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,26+0,3}{2}(2-1)$$

$$= 0,280$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,3+0,37}{2}(3-2)$$

$$= 0,335$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,37+0,4}{2}(4-3)$$

$$= 0,385$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,4+0,43}{2}(5-4)$$

$$= 0,415$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,43+0,44}{2}(6-5)$$

$$= 0,435$$

Rata-rata AUC= 0,287

Kontrol positif Natrium diklofenak

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,11}{2}(0,5-0)$$

$$= 0,028$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,11+0,13}{2}(1-0,5)$$

$$= 0,060$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,13+0,14}{2}(2-1)$$

$$= 0,135$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,14+0,17}{2}(3-2)$$

$$= 0,155$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,17+0,18}{2}(4-3)$$

$$= 0,175$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,18+0,18}{2}(5-4)$$

$$= 0,180$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,18+0,17}{2}(6-5)$$

$$= 0,175$$

Rata-rata AUC= 0,130

**Lampiran 20.** Perhitungan DAI (%).

$$\text{DAI} = \frac{\text{AUC}_k - \text{AUC}_p}{\text{AUC}_k} \times 100\%$$

**Kelompok Natrium diklofenak**

$$\text{DAI 1} = \frac{0,287 - 0,130}{0,287} \times 100\%$$

$$= 54,851\%$$

$$\text{DAI 2} = \frac{0,287 - 0,126}{0,288} \times 100\%$$

$$= 56,203\%$$

$$\text{DAI 3} = \frac{0,287 - 0,136}{0,287} \times 100\%$$

$$= 52,428\%$$

$$\text{DAI 4} = \frac{0,287 - 0,154}{0,295} \times 100\%$$

$$= 47,763\%$$

$$\text{DAI 5} = \frac{0,287 - 0,135}{0,285} \times 100\%$$

$$= 52,691\%$$

$$\text{Rata-rata \%DAI} = 52,787\%$$

**Kelompok Ekstrak Pandan Wangi**

$$\text{DAI 1} = \frac{0,287 - 0,156}{0,287} \times 100\%$$

$$= 45,522\%$$

$$\text{DAI 2} = \frac{0,287 - 0,146}{0,288} \times 100\%$$

$$= 49,380\%$$

$$\text{DAI 3} = \frac{0,287 - 0,147}{0,287} \times 100\%$$

$$= 48,817\%$$

$$\text{DAI 4} = \frac{0,287 - 0,169}{0,295} \times 100\%$$

$$= 42,805\%$$

$$\text{DAI 5} = \frac{0,287 - 0,140}{0,285} \times 100\%$$

$$= 51,189\%$$

$$\text{Rata-rata \%DAI} = 47,543\%$$

**Kelompok Fraksi n-heksan**

$$\text{DAI 1} = \frac{0,287 - 0,169}{0,287} \times 100\% = 41,045\%$$

$$\text{DAI 2} = \frac{0,287 - 0,184}{0,288} \times 100\% = 35,980\%$$

$$\text{DAI 3} = \frac{0,287 - 0,183}{0,287} \times 100\% = 36,115\%$$

$$\text{DAI 4} = \frac{0,287 - 0,200}{0,295} \times 100\% = 32,406\%$$

$$\text{DAI 5} = \frac{0,287 - 0,179}{0,285} \times 100\% = 37,297\%$$

$$\text{Rata-rata \%DAI} = 36,568\%$$

**Kelompok Fraksi Etil Asetat**

$$\text{DAI 1} = \frac{0,287 - 0,196}{0,287} \times 100\%$$

$$= 31,592\%$$

$$\text{DAI 2} = \frac{0,287 - 0,184}{0,288} \times 100\%$$

$$= 35,980\%$$

$$\text{DAI 3} = \frac{0,287 - 0,212}{0,287} \times 100\%$$

$$= 26,252\%$$

$$\text{DAI 4} = \frac{0,287 - 0,220}{0,295} \times 100\%$$

$$= 25,514\%$$

$$\text{DAI 5} = \frac{0,287 - 0,189}{0,285} \times 100\%$$

$$= 33,917\%$$

Rata-rata %DAI = 30,631%

**Kelompok Fraksi Air**

$$\text{DAI 1} = \frac{0,287 - 0,172}{0,287} \times 100\%$$

$$= 40,174\%$$

$$\text{DAI 2} = \frac{0,287 - 0,138}{0,288} \times 100\%$$

$$= 52,109\%$$

$$\text{DAI 3} = \frac{0,287 - 0,127}{0,287} \times 100\%$$

$$= 55,666\%$$

$$\text{DAI 4} = \frac{0,287 - 0,151}{0,295} \times 100\%$$

$$= 48,851\%$$

$$\text{DAI 5} = \frac{0,287 - 0,140}{0,285} \times 100\%$$

$$= 50,939\%$$

Rata-rata %DAI = 49,548%

**Lampiran 21.** Data hasil uji statistik area under curve.

**Uji Kolmogorov Smirnov**

**Tujuan** : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

**Hasil** :

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		AUC
N		30
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	,1841787
	Std. Deviation	,05369763
	Absolute	,167
Most Extreme Differences	Positive	,167
	Negative	-,140
Kolmogorov-Smirnov Z		,917
Asymp. Sig. (2-tailed)		,370

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan** : Sig. > 0,05 maka data area under curve terdistribusi normal.

**Uji Levene**

**Tujuan** : Untuk mengetahui homogenitas data.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

**Hasil** :

**Test of Homogeneity of Variances**

AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,575	5	24	,205

**Kesimpulan** : Sig. > 0,05 ( $H_0$  diterima) maka area under curve homogen.

### **Uji One Way ANOVA**

**Tujuan** : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari area under curve dari setiap kelompok perlakuan.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

**Hasil** :

#### **ANOVA**

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,080	5	,016	105,800	,000
Within Groups	,004	24	,000		
Total	,084	29			

**Kesimpulan** : Sig. < 0,05 (Ho ditolak) maka terdapat perbedaan yang bermakna area under curve dari tiap perlakuan.

### **Uji Post Hoc (LSD)**

**Tujuan** : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan area under curve yang bermakna.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

**Hasil** :

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: AUC

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	CMC-Na	Natrium diklofenak	,15221420*	,007777717	,000	,1361629	,1682655
		Ekstrak daun pandan wangi	,13707120*	,007777717	,000	,1210199	,1531225
		Fraksi n-heksan	,10542840*	,007777717	,000	,0893771	,1214797
		Fraksi etil asetat	,08828560*	,007777717	,000	,0722343	,1043369
		Fraksi Air	,14292860*	,007777717	,000	,1268773	,1589799
		CMC-Na	-,15221420*	,007777717	,000	-,1682655	-,1361629
	Natrium diklofenak	Ekstrak daun pandan wangi	-,01514300	,007777717	,063	-,0311943	,0009083
		Fraksi n-heksan	-,04678580*	,007777717	,000	-,0628371	-,0307345
		Fraksi etil asetat	-,06392860*	,007777717	,000	-,0799799	-,0478773
		Fraksi Air	-,00928560	,007777717	,244	-,0253369	,0067657
		CMC-Na	-,13707120*	,007777717	,000	-,1531225	-,1210199
		Natrium diklofenak	,01514300	,007777717	,063	-,0009083	,0311943
Fraksi n-heksan	Ekstrak daun pandan wangi	Fraksi n-heksan	-,03164280*	,007777717	,000	-,0476941	-,0155915
		Fraksi etil asetat	-,04878560*	,007777717	,000	-,0648369	-,0327343
		Fraksi Air	,00585740	,007777717	,459	-,0101939	,0219087
		CMC-Na	-,10542840*	,007777717	,000	-,1214797	-,0893771
		Natrium diklofenak	,04678580*	,007777717	,000	,0307345	,0628371
		Ekstrak daun pandan wangi	,03164280*	,007777717	,000	,0155915	,0476941
	Fraksi etil asetat	Fraksi etil asetat	-,01714280*	,007777717	,037	-,0331941	-,0010915
		Fraksi Air	,03750020*	,007777717	,000	,0214489	,0535515
		CMC-Na	-,08828560*	,007777717	,000	-,1043369	-,0722343
		Natrium diklofenak	,06392860*	,007777717	,000	,0478773	,0799799
		Ekstrak daun pandan wangi	,04878560*	,007777717	,000	,0327343	,0648369
		Fraksi n-heksan	,01714280*	,007777717	,037	,0010915	,0331941
Fraksi Air	Fraksi Air	Fraksi Air	,05464300*	,007777717	,000	,0385917	,0706943
		CMC-Na	-,14292860*	,007777717	,000	-,1589799	-,1268773
		Natrium diklofenak	,00928560	,007777717	,244	-,0067657	,0253369
		Ekstrak daun pandan wangi	-,00585740	,007777717	,459	-,0219087	,0101939
		Fraksi n-heksan	-,03750020*	,007777717	,000	-,0535515	-,0214489
		Fraksi etil asetat	-,05464300*	,007777717	,000	-,0706943	-,0385917

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls <sup>a</sup>	Natrium diklofenak	5	,1362858			
	Fraksi Air	5	,1455714			
	Ekstrak daun pandan wangi	5	,1514288			
	Fraksi n-heksan	5		,1830716		
	Fraksi etil asetat	5			,2002144	
	CMC-Na	5				,2885000
	Sig.		,147	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

**Kesimpulan** : dari hasil data diatas menunjukan bahwa kontrol negatif berbeda bermakna dengan kontrol positif, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak. Kelompok positif berbeda makna dengan kelompok kontrol negatif, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan, hal ini menunjukkan bahwa fraksi air dan ekstrak memiliki AUC sebanding dengan kontrol positif natrium diklofenak. Semakin kecil AUC perlakuan uji maka semakin baik DAI dari perlakuan uji.

**Lampiran 22.** Data hasil uji statistik persen daya antiinflamasi.

**Uji Kolmogorov Smirnov**

**Tujuan** : mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

**Hasil** :

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		DAI
N		30
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	36,17953
	Std. Deviation	18,535281
	Absolute	,169
Most Extreme Differences	Positive	,141
	Negative	-,169
Kolmogorov-Smirnov Z		,925
Asymp. Sig. (2-tailed)		,359

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan** : Sig. > 0,05 maka data persen daya antiinflamasi terdistribusi normal

**Uji Levene**

**Tujuan** : Untuk mengetahui homogenitas data.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05 berarti  $H_0$  diterima

**Hasil** :

**Test of Homogeneity of Variances**

DAI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,365	5	24	,070

**Kesimpulan** : Sig. > 0,05 (Ho diterima) maka persen daya antiinflamasi homogen.

### **Uji One Way ANOVA**

**Tujuan** : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen daya antiinflamasi dari setiap kelompok perlakuan.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti Ho ditolak

**Hasil** :  
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

#### **ANOVA**

DAI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9617,703	5	1923,541	133,641	,000
Within Groups	345,439	24	14,393		
Total	9963,143	29			

**Kesimpulan** : Sig. < 0,05 (Ho ditolak) maka terdapat perbedaan yang bermakna persen daya antiinflamasi dari tiap perlakuan.

### **Uji Post Hoc (LSD)**

**Tujuan** : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan area under curve yang bermakna.

**Kriteria uji** : Sig.< 0,05 berarti Ho ditolak

**Hasil** :  
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: DAI

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Lower Bound
CMC-Na	Natrium diklofenak	-52,787200	2,399443	,000	-57,73941	-57,73941
	Ekstrak daun pandan wangi	-47,542600	2,399443	,000	-52,49481	-52,49481
	Fraksi n-heksan	-36,568600	2,399443	,000	-41,52081	-41,52081
	Fraksi etil asetat	-30,631000	2,399443	,000	-35,58321	-35,58321
	Fraksi air	-49,547800	2,399443	,000	-54,50001	-54,50001
Natrium diklofenak	CMC-Na	52,787200	2,399443	,000	47,83499	47,83499
	Ekstrak daun pandan wangi	5,244600	2,399443	,039	,29239	,29239
	Fraksi n-heksan	16,218600	2,399443	,000	11,26639	11,26639
	Fraksi etil asetat	22,156200	2,399443	,000	17,20399	17,20399
	Fraksi air	3,239400	2,399443	,190	-1,71281	-1,71281
Ekstrak daun pandan wangi	CMC-Na	47,542600	2,399443	,000	42,59039	42,59039
	Natrium diklofenak	-5,244600	2,399443	,039	-10,19681	-10,19681
	Fraksi n-heksan	10,974000	2,399443	,000	6,02179	6,02179
	Fraksi etil asetat	16,911600	2,399443	,000	11,95939	11,95939
	Fraksi air	-2,005200	2,399443	,412	-6,95741	-6,95741
Fraksi n- heksan	CMC-Na	36,568600	2,399443	,000	31,61639	31,61639
	Natrium diklofenak	-16,218600	2,399443	,000	-21,17081	-21,17081
	Ekstrak daun pandan wangi	-10,974000	2,399443	,000	-15,92621	-15,92621
	Fraksi etil asetat	5,937600	2,399443	,021	,98539	,98539
	Fraksi air	-12,979200	2,399443	,000	-17,93141	-17,93141
Fraksi etil asetat	CMC-Na	30,631000	2,399443	,000	25,67879	25,67879
	Natrium diklofenak	-22,156200	2,399443	,000	-27,10841	-27,10841
	Ekstrak daun pandan wangi	-16,911600	2,399443	,000	-21,86381	-21,86381
	Fraksi n-heksan	-5,937600	2,399443	,021	-10,88981	-10,88981
	Fraksi air	-18,916800	2,399443	,000	-23,86901	-23,86901
Fraksi air	CMC-Na	49,547800	2,399443	,000	44,59559	44,59559
	Natrium diklofenak	-3,239400	2,399443	,190	-8,19161	-8,19161
	Ekstrak daun pandan wangi	2,005200	2,399443	,412	-2,94701	-2,94701
	Fraksi n-heksan	12,979200	2,399443	,000	8,02699	8,02699
	Fraksi etil asetat	18,916800	2,399443	,000	13,96459	13,96459

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Student-Newman-Keuls <sup>a</sup>	CMC-Na	5	,00000		
	Fraksi etil asetat	5	30,63100		
	Fraksi n-heksan	5		36,56860	
	Ekstrak daun pandan wangi	5			47,54260
	Fraksi air	5			49,54780
	Natrium diklofenak	5			52,78720
	Sig.		1,000	1,000	1,000 ,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

**Kesimpulan :** dari hasil data diatas menunjukan bahwa kontrol negatif berbeda bermakna dengan kontrol positif, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak. Kelompok positif berbeda makna dengan kelompok kontrol negatif, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan, hal ini menunjukkan bahwa fraksi air dan ekstrak memiliki DAI sebanding dengan kontrol positif natrium diklofenak.