

**UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI
COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA)**



oleh :

**Afifah Khoirunnisa
18123554A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana*
Mill.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA)**



SKRIPSI

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

Oleh:

**Afifah Khoirunnisa
18123554A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT
(*Persea americana* Mill.) TERHADAP TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI
COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CEA)**

Oleh :

Afifah Khoirunnisa

18123554A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 25 April 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



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

Pembimbing,

Dr. Gunawan Pamudji W. M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Vivin Nopiyanti S. Farm., M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.
2. Fransiska Leviana, S.Farm.M.Sc., Apt.
3. Vivin Nopiyanti S. Farm., M.Sc., Apt.
4. Dr. Gunawan Pamudji W. . M.Si., Apt.

1.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat

(Q.s. al-Mujadalah : 11)

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

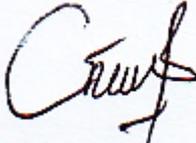
1. Allah SWT.
2. Seluruh keluargaku orang tua, adek dan sahabat yang tersayang.
3. Teman-teman seperjuangan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, khususnya teori 3.
4. Almamater, Bangsa dan Negaraku tercinta

PERNYATAAN

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 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, April 2016



Afifah Khoirunnisa

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan pertolongan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI COMPLETE FREUND’S ADJUVANT (CFA), SKRIPSI”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr.Djoni Tarigan,MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji W. . M.Si., Apt.selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, petunjuk, motivasi, nasehat dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt selaku pembimbing pendamping yang memberikan tuntunan, bimbingan, nasehat, motivasi dan saran kepada penulis selama penelitian ini berlangsung.
5. Ibu Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. dan ibu Fransiska Leviana, S.Farm.M.Sc., Apt.. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji penulis dan memberikan masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.

6. Segenap karyawan Laboratorium yang telah membimbing dan membantu saat praktikum skripsi ini, serta Segenap Dosen, Staf, Karyawan dan karyawan Universitas Setia Budi Surakarta.
7. Keluargaku tercinta Abi, Umi, adekku Muhammad Aqsal Iksanudin terimakasih telah memberikan dorongan, kepercayaan, kasih sayang dan doa.
8. Rekan-rekanku satu tim noviyanti dan marlina terimakasih untuk kesabaran, kerjasama dan kesetiakawannya.
9. Sahabat-sahabatku tersayang Shela, Ulfa, Odilia, Manto, Aprida, Intan Debi, Aulina, dan Mb Annisa terimakasih untuk dukungan dan semangat dari kalian.
10. Untukmu Metta Vebry Raka terimakasih atas bantuan, dukungan, semangat, doa, kasih sayangnya dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak sekali kekurangan dan kelemahan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Kiranya skripsi ini memberikan manfaat yang positif untuk perkembangan Ilmu Farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 25 April 2016

penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DARTAR LAMPIRAN	viii
DARTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Atriris	5
1. Klasifikasi Arthritis	5
2. Manifestasi Klinis Athritis	6
3. Diagnosa Arthritis.....	7
4. Etiologi Arthritis	7
5. Patofisiologis Arthritis	7
6. komplikasi Arthritis	8
B. Tanaman Biji Alpukat	9
1. Sistematika Tanaman	9
2. Nama Lain.....	9
3. Morfologi Tanaman	9
4. Kandungan Kimia	10

4.1.Flavonoid	10
4.2.Saponin	10
4.3.Alkaloid	11
5. Kegunaan Tanaman.....	11
C. Pengelolaan Arthritis	11
D. Simplisia	13
1. Pengertian simplisia	14
2. Pengeringan Simplisia	14
E. Penyarian	14
1. Pengertian Penyarian	14
2. Pengertian Ekstrak	17
3. Metode Penyarian	15
3.1.Infundasi	15
3.2.Maserasi	15
3.3.Perkolasi.....	15
3.4.Sokletasi	16
3.5.Refluks	16
4. Pelarut etanol	16
F. Metode uji antiarthritis.....	17
1. Metode Uji	17
2. Metode analisa	17
G. Hewan uji	19
1. Sistematika tikus uji.....	19
2. Karakteristik utama tikus putih.....	20
3. Jenis Kelamin.....	20
4. Cara pemberian secara oral.....	21
H. Landasan teori	21
I. Hipotesis	25
 BAB III METODE PENELITIAN	 26
A. Populasi dan Sampel	26
B. Variabel Penelitian	26
1. Identifikasi variabel utama	26
2. Klasifikasi variabel utama	27
3. Definisi operasional variabel utama	27
C. Alat, bahan dan hewan uji.....	29
1. Alat	29
2. Bahan	29
3. Hewan Uji	29
D. Jalannya Penelitian	30
1. Identifikasi biji alpukat	30
2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk biji alpukat.....	30
3. Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat	30
4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat	30
5. Identifikasi kandungan senyawa kimia	31

5.1. Identifikasi flavonoid	31
5.2. Identifikasi alkaloid	31
5.3. Identifikasi steroid	32
5.4. identifikasi saponin	32
5.5. identifikasi tannin	32
6. Penetapan dosis	33
6.1. Dosis ekstrak biji alpukat	33
6.2. Dosis triamsinolon asetonid	33
7. Perlakuan hewan uji	33
8. Prosedur pengujian arthritis	34
8.1.Uji aktivitas antiarthritis diinduksi pereaksi CFA	34
9. Penggunaan Alat <i>plethymograph</i>	35
10. Uji histopatologi persendiann	35
10.1.Fiksasi jaringan dengan formalon dalam PBS pH 7,4	35
10.2.Tahap dekalsifikasi metode dengan Von Ebner's	36
10.3.Tahap dehidrasi	36
10.4 Tahap pembuatan blok parafin	36
10.5. Tahap deparafinasi dan rehidrasi	36
10.6. Tahap pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE)	36
10.7. Tahap dehidrasi (sesudah pewarnaan)	37
10.8. Tahap pembacaan sampel	37
E. Analisis Hasil	39

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil penelitian	41
1. Hasil identifikasi biji alpukat	41
1.1. Hasil determinasi biji alpukat	41
1.2. Hasil diskripsi biji alpukat	41
1.3. Hasil identifikasi makroskopis biji alpukat	41
2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk biji alpukat	42
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat	42
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol biji alpukat	43
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia	44
B. Hasil perhitungan presentasi penurunan volume udem	45
C. Hasil pengukuran histopatologi persendian	49
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema mekanisme inflamasi.....	25
2. Skema prosedur uji histopatologi.....	39
3. Skema prosedur uji antiarthritis	41
4. Grafik hubungan rata-rata volume udem dengan waktu perlakuan	47
5. Grafik total AUC persen penurunan volume udem	49
6. Perubahan histopatologi sendi kaki tikus.....	50
7. Perubahan histologi sendi kaki tikus.....	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk biji alpukat	43
2. Hasil pengeringan serbuk biji alpukat.....	43
3. Hasil penetapan susut pengeringan	44
4. Rendemen ekstrak etanol biji alpukat	45
5. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi	59
2. Surat keterangan hewan uji	60
3. Gambar tanaman, serbuk, dan ekstrak biji alpukat	61
4. Gambar kontrol positif	62
5. Gambar peralatan dalam penelitian.....	63
6. Gambar larutan stok dan sediaan induksi CFA.....	64
7. Gambar hasil uji identifikasi kandungan kimia	65
8. Gambar hewan uji dan pemberian ekstrak secara oral.....	66
9. Pengujian arthritis	67
10. Hasil presentase rendemen berat kering terhadap berat basah.....	68
11. Hasil penetapan susut pengeringan biji alpukat.....	69
12. Hasil presentase rendemen ekstrak maserasi biji alpukat	70
13. Perhitungan dosis	71
14. Hasil pengukuran volume udem kaki tikus.....	73
15. Perhitungan persen penurunan volume udem kaki tikus	74
16. Data total AUC persen penurunan udem	75
17. Data analisis statisik AUC	77
18. Hasil analisis statistic pengukuran volume udem	80

DAFTAR SINGKATAN

AR	Arthritis Rheumatoid
Depkes	Departemen kesehatan
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
AF	<i>Arthritis Foundation</i>
CFA	<i>Complete Freund's adjuvant</i>
IL	Interleukin
OAINS	Obat Anti Inflamasi Nonsteroid
DMARD	<i>Disease-modifyng antirheumatoid drugs</i>
HE	<i>Heamotoxylin – Eosin</i>
AUC	Area Under Curve

INTISARI

KHOIRUNNISA, A., 2016, UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI *COMPLETE FREUND'S ADJUVANT* (CFA), SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Artritis reumatoid adalah penyakit kronis, dimana terjadi inflamasi pada persendian di dalam tubuh yang dikarakterisasi dengan munculnya rasa nyeri serta pembengkakan sendi khususnya pada jari-jari, pergelangan dan lutut. Biji alpukat (*persea Americana* Mill.) adalah salah satu biji yang dapat digunakan untuk mengobati arthritis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiarthritis, mengetahui profil penurunan volume udem, dan perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus jantan yang diinduksi CFA, setelah pemberian ekstrak etanol biji alpukat

Hewan uji diidentifikasi CFA sebelum diberi perlakuan. Sediaan uji berupa suspensi ekstrak yang diberikan selama 7hari, volume udem kaki tikus diukur setiap hari. Kelompok pertama ekstrak biji alpukat dosis 1.96 g/kg BB, kelompok kedua ekstrak biji alpukat dosis 3.92 g/kg BB, kelompok ketiga ekstrak biji alpukat dosis 0.98 g/kg BB, kelompok keempat kontrol positif triamsinolon dosis 0.36 g/kg BB, kelompok kelima kontrol negative CMC 0,5%. Parameter yang diamati adalah presentase penurunan volume udem dan profil histopatologi sendi. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dua jalan (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat memberikan efek antiarthritis. Dosis yang efektif menurunkan volume udem adalah 1,96 g/kg BB, dibuktikan pada profil histopatologi memberikan gambaran ruang sendi kaki tikus kelompok uji lebih bersih dan mengandung infiltrasi sel yang lebih sedikit dibanding kontrol negatif.

Kata kunci : *persea Americana* Mill, *complete freund's adjuvant*, ekstrak etanol, antiarthritis, volume udem

ABSTRACT

KHOIRUNNISA, A., 2016, ANTIARTHRITIS ACTIVITIES TEST OF AVOCADO (*Persea americana* Mill.) SEED ETHANOL EXTRACT ON MALE COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA) INDUCED RATS, THESIS, FACULTY PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI SURAKARTA.

Rheumatoid arthritis is a chronic disease there was inflammation of the joints in the body which is characterized by the appearance of pain and swelling of especially the fingers, wrist and knee. Avocado seed was one herbal medicine can to arthritis. This study aimed to determine the effects of antiarthritis, knew the decrease of edema volume, and histopathological improvement profile of male rats induced with CFA, after administration of ethanol extracts of avocado seed.

Animals test induced with CFA before treated. The test preparation in the suspension form of the extract gave for 7 days, leg edema volume was measured every day. The first until third group were given by avocado seed extract dose of 1.96, 3.92, 0.98 (g / kg W) respectively, the fours group of triamcinolone dose 0.36 g/kg BB, negative control group fifth CMC 0.5%. Parameters measured was percentage reduction in the volume of edema and joint histopathology profile. The result was analyzed by two-way ANOVA (significance $p < 0.05$).

The results showed that the ethanol extract of the seed of avocado provides antiarthritis effect. The effective dose decrease edema wolume was 1.96 g/kg W. Demonstrated in histopathological profile provided an overview of the joint space test group of mice feet more clean and contain fewer cell infiltration compared to negative control.

key word : *Persea americana* Mill, complete freund's adjuvant, rheumatoid arthristis, antiarthritis.

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Arthritis berasal dari bahasa Yunani, *arthron* yang berarti sendi, *itis* yang berarti peradangan. Arthritis mempunyai arti “radang sendi” (Gordon 2002). Arthritis atau sering disebut rematik adalah penyakit yang menyerang persendian dan struktur yang ada pada sekitar persendian (Nainggolan 2009). Lebih dari 100 macam penyakit yang dapat mempengaruhi daerah sekitar sendi. Prevalensi yang paling banyak terjadi adalah *Arthritis Rheumatoid* (AR), Osteoarthritis (OA), arthritis gout (pirai), dan fibromialgia (Depkes RI 2006).

Arthritis reumatoid adalah penyakit kronis, dimana terjadi inflamasi pada persendian dalam tubuh yang dikarakterisasi dengan munculnya rasa nyeri serta pembengkakan sendi khususnya pada jari-jari, pergelangan dan lutut (Kumar *et al.* 1992). Penyakit ini dapat menyerang segala umur tetapi umumnya pada umur sekitar 40-60 tahun (Bodman & Roitt 1994). Penyakit reumatik arthritis sering kali hanya dianggap sepele oleh penderita karena gejala yang seperti orang flu pada umumnya, tetapi sebenarnya reumatik arthritis dapat menyebabkan kematian. Terdapat sekitar 360.000 orang di Indonesia menderita penyakit ini dan lebih dari 100 jenis penyakit arthritis, tetapi arthritis reumatoid adalah jenis arthritis yang bisa menimbulkan kecacatan paling parah. *Arthritis Foundation* (AF) menyebutkan obat yang dapat digunakan untuk mengobati arthritis yaitu: obat antiinflamasi atau AINS, kortikosteroid dan tirematik.

Penggunaan obat–obat ini dapat menimbulkan efek samping dan toksisitas. Penggunaan antiinflamasi dapat menimbulkan kerusakan renal, ulserasi, dan perdarahan saluran cerna, sedangkan penggunaan kortikosteroid dapat menimbulkan hipertensi, hiperglikemia, dan osteoporosis (Yulinah 2008). Penggunaan AINS dapat menimbulkan gangguan fungsi ginjal akut (Nugroho 2012). Adanya efek samping dan toksisitas yang ditimbulkan dari pengobatan ini, menyebabkan banyaknya penelitian terhadap tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai anti artritis, dengan resiko terjadinya efek samping lebih rendah.

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenik maupun campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan secara turun temurun untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Obat tradisional telah digunakan oleh berbagai aspek masyarakat mulai dari tingkat ekonomi atas sampai tingkat bawah, karena obat tradisional mudah didapat, harganya yang cukup terjangkau dan berkhasiat untuk pengobatan, perawatan dan pencegahan penyakit (Ditjen POM 1994). Keuntungan penggunaan obat tradisional ialah mudah diperoleh dan bahan bakunya dapat ditanam sendiri, harga terjangkau dan dapat diramu sendiri. Pengobatan tradisional memiliki banyak kelebihan seperti : efek samping yang ditimbulkan lebih rendah dari pada obat-obat kimia dan absorpsinya dalam tubuh lebih mudah.

Penginduksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). CFA memberikan gambaran klinis mirip dengan

keadaan artritis dan patogenesis dengan kondisi arthritis yang terjadi secara alami. CFA lebih mudah ditemukan dengan harga yang lebih terjangkau dibanding dengan penginduksi arthritis lainnya

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jayaprakasam dan Ravi (2012) menunjukkan hasil adanya aktivitas antiarthritis diduga karena adanya kandungan steroid, flavonoid dan alkaloid. Biji alpukat mengandung senyawa polifenol, flavonoid, triterponoid, kuionon, tannin, saponin, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antiradang (Wijayakusuma 1998). Hasil penelitian oleh Rahayu (2009) menunjukkan sediaan ekstrak biji alpukat mempunyai efek antiinflamasi. Mekanisme terjadinya radang salah satunya adalah peningkatan permeabilitas pembuluh darah disertai keluarnya sel darah putih dan protein plasma ke dalam jaringan yang disebut eksudasi. Eksudasi inilah cairan yang menjadi dasar terjadinya pembengkakan. Patogenesis pada arthritis adanya panus di jaringan sinovial karena proses fagositosis.

Berdasarkan penelitian sebelumnya maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiarthritis biji alpukat pada tikus jantan yang diinduksi CFA.

B. Perumusan Masalah

Masalah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol biji alpukat memberikan efek anti artritis pada tikus jantan yang diinduksi CFA?

2. Apakah terjadi penghambatan volume udem yang dinyatakan dalam (%), dan perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus jantan yang diinduksi CFA, setelah pemberian ekstrak etanol biji alpukat ?
3. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol biji alpukat yang memberikan efek anti artritis pada tikus jantan yang diinduksi CFA?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui efek antiartritis ekstrak etanol biji alpukat pada tikus jantan yang diinduksi CFA.
2. Mengetahui profil penurunan volume udem, dan perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus jantan yang diinduksi CFA, setelah pemberian ekstrak etanol biji alpukat.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mengetahui potensi obat herbal dan mengembangkan obat tradisional di Indonesia, dan memberikan informasi baru bagi masyarakat dan sebagai ilmu pengetahuan dalam hal pemanfaatan/ penggunaan biji alpukat sebagai alternatif pengobatan artritis/rematik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Arthritis

Kata arthritis berasal dari dua kata Yunani. Pertama, *arthron*, yang berarti sendi. Kedua, *itis* yang berarti peradangan. Rheumatoid arthritis adalah suatu penyakit autoimun dimana persendian (biasanya sendi tangan dan kaki) mengalami peradangan, sehingga terjadi pembengkakan, nyeri dan seringkali akhirnya menyebabkan kerusakan bagian dalam sendi (Gordon 2002). Arthritis atau yang sering disebut rematik adalah penyakit yang menyerang sendi dan struktur di sekitar sendi.

Reaksi autoimun terutama terjadi dalam jaringan synovial pada rheumatoid arthritis. Proses fagositosis yang terjadi menghasilkan enzim-enzim dalam sendi. Enzim-enzim tersebut kemudian memecah kolagen sehingga menyebabkan terjadinya edema, proliferasi membran sinovial, serta pembentukan pannus. Pannus akan menghancurkan tulang rawan dan menyebabkan erosi pada tulang, mengakibatkan hilangnya permukaan sendi dan menyebabkan gangguan pergerakan pada sendi, pada saat ini, otot akan terkena, karena serabut otot mengalami perubahan degeneratif yang ditandai dengan hilangnya elastisitas dan kekuatan kontraksi otot (Smeltzer & Bare 2002).

1. Klasifikasi artritis

Klasifikasikan rheumatoid arthritis menjadi 4 tipe, yaitu: pertama, rheumatoid arthritis klasik pada tipe ini harus terdapat 7 kriteria tanda dan gejala sendi yang harus berlangsung terus menerus, paling sedikit dalam waktu 6 minggu. Kedua, rheumatoid arthritis defisit pada tipe ini harus terdapat 5 kriteria tanda dan gejala sendi yang harus berlangsung terus menerus, paling sedikit dalam waktu 6 minggu. Ketiga, *probable* rheumatoid arthritis pada tipe ini harus terdapat 3 kriteria tanda dan gejala sendi yang harus berlangsung terus menerus, paling sedikit dalam waktu 6 minggu. Keempat, *possible* rheumatoid arthritis pada tipe ini harus terdapat 2 kriteria tanda dan gejala sendi yang harus berlangsung terus menerus, paling sedikit dalam waktu 3 bulan.

2. Manifestasi klinis artritis

Gejala umum rheumatoid arthritis datang dan pergi tergantung pada tingkat peradangan jaringan. Ketika jaringan tubuh meradang, penyakit ini aktif. Ketika jaringan berhenti meradang, penyakit ini tidak aktif. Remisi dapat terjadi secara spontan atau dengan pengobatan dan pada minggu-minggu terakhir bisa bulan atau tahun. Selama remisi gejala penyakit hilang dan orang-orang pada umumnya merasa sehat, ketika penyakit ini aktif lagi (kambuh) ataupun gejala kembali (Reeves, Roux & Lockhart 2001).

Gejala penyakit ketika aktif yaitu kelelahan, kehilangan energi, kurangnya nafsu makan, demam kelas rendah, nyeri otot dan sendi, kekakuan. Otot dan kekakuan sendi biasanya paling sering di pagi hari. Gejala sistemik dari rheumatoid arthritis adalah mudah capek, lemah, lesu, takikardi, berat badan menurun, anemia

(Long 1996). Pola karakteristik dari persendian yang terkena adalah : mulai pada persendian kecil di tangan, pergelangan, dan kaki. Secara progresif mengenai persendian, lutut, bahu, pinggul, siku, pergelangan kaki, tulang belakang serviks, dan temporomandibular.

3. Diagnosis arthritis

Faktor yang turut dalam memberikan kontribusi pada penegakan diagnosis rheumatoid arthritis, yaitu nodul rheumatoid, inflamasi sendi yang ditemukan pada saat palpasi dan hasil-hasil pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium menunjukkan peninggian laju endap darah dan factor rheumatoid yang positif sekitar 70%; pada awal penyakit faktor ini negatif. Jumlah sel darah merah dan komplemen C4 menurun. Pemeriksaan reaktifprotein (CRP) dan antibody antinukleus (ANA) dapat menunjukkan hasil yang positif. Artrosentesis akan memperlihatkan cairan sinovial yang keruh, berwarna mirip susu atau kuning gelap dan mengandung banyak sel inflamasi, seperti leukosit dan komplemen (Smeltzer & Bare 2002). Pemeriksaan sinar-X dilakukan untuk membantu penegakan diagnosis dan memantau perjalanan penyakitnya. Foto rongen akan memperlihatkan erosi tulang yang khas dan penyempitan rongga sendi yang terjadi dalam perjalanan penyakit tersebut (Smeltzer & Bare 2002).

4. Etiologi arthritis

Penyebab penyakit rheumatoid arthritis belum diketahui secara pasti, namun faktor predisposisinya adalah mekanisme imunitas (antigen-antibodi), faktor metabolik, dan infeksi virus (Suratun *et.al* 2008).

5. Patofisiologis arthritis

Rheumatoid arthritis merupakan reaksi autoimun (yang dijelaskan sebelumnya) terutama terjadi dalam jaringan sinovial. Proses fagositosis menghasilkan enzim-enzim dalam sendi. Enzim-enzim tersebut akan memecah kolagen sehingga terjadi edema, proliferasi membran sinovial dan akhirnya pembentukan pannus. Pannus akan menghancurkan tulang rawan dan menimbulkan erosi tulang, akibatnya adalah hilangnya permukaan sendi yang akan mengganggu gerak sendi. Otot akan turut terkena karena serabut otot akan mengalami perubahan degenerative dengan hilangnya elastisitas otot dan kekuatan kontraksi otot (Smeltzer & Bare, 2002). Lamanya rheumatoid arthritis berbeda pada setiap orang ditandai dengan adanya masa serangan dan tidak adanya serangan. Sementara ada orang yang sembuh dari serangan pertama dan selanjutnya tidak terserang lagi, namun pada sebagian kecil individu terjadi progresif yang cepat ditandai dengan kerusakan sendi yang terus menerus dan terjadi vaskulitis yang difusi (Long 1996).

6. Komplikasi arthritis

Komplikasi sistem pencernaan yang sering dijumpai adalah gastritis dan ulkus peptik yang merupakan komplikasi utama penggunaan obat anti inflamasi nonsteroid (OAINS) atau obat pengubah perjalanan penyakit (DMARD) yang menjadi faktor penyebab morbiditas dan mortalitas utama pada artritis reumatoid. Penyakit arthritis kemungkinan dapat juga terdapat komplikasi saraf, namun komplikasi saraf yang terjadi tidak memberikan gambaran jelas, sehingga sukar dibedakan antara akibat lesi artikuler dan lesi neuropatik (Mansjoer *et al.* 2001).

B. Tanaman alpukat

1. Sistematika tanaman

Taksonomi/ sistematika tanaman alpukat diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranunculales
Ordo	: laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: Persea
Jenis	: <i>Persea gratissima</i> Gaertn
Species	: <i>Persea americana</i> Mill. (Depkes RI 2001)

2. Nama lain

Inggris : avocado. Jawa : apokat avokat, plokot. Sunda : apuket, alpukat, jambu wolanda. Sumatra : pokat, apokat, alpokat. avokat, advokat.

3. Morfologi tanaman

Pohon buah ini berasal dari Amerika tengah, tumbuh liar di hutan - hutan, banyak juga ditanam di kebun, dan di pekarangan yang lapisan tanahnya gembur dan subur serta tidak tergenang air. Pohon kecil, berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warnanya coklat kotor, banyak bercabang, ranting berambut halus. Daun tunggal, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit ujung dan pangkal yang runcing. Tepi rata kadang agak menggulung keatas, betulang menyirip, daun muda warnanya

kemerahan dan berambut rapat, daun tua warnaya hijau dan gundul. Bunganya majemuk, buahnya buah buni, bentuk bola dan bulat telur, warnanya hijau atau hijau kekuningan, daging buah jika sudah masak lunak, warnaya hijau kekuningan. Biji bulat seperti bola, keping biji putih kemerahan. Buah alpukat yang masak dagingnya lunak, berlemak biasanya dimakan sebagai es campur atau dibuat jus. Minyaknya digunakan antara lain untuk keperluan kosmetik.(Yuniarti 2008)

4. Kandungan kimia

Biji alpukat diketahui mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, triterpen, tannin, flavonoid dan saponin. (Mira 2012).

4.1. Flavonoid. Flavonoid tersebar merata dalam dunia tumbuhan (Arifin *et.al* 1990). Flavonoid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, buah, dan biji (Markham 1988). Flavonoid mudah mengalami peruraian karena panas, kerja enzim, adanya air dan pH. Flavonoid larut dalam air, metanol, etanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamid. Pengaruh glikosilasi (flavonoid glikosida) menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton maupun air (Harborne 1996). Senyawa flavonoid mempunyai beberapa efek, di antaranya adalah diuretik, antibiotik, antikonvulsan, sedatif, antifertilitas, dan antiinflamasi (Arifin *et al.* 1990).

4.2 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi dengan kemampuannya membentuk busa yang mantap (tahan lama) ketika diekstraksi dan menghemolisis darah. Saponin adalah

senyawa glikosida triterpena dan sterol yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin memiliki sifat antimikroba, baik triterpen maupun steroidal (Naidu2000).

4.3. Alkaloid. Alkaloid adalah golongan senyawa kimia yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid banyak dijumpai sebagai garam organik pada tumbuhan, dalam bentuk senyawa padat alkaloid berbentuk kristal, dan kebanyakan tidak memiliki warna.

5. Kegunaan tanaman

Secara empiris manfaat biji alpukat juga sangat baik untuk kesehatan yaitu dapat digunakan sebagai obat sakit maag, dapat mengobati penyakit kencing manis (diabetes) terutama diabetes mellitus, mampu menghilangkan stress akibat aktivitas yang padat. Sebagai obat sariawan. Dan menghilangkan rasa nyeri. Manfaat lain dari tanaman alpukat adalah untuk mengobati sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering sakit gigi, bengkak karena peradangan (zuhrotun 2007).

C. Pengelolaan arthritis

Menurut Nugroho (2012) pengobatan penyakit reumatik dapat dilakukan melalui beberapa pendekatan yaitu: DMARD (*Disease-modifying antirheumatoid drug*), obat anti inflamasi nonsteroid (AINS), immunosupresan dan agen antisitokin.

DMARD mempunyai efek yang dapat menurunkan dan atau memperbaiki gejala, serta menurunkan aktivitas penyakit pada arthritis. DMARD memiliki

aktivitas antiinflamasi yang sangat kuat. DMARD memiliki daya antierosif yang mampu menghentikan atau memperlambat kerusakan tulang rawan. Obat golongan ini tidak memiliki aktivitas analgesik sehingga penggunaan obat ini sering dikombinasikan dengan obat anti inflamasi nonsteroid (Isbagio 1993). DMARD mempunyai efek menurunkan atau memperbaiki gejala, dan menurunkan aktivitas penyakit pada artritis rheumatoid, dalam golongan obat ini adalah sulfasalazin, *gold compound*, penisilamid, klorokuin dan metotreksat (Nugroho 2012).

AINS digunakan untuk mengurangi rasa sakit yang berasal dari gejala artritis, maka dapat digunakan analgetik dan obat anti inflamasi non steroid (Dafid *et al.* 2010). Yulinah (2008) menyatakan bahwa AINS lebih tepat daripada analgetik dalam artritis reumatoid dan osteoartritis. AINS dikontraindikasikan untuk pasien dengan riwayat hipersensitivitas terhadap asetosal atau AINS lainnya, termasuk juga penderita asma, angiodema, urtikaria, atau rinitis. Golongan obat AINS adalah diklofenak, indometasin, piroksikam, fenilbutason, naftilakanon, asam flufenamat, ibuprofen, dan acetosal. Penanganan medik pemberian salsilat atau NSAID (Non Steriodal Anti-Inflammatory Drug) dalam dosis terapeutik, kalau diberikan dalam dosis terapeutik yang penuh, obat-obat ini akan memberikan efek anti inflamasi maupun analgesik. Namun pasien perlu diberitahukan untuk menggunakan obat menurut resep dokter agar kadar obat yang konsisten dalam darah bisa dipertahankan sehingga keefektifan obat anti-inflamasi tersebut dapat mencapai tingkat yang optimal (Smeltzer & Bare 2002).

Kortikosteroid diberikan pada pasien artritis dengan kondisi yang lebih progresif dengan pembengkakan dan nyeri sendi yang lebih parah. Mekanisme kerjanya obat ini menghambat fosfolipase A2 yang bertanggung jawab pada pembentukan asam arakidonat yang merupakan mediator inflamasi. Obat golongan kortikosteroid adalah prednison (oral), metilprednisolon asetat (intramuskular), triamnisolon hersasetonida, dan triamnisolon asetonida.

Nugroho (2012) menyatakan bahwa obat immunosupresan beraksi pada fase induksi reaksi imun, dengan menurunkan proliferasi limfosit, meskipun beberapa diantaranya memiliki aksi pada fase efektor. Obat ini digunakan pada terapi penyakit autoimun dan digunakan untuk menekan penolakan organ. Obat golongan immunosupresan adalah azatioprin, metotreksat, talidomida, sulfalazin.

Terapi non farmakologis arthritis bisa dilakukan dengan modifikasi gaya hidup, rehabilitas, kompres hangat, dan pembedahan. Modifikasi gaya hidup dan rehabilitas dapat memperbaiki kualitas hidup pasien. Kompres hangat bertujuan untuk memperlancar sirkulasi darah mengurangi rasa sakit, merangsang peristaltic usus, memperlancar pengeluaran getah radang, serta memberikan rasa hangat dan nyaman (Fanada 2012). Kemudian terapi non farmakologis yang terakhir yaitu pembedahan, dilakukan jika semua terapi yang digunakan tidak memberikan efek yang baik.

D. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa

bahan yang telah kering. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati ialah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani ialah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican (mineral) ialah simplisia berupa bahan pelican yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan berupa zat kimia murni (Depkes RI 1986).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan salah satu proses yang dapat menentukan baik buruknya mutu produk yang dihasilkan. Oleh karena itu dalam proses pengeringan harus memperhatikan sifat – sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu dan lamanya pemanasan (Depkes 1986).

Pengeringan pada dasarnya dikenal dengan dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin - anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diatur (Depkes 1985).

E. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian adalah proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih. Sistem pelarut yang

digunakan harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1985). Penyarian dikenal dengan beberapa cara, yaitu infundasi, maserasi, perkolasi, dan penyaringan berkesinambungan (Depkes RI 1986).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang kering, kental atau cair yang didapat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan cara yang sesuai, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes 1979). Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di dalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi, sehingga memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat. Sediaan ekstrak, kadar zat berkhasiat dapat lebih mudah distandarisasikan dibanding dalam bentuk simplisia (Anief 1997).

3. Metode penyarian

Metode penyarian ada beberapa macam yaitu :

3.1. Infudasi. Infundasi adalah proses penyarian yang banyak digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes 1986).

3.2. Maserasi. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia dengan kandungan zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain (Depkes 1986).

3.3. Perkolasi. Perkolasi dilakukan dengan cara membasahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan 2,5 – 5 bagian cairan penyari yang sesuai (Anief 1997). Keuntungan dari metode ini adalah hasil ekstraksi zat aktif yang diperoleh tinggi, pemanfaatan simplisia dapat optimal, dan proses pembuatan cepat. Metode perkolasi, memerlukan pengawasan dan pengamatan tinggi (Voigt 1994).

3.4. Sokletasi. Sokletasi merupakan cara pengekstrasian tanaman yang menggunakan alat soklet. Proses sokhletasi pelarut dan simplisia diletakkan terpisah. Sokletasi digunakan untuk simplisia yang stabil dan tahan terdapat pemanasan.

3.5. Refluks. Refluks adalah proses penyarian yang dilakukan dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, dalam jangka waktu tertentu. Pelarut pada refluks ini akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu.

4. Pelarut etanol

Pelarut adalah zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat dan biasanya jumlahnya lebih besar daripada zat terlarut, prinsip kelarutan yaitu: pelarut polar akan melarutkan senyawa polar demikian juga sebaliknya pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar, dan pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Yunita 2004). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain stabil secara fisika kimia, murah, mudah didapat, bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang

dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96 %. Etanol dipilih karna sifatnya yang dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, steroid dan saponin yang terkandung dalam tanaman yang dicari. Etanol juga memiliki kelebihan karna lebih selektif, dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1995).

F. Metode uji antiaitritis

1. Metode uji

Ada beberapa metode induksi yang dapat digunakan untuk uji anti-arthritis terhadap hewan uji yaitu *Adjuvant-induced arthritis*, *Antigen arthritis*, *Collagen-induced arthritis*, *Formaldehyde induced arthritis*, *MRL/I arthritis*, *Streptococcal cell wall-induced arthritis*

Pada metode ini yang paling sering digunakan adalah CFA. CFA ini mengandung *Mycobacterium* atau dinding-dinding sel bakteri sebagai zat penginduksinya. Suspensi dari *adjuvant* ini disuntikkan pada daerah plantar kaki. Pada hari ke 9-10 setelah penyuntikan proses inflamasi reumatoid arthritis ini akan muncul, volume udem yang terbentuk diukur menggunakan alat pletismometer sederhana (Mulyaningsih & Darmawan 2006).

2. Metode analisa

Untuk mengetahui derajat inflamasi pada sendi hewan uji dalam penelitian ini digunakan metode penurunan volume udem, serta perbaikan histopatologi persendian

Pengukuran volume kaki diukur dengan menggunakan alat *pletismograph*, yang dilakukan dengan mencelupkan kaki tikus ke dalamnya dan dibaca volume bagian kaki yang dicelupkan tersebut dalam satuan ml (Simoes *et al.* 2005). Kemudian dilakukan perhitungan persen penurunan volume udem kaki, di bawah ini rumus perhitungan persen penurunan volume udem kaki :

$$\% = \left(\frac{V_0 - V_1}{V_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan : % = prosentase penurunan volume udem kaki, V1 = volume kaki tikus yang diberi perlakuan, V0 = volume kaki tikus yang tidak diberi perlakuan

Uji histopatologi persendian dilakukan pada hari ke-14 yang dilakukan dengan cara menguliti kaki tikus yang artritis, dicuci kemudian dimasukkan dalam larutan fiksatif (formalin dalam PBS pH 7,4). Setelah itu dilakukan tahap dekalsifikasi, yang dilakukan dengan merendam jaringan sendi tikus pada larutan Von Ebner's dan diamati ada tidaknya endapan putih, jika terdapat endapan putih dekalsifikasi dikatakan belum sempurna sehingga proses dekalsifikasi tetap dilanjutkan dengan menggunakan larutan Von Ebner's yang diganti dengan larutan baru setiap 24 jam, serta ditambahkan HCl pekat yang semakin lama semakin banyak. Setelah dekalsifikasi sempurna, jaringan dimasukkan lagi ke dalam larutan Von Ebner's baru dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam,

jaringan diambil dan dibungkus dengan kain kasa, lalu dibersihkan dari sisa larutan dekalsifikasi dengan air mengalir selama minimal 2 jam. Setelah itu, jaringan dibilas dengan aquades dan difiksasi kembali dengan PBS formalin pH 7,4 selama minimal 2 jam. Kemudian dilakukan pembuatan blok parafin, yang dilakukan dengan cara dehidrasi menggunakan sistem konsentrasi alkohol bertingkat, proses clearing, dan embedding. Lalu sampel persediaan difiksasi dalam parafin untuk dilakukan pemotongan. Pemotongan dilakukan dengan membuat beberapa potongan dalam satuan μm dan masing-masing dipilih potongan dalam bentuk dan ukuran yang seragam. Potongan yang terpilih difiksasi pada kaca objek dan diwarnai dengan Hematoksilin dan Eosin. Setelah dilakukan pewarnaan, preparat didehidrasi lagi, untuk memudahkan zat warna agar tidak terlalu pekat sehingga mudah diamati dibawah mikroskop. Kemudian dilakukan proses mounting dengan menggunakan canada balsem untuk mengawetkan preparat yang telah diwarnai. Selanjutnya, dilakukan tahap pembacaan sampel (Freida 2002).

G. Hewan uji

1. Sistematika tikus uji

Kedudukan tikus dalam sistematika menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut :

Filum	:	Chordata
Sub filum	:	Vertebrata
Classis	:	Mamalia

Sub Classis	:	Plasentia
Ordo	:	Rodentia
Familia	:	Muridae
Genus	:	<i>Rattus</i>
Spesies	:	<i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus putih atau tikus laboratorium merupakan hewan yang semarga dengan tikus liar. Secara umum tikus laboratorium termasuk ke dalam tikus yang memiliki ukuran tubuh medium, memiliki rambut yang tidak terlalu banyak dan memiliki ekor bersisik yang panjangnya lebih pendek dibandingkan panjang badannya. Rambut hewan ini sedikit kasar dan berwarna abu-abu di bagian dorsal serta berwarna putih kekuningan di bagian ventral. Tikus ini memiliki moncong yang panjang, memiliki mata yang kecil, telinga dan ekor yang tak berambut. Tikus ini memiliki 4 jari yang berkuku dan ukurannya tidak terlalu besar. Tikus galur Wistar memiliki ciri-ciri bentuk kepala lebih besar dengan ekor yang lebih pendek (Malole dan Pramono 1989).

3. Jenis kelamin

Tikus yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus jantan. Tikus jantan memiliki kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina. Keuntungan lainnya tikus jantan lebih tenang dan mudah ditangani serta mempunyai sistem hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan jenis kelamin betina sehingga dapat memberikan hasil percobaan yang baik (Depkes RI 1986). Tikus putih mempunyai telapak kaki yang lebih besar, mudah diamati, dan diukur

volume kakinya dibanding dengan kaki mencit. Tikus putih cenderung aktif pada malam hari, sedangkan pada siang hari digunakan untuk istirahat dan tidur sehingga pada siang hari tikus lebih mudah ditangani.

4. Cara pemberian obat secara oral

Pemberian obat peroral pada mencit dan tikus diberikan dengan menggunakan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum atau kanula yang berujung tumpul dan berbentuk bola. Jarum atau kanula dimasukkan secara perlahan ke dalam mulut hewan uji, melalui langit-langit hewan uji hingga sampai di esophagus.

H. Landasan Teori

Rheumatoid arthritis adalah suatu penyakit autoimun dimana persendian (biasanya sendi tangan dan kaki) mengalami peradangan, sehingga terjadi pembengkakan, nyeri dan seringkali akhirnya menyebabkan kerusakan bagian dalam sendi (Gordon, 2002). Artritis atau yang sering disebut rematik adalah penyakit yang menyerang sendi dan struktur di sekitar sendi

Terjadinya artritis disebabkan oleh adanya faktor inflamasi kronik, yang menyebabkan aktivitas osteoklas meningkat. Osteoklas adalah sel yang bekerja pada permukaan tulang sendi yang menyebabkan tulang mengalami penyerapan tulang. Pada reumatoid arthritis, osteoklas yang meningkat tidak diimbangi dengan pengaktifan osteoblas, yang menyebabkan proses destruksi tulang lebih cepat dibanding konstruksinya, sehingga terjadi gangguan sendi dan berkurangnya

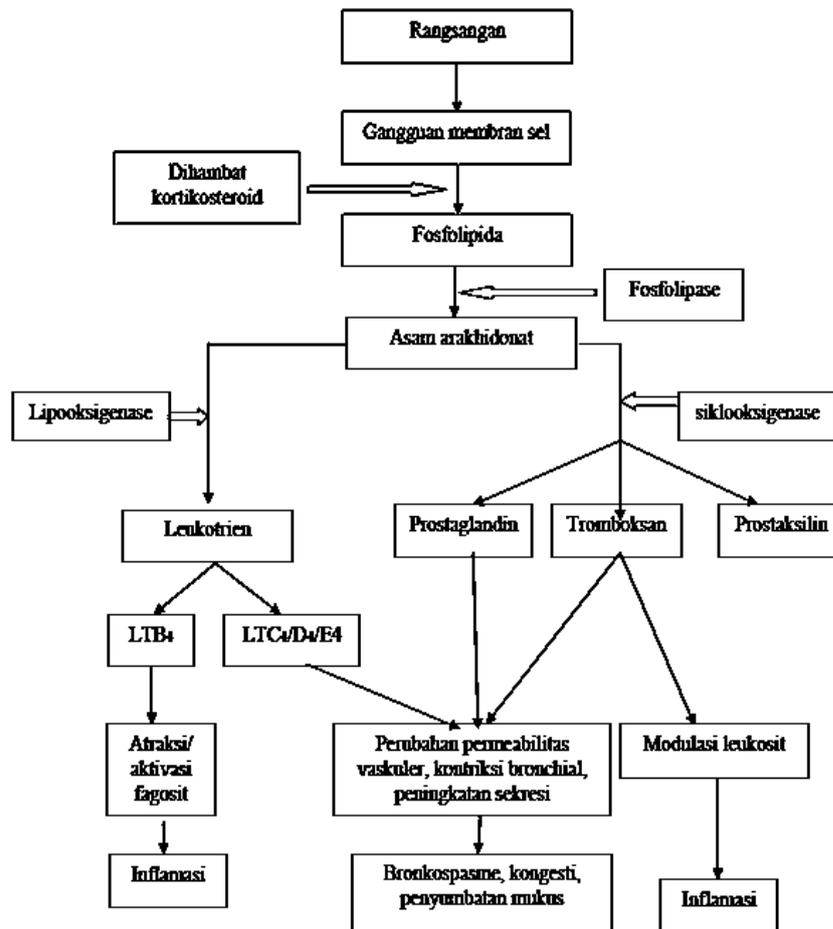
kandungan penyusun tulang (Herman *et al* 2008; Noguchi *et al.* 2008). Rheumatoid arthritis merupakan penyakit yang diakibatkan karena disregulasi humoral, dan dimediasi sel sistem imun (Yulinah 2008).

Terapi obat yang dapat diberikan untuk mengatasi arthritis antara lain; OAINS, agen sitokin, DMARD dan immunosupresan (Nugroho 2012). Penggunaan obat – obat tersebut dapat menimbulkan gejala efek samping dan toksisitas. Penggunaan anti inflamasi dapat menimbulkan kerusakan renal, ulserasi, dan perdarahan saluran cerna, sedangkan penggunaan kortikosteroid dapat menimbulkan hipertensi, hiperglikemia, dan osteoprosis (Yulinah 2008). Efek samping penggunaan AINS lainnya adalah gangguan fungsi ginjal akut (Nugroho 2012). Adanya efek samping dan toksisitas yang ditimbulkan dari obat ini, menyebabkan banyaknya penelitian terhadap tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai antiarthritis dan resiko terjadinya efek samping lebih rendah.

Dalam penelitian ini, digunakan tanaman obat tradisional Indonesia yang telah digunakan secara empiris untuk terapi arthritis, yang akan diuji efektivitasnya sebagai antiarthritis dengan menggunakan kontrol positif “triamsinolon”. Tanaman obat yang digunakan sebagai antiarthritis dalam penelitian ini adalah biji alpukat.

Biji alpukat memiliki aktivitass anti inflamasi. Secara empiris manfaat biji alpukat juga sangat baik untuk kesehatan yaitu dapat digunakan sebagai obat sakit gigi, sebagai obat sakit maag, dapat mengobati penyakit kencing manis (diabetes) terutama diabetes mellitus, mampu menghilangkan stress akibat aktivitas yang padat, sebagai obat sariawan, dan menghilangkan rasa nyeri.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu (2009) menunjukkan biji alpukat mempunyai efek anti-inflamasi ditunjukkan dalam menurunkan jumlah PMN neutrofil pada mencit yang diinduksi dengan bakteri E.coli. Zat-zat yang terkandung di dalam ekstrak etanol biji alpukat adalah senyawa polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tanin, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Sifat antiradang dari flavonoid telah terbukti baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya radang melalui dua cara, pertama menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotelial dan kedua menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses radang. Terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari sel radang akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipooksigenase, yang pada akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, prostasiklin, endoperoksida, tromboksan di satu sisi dan asam hidroperoksida, asam hidroksieikosatetraenoat, leukotrien di sisi lainnya. gambar 1 menjelaskan tentang mekanisme terjadinya inflamasi



Gambar 1. Bagan mekanisme terjadinya inflamasi (Katzung 2002)

Metode penarikan zat aktif yang digunakan adalah maserasi, karena peralatannya sederhana, prosesnya mudah dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman. Maserasi merupakan metode penarikan zat aktif yang tepat, dimana serbuk simplisia yang halus direndam dalam pelarut hingga meresap dan susunan selnya melunak, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut. Pelarut yang digunakan untuk penarikan zat aktif dalam penelitian ini adalah etanol. Menggunakan etanol 96% berarti air yang terkandung lebih sedikit sehingga tidak mudah ditumbuhi mikrobakteri.

Aktivitas antiarthritis biji alpukat pada penelitian ini dapat diketahui dengan melakukan penginduksian dengan menggunakan CFA, yang diinduksikan pada salah satu kaki hewan uji. Menggunakan CFA karena gambaran klinisnya mirip dengan keadaan arthritis dan patogenesis yang terjadi mirip dengan proses imunologi yang terjadi secara alami (Koopman 1997; Ronaghy *et al* 2002)

Penurunan volume udem kaki tikus dalam penelitian ini diukur dengan menggunakan alat *pletismograph*, yang kemudian ditentukan persen penghambatan volume udemnya. Kemudian dilakukan pengamatan histopatologi, yang dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler.

I. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini, bahwa:

1. Ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek antiarthritis terhadap tikus jantan yang mengalami pembengkakan sendi kaki akibat arthritis yang diinduksi CFA.
2. Ekstrak etanol biji alpukat dapat memperbaiki profil volume udem dan profil histopatologi pada kaki tikus yang diinduksi CFA.
3. Ekstrak etanol biji alpukat pada dosis tertentu dapat menunjukkan aktivitas antiarthritis pada tikus jantan yang diinduksi CFA.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat di daerah Jebres, Surakarta, Jawa tengah.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat bentuk bulat di daerah, Jebres, Surakarta, Jawa tengah, yang diperoleh dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah serbuk biji alpukat yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah pereaksi CFA yang diinduksikan ke dalam kaki tikus jantan. Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah penghambatan volume udem pada kaki tikus yang diinduksi CFA. Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah profil histopatologi persendian pada kaki tikus jantan. Variabel utama kelima dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino galur wistar yang dikondisikan artritis setelah diinduksi pereaksi CFA.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol biji alpukat yang diuji antiartritis.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah persen penghambatan volume udem dan profil histopatologi persendian kaki tikus jantan setelah diinduksi CFA.

Variabel kendali 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 laboratorium penelitian, metode uji dan kondisi fisik dari hewan uji yang meliputi berat badan, usia, lingkungan tempat hidup, jenis kelamin, galur dan pakan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, biji alpukat yang sudah tidak dipakai yang diperoleh di Mojosongo, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk biji alpukat adalah simplisia biji alpukat diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, kemudian dicuci dengan air mengalir

untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih tersisa, setelah itu dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 40°C, dihaluskan, dibuat serbuk dan diayak.

Ketiga, ekstrak etanol biji alpukat adalah ekstrak biji alpukat yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, hewan percobaan dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino galur Wistar dalam kondisi sehat. Tikus yang akan digunakan berumur 2 – 3 bulan dan pada umumnya memiliki berat badan 180-200 g, ditempatkan dalam kandang dengan kondisi laboratorium standar (siklus gelap/terang 12/12, suhu $25 \pm 5^\circ\text{C}$), diberi air secukupnya dan diberi pakan tikus yang dijual komersial.

Kelima, CFA adalah pereaksi yang digunakan untuk mendapatkan kondisi arthritis yang diinjeksikan ke dalam kaki tikus, kemudian diukur derajat pembengkakan pada kaki tikus dengan alat plethysmograph.

Keenam, antiarthritis adalah senyawa yang dapat menurunkan inflamasi pada penyakit arthritis dari ekstrak etanol biji alpukat dengan parameter persentase penghambatan volume udem (derajat inflamasi sendi), dan profil histopatologi persendian pada kaki tikus jantan.

Ketujuh, efek antiarthritis ekstrak etanol biji alpukat dilihat dari adanya persen penghambatan volume dan profil histopatologi persendian pada kaki tikus setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol positifnya.

C. Alat, Bahan, dan Hewan Uji

1. Alat

Alat ekstraksi yang digunakan yaitu bejana maserasi, tutup bejana, pengaduk yang digerakkan secara mekanik, bejana tempat hasil maserasi, dan penyerkai, alat histopatologi yaitu mikroskop, mikrotom, dan kaca objek, plethysmograph. Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang hewan uji, timbangan hewan uji, neraca analitik, ayakan nomor 40, evaporator, lemari pengering, mortir, stampher, pengaduk dan alat-alat gelas.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan untuk penelitian ini dua macam, yang pertama adalah biji alpukat yang disari dengan cara maserasi.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, etanol 96%, pereaksi CFA, formal saline 10%, larutan Von Ebner's, amonium oksalat 5%, alkohol, xylol, parafin, balsem canada, Heamotoxylin dan Eosin (H & E).

3. Hewan Uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino galur Wistar, berumur 2 – 3 bulan dengan berat 180 - 200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi biji alpukat

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah identifikasi tanaman alpukat yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel, memastikan identitas serbuk dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan.

Tahap selanjutnya dalam penelitian ini adalah melakukan uji makroskopis biji alpukat, yang bertujuan menetapkan kebenaran sampel tersebut menggunakan proses pengindraan. Identifikasi ini meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna.

2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk biji alpukat

Tanaman biji alpukat diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih ada pada simplisia, kemudian dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu 40°C, dihaluskan, dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan/mesh nomor 40.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat

Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat ini dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, yang dilakukan dengan cara menimbang serbuk biji alpukat pada cawan, masing-masing sebanyak 2 g. Lalu pasangkan pada alat *Moisture Balance* kemudian lakukan pengukuran kelembaban. Catat hasil pengukuran, setelah menit ke empat.

4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpuka

Ekstrak etanol biji alpukat dibuat dengan cara maserasi. Serbuk biji alpukat diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1,0 : 7,5.

Ekstraksi dilakukan pada botol kaca kedap cahaya selama 5 hari sambil diaduk tiap harinya kemudian campuran tersebut diserkai sarinya dan diperas ampasnya. Hasil maserasi dievaporasi dengan alat evaporator dengan suhu kurang $<50^{\circ}$ C.

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia

5.1. Identifikasi flavonoid. Pertama, 1 ml larutan ditambah 1 gram serbuk Mg dan 10 tetes HCl pekat P, jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Kedua, 1 ml larutan ditambah 0,5 g serbuk Zn P dan 2 ml HCl 2N didiamkan selama satu menit kemudian ditambah 10 tetes HCl pekat. Jika dalam waktu 2-5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid. Ketiga, larutan diuapkan hingga kering, sisa dibasakan dengan etanol 70 %, dipanaskan hati-hati di atas penangas air dan dihindari pemanasan yang berlebihan, sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 ml tetes P, diamati dengan sinar UV 366 nm berflouresensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid (Harborne 1987). Sampel buah ditambahkan 0,1mg serbuk magnesium, 2ml alcohol : asam klorida (sama banyak) dan 5 ml pelarut amil alcohol dikocok kuat biarkan memisah, reaksi positif ditunjukkan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Depkes 1979).

5.2. Uji Alkaloid. Uji alkaloid dilakukan menurut Douglas *et al.* (Sangi *et al.*, 2008) Sampel biji buah alpukat halus sebanyak 4 g ditambahkan kloroform secukupnya, selanjutnya ditambahkan 10 mL amoniak dan 10 mL kloroform. Kemudian larutan disaring ke dalam tabung reaksi dan filtrat ditambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2N. Campuran dikocok dengan teratur, dibiarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi

masing-masing sebanyak 1 mL. Kemudian masing-masing tabung tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan putih, dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna jingga.

5.3. Identifikasi triterpenoid dan steroid. Uji menurut Briggs (Sangi *et al.*, 2008). Sampel biji buah alpukat halus sebanyak 50-100 mg ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan steroida ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru

5.4. Identifikasi saponin. Uji saponin dilakukan menurut Simes *et al.* (Sangi *et al.*, 2008). Sampel biji buah alpukat halus sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

5.5. Identifikasi tanin. Uji tanin dilakukan menurut Miranda (Sangi *et al.*, 2008). Sampel biji buah alpukat halus sebanyak 20 mg ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

6. Penetapan dosis

6.1. Dosis ekstrak biji alpukat. Dosis ekstrak biji alpukat yang digunakan sebagai dosis orientasi dalam penelitian adalah 0,980 g/kg BB tikus. Hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh ade zuhrotun (2007) yang membuktikan dosis efektif sebesar 0,980 g/kg BB tikus tetapi digunakan untuk diabetes. Maka dalam penelitian ini dosis yang digunakan adalah 1,96 g/kg BB tikus merupakan 2x dari dosis efektif dan 0,49 g/kg BB tikus, merupakan setengah dari dosis efektif. Dosis ini merupakan dosis orientasi Sehingga pembuatan larutan stok sebagai berikut

$$\text{larutan stok} = \frac{0,49 \text{ g}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,245 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

$$\text{larutan stok} = \frac{1,96 \text{ g}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,98 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

6.2. Dosis triamsinolon asetonid. Dosis lazim triamsinolon asetonid untuk manusia adalah 4 mg. Dosis yang diberikan untuk hewan uji dalam penelitian ini adalah 0,36 mg/kg BB. Dosis ini diperoleh berdasarkan faktor konversi manusia ke tikus dengan masing-masing berat badan 70 kg dan 200 g. Faktor konversi manusia ke tikus tersebut adalah 0,018.

7. Perlakuan hewan uji

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus albino galur wistar berkelamin jantan, berusia 2-3 bulan dengan bobot badan 180-200 gram. Tikus

yang akan digunakan untuk penelitian diadaptasikan pada lingkungan yang baru selama tiga hari, hal ini bertujuan untuk menyeragamkan pola hidup dan mencegah terjadinya stress pada hewan uji. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standard dan minum secara *ad libitum*. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok besar yaitu kelompok ekstrak biji alpukat dosis 1, kelompok ekstrak biji alpukat dosis 2, kelompok ekstrak biji alpukat dosis 3, kontrol negatif dan kontrol positif. Tiap-tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus uji. Perlakuan dilakukan selama 9 hari. Tikus kelompok kontrol negatif diberi larutan CMC 1 % sedangkan pada kontrol positif diberi triamsinolon dari hari ke-3 hingga hari ke-9. Kelompok ekstrak tunggal ekstrak biji alpukat diberikan dengan volume yang sama dari hari ke-3 hingga hari ke-9 berdasarkan dosis yang telah ditetapkan.

8. Prosedur pengujian aktifitas antiartritis

Untuk pengujian antiartritis ini, hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan albino galur Wistar dengan berat 180-200 gram. Hewan uji ditempatkan dalam kandang dengan kondisi laboratorium standar (siklus gelap/terang 12/12 suhu 25°C). Hewan uji diberi pakan tikus yang dijual komersial dan air minum secukupnya. Tiap kelompok terdiri atas 5 ekor hewan uji.

8.1 Uji aktivitas antiartritis diinduksi pereaksi CFA. Pada tiap hewan uji yang diberi perlakuan diinjeksikan pereaksi CFA sebanyak 0,2 ml pada permukaan planar kaki belakang tikus, kemudian diamati adanya derajat pembengkakan yang terjadi. Jika telah terjadi udem pada kaki tikus dan belum diberikan perlakuan ekstrak uji dinamakan sebagai hari ke-0 (*Tuntreated*), sedangkan pemberian perlakuan ekstrak uji dilakukan pada hari ke-1 hingga hari

ke-7 (*Ttreated*). Dari hari ke-0 hingga hari ke-7, berat badan tiap tikus ditimbang dan derajat pembengkakan kaki pada tiap tikus diukur dengan menggunakan alat *plethysmograph*. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok besar yaitu kelompok ekstrak tunggal biji alpukat dosis 1, ekstrak tunggal biji alpukat dosis 2, kelompok ekstrak tunggal biji alpukat dosis 3, kontrol negatif dan kontrol positif. Pemberian ekstrak uji dilakukan pada kelompok ekstrak tunggal dan kombinasi yang diberikan pada hari ke-1 hingga ke-2. Volume kaki diukur pada hari ke-0 hingga hari ke-7. Pada hari ke-12 hewan dikorbankan dan diambil bagian persendian kaki yang bengkak untuk dilakukan uji histopatologi (Yuneka 2014).

9. Penggunaan alat *plethysmograph*.

Prinsip kerja *plethysmograph* ini mengikuti hukum Archimedes. Pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan kaki tikus ke dalam tabung yang berisi larutan pengukur (air raksa) sampai batas tanda pada kaki, kemudian tekan pedal *pletismometer* untuk mendapatkan volume yang konstan. Perubahan larutan akan terlihat pada garis volume alat *plethysmograph*

10. Uji histopatologi persendian

Uji histopatologi persendian dilakukan pada hari ke-12, berikut tahapan yang dilakukan dalam uji histopatologi persendian berdasarkan SOP Laboratorium Histopatologi dan Biologi Sel UGM 2012 :

10.1 Fiksasi jaringan dengan formalin dalam PBS pH 7,4. Fiksasi jaringan bertujuan untuk mempertahankan struktur jaringan dan mempersiapkan jaringan untuk proses pembuatan sediaan histologi. Untuk mengamati jaringan

dengan struktur yang mendekati struktur ketika jaringan tersebut hidup maka dilakukan fiksasi. Ada dua macam fiksasi yaitu fiksasi kimiawi dan fiksasi suhu.

10.2. Tahap dekalsifikasi dengan metode Von Ebner's. Tahap dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan kalsium pada jaringan. Jaringan keras (tulang dan gigi) tidak dapat dipotong tipis karena banyaknya kandungan Ca^{2+} dalam jaringan tersebut (dalam bentuk hidroksi apatit). Oleh karena itu perlu dilakukan proses penghilangan Ca^{2+} dari jaringan, agar jaringan dapat dipotong dengan mikrotom.

10.3. Tahap dehidrasi. Tujuan dilakukannya dehidrasi adalah untuk menghilangkan kadar air pada persendian, sehingga lebih lipofil dan dapat menyatu dengan parafin saat dilakukan proses *embedding*.

10.4. Tahap pembuatan blok parafin. Pembuatan blok parafin bertujuan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan, sehingga jika dipotong dengan mikrotom dapat dihasilkan irisan yang tipis. Salah satu cara untuk mengeraskan jaringan adalah dengan melakukan *embedding* pada suatu bahan yang dapat mengeras. Dalam tahap ini digunakan parafin untuk mengeraskan jaringan.

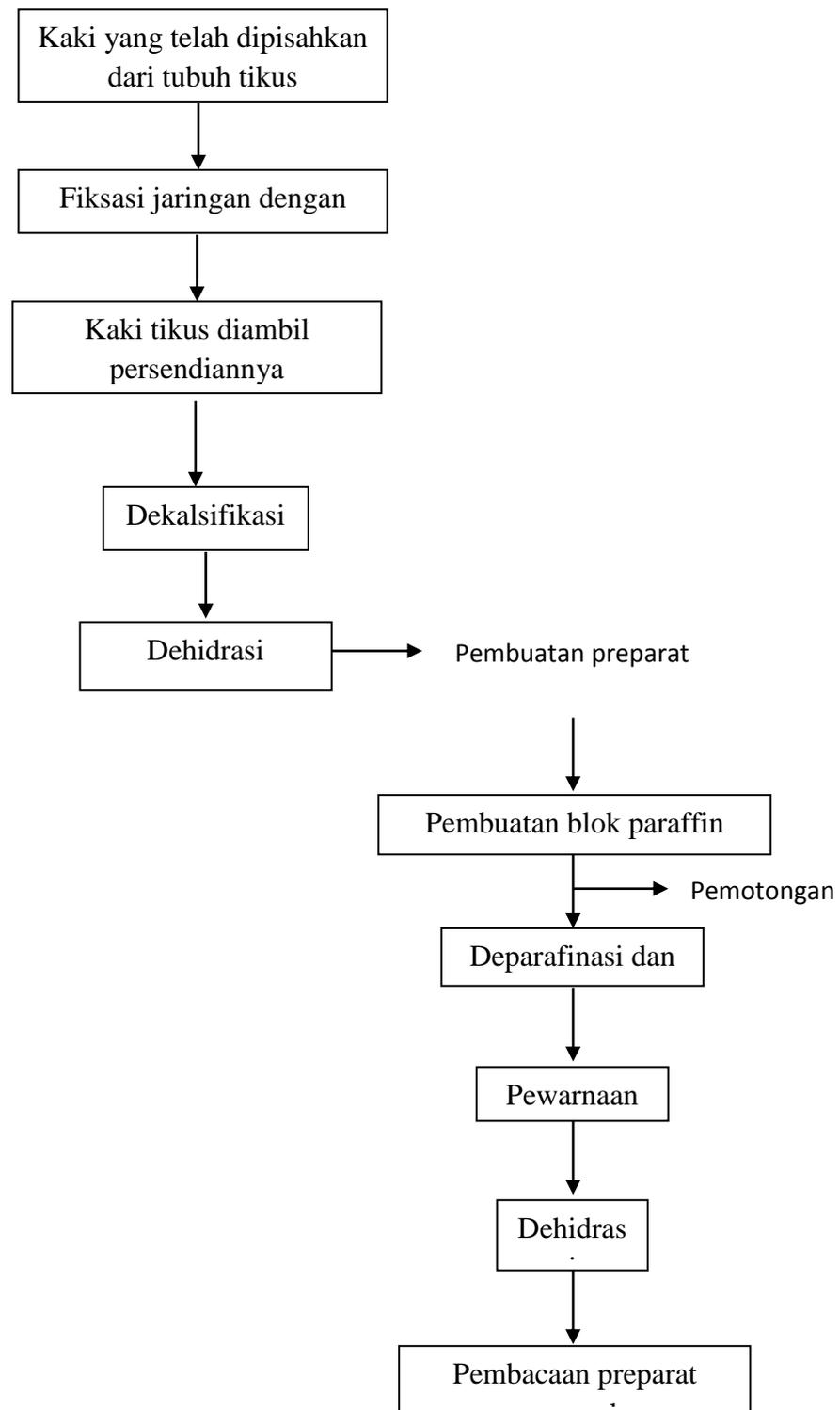
10.5. Tahap deparafinasi dan rehidrasi. Tahap deparafinasi dan rehidrasi bertujuan untuk menghilangkan parafin dari jaringan yang akan diwarnai dan rehidrasi jaringan. Hal ini dikarenakan sebagian besar cat larut dalam air sedangkan parafin mengandung minyak sehingga perlu direhidrasi terlebih dahulu sebelum diwarnai.

10.6. Tahap pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Tujuan dari tahap pewarnaan HE adalah memberi warna pada jaringan yang akan diamati di bawah

mikroskop. Pewarnaan ini merupakan pewarnaan rutin pada jaringan dan sel. *Hematoksilin* akan mengecat inti sel berwarna biru, sedangkan *eosin* akan mengecat sitoplasma dan matriks ekstraseluler berwarna merah.

10.7. Tahap dehidrasi (sesudah pewarnaan). Tahap dehidrasi setelah pewarnaan bertujuan untuk memudahkan warna hematoksilin dan eosin agar tidak terlalu pekat, sehingga mempermudah proses pembacaan pada preparat.

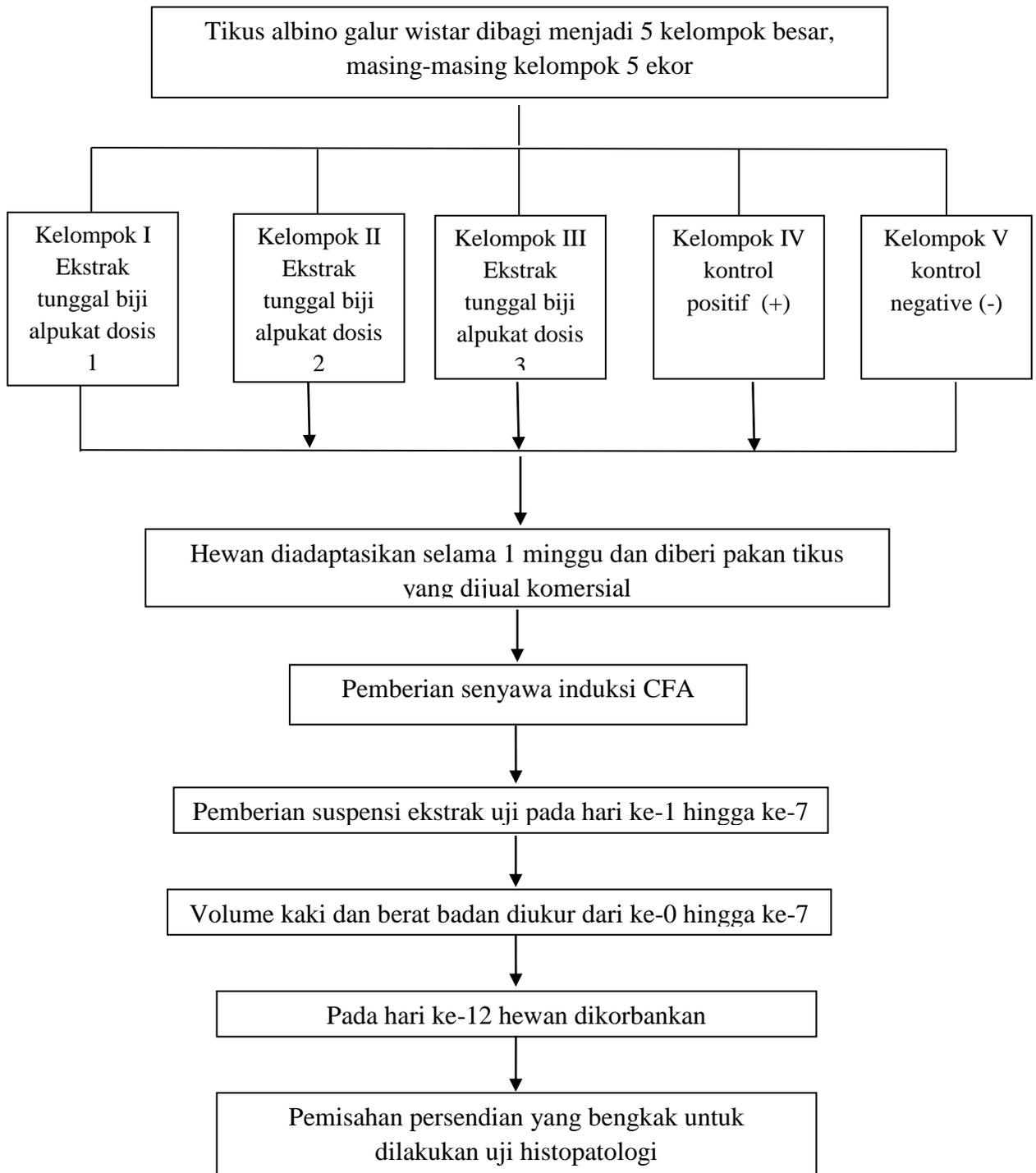
10.8 Tahap pembacaan sampel. Merupakan tahap terakhir dari uji histopatologi persendian. Pembacaan sampel bertujuan untuk mengamati letak kerusakan jaringan sendi yang dikehendaki dan menginterpretasikan parameter perubahan histologi jaringan sendi pada preparat uji yang meliputi masuknya sel-sel inflamasi, hiperplasia cairan sinovial, akumulasi sel monomorphonuclear dan polymorphonuclear di daerah antar persendian (Yuneka 2014).



Gambar 2. Skema prosedur uji histopatologi

E. Analisis Hasil

Analisa data yang digunakan pada penelitian ini akan dipilih berdasarkan hasil data yang diperoleh. Uji distribusi normal (Shapiro-Wilk) akan digunakan untuk menguji apakah data terdistribusi normal atau tidak ketika jumlah data yang dimiliki kurang dari 50. Jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji non parametik. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji parametik (ANOVA). Uji dilanjutkan dengan tes Post Hoc untuk melihat apakah terdapat perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

Skema prosedur uji antiarthritis**Gambar 3. skema prosedur uji antiarthritis**

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil identifikasi biji alpukat

1.1. Hasil determinasi tanaman alpukat. Menurut C.A. Backer Bakhuizen van Brink, Jr (1963): 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802b-806b-807b-809b-810b-811b-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-823b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834b-835a-836a-837c-851a-852b-853b-854a-855c-856b-857a-858a-859c-860b-872a-873b_____12.Lauraceace
1b-2a-3b-5b-8b-9b-10_____2.*Persea*
1a-2b_____ *Persea Americana* Mill.

1.2. Hasil diskripsi biji alpukat Alpukat termasuk buah buni, bentuk bola atau buah peer hingga bulat memanjang, panjang 7-20 cm, berwarna hijau muda ketika muda dan berwarna hijau kekuningan himgga merah tua atau coklat ketika masak, permukaan licin dan berbintik-bintik, daging buah berwarna hijau kekuningan. Bentuk biji besar, hanya berjumlah 1, bentuk bola, diameter 2,5-5 cm, kulit biji 2 lapis.

1.3. Hasil identifikasi makroskopis biji alpukat. Identifikasi serbuk biji alpukat secara organoleptis didasarkan pada proses pengindraan. Identifikasi ini meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi organoleptis serbuk biji alpukat dapat dilihat pada table 1.

Table 1. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk biji alpukat

Keterangan	Organoleptis
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas
Rasa	Pahit
Warna	Coklat

2. Pengumpulan bahan dan pembuatan serbuk biji alpukat

Biji alpukat yang digunakan untuk penelitian disortir terlebih dahulu, kemudian dicuci hingga bersih dengan menggunakan air mengalir, lalu biji alpukat dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C. Biji alpukat dikeringkan sampai kering untuk mencegah bekerjanya enzim dan terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan kualitas simplisia, serta menghilangkan kadar air untuk mencegah pembusukan yang diperantarai oleh jamur dan bakteri. Setelah biji alpukat kering kemudian digiling dengan mesin penggiling, menjadi serbuk lalu diayak dengan menggunakan ayakan 40 dan ditimbang. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap berat basah biji alpukat dapat dilihat di lampiran 10.

Table 2. Hasil pengeringan serbuk biji alpukat

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Redemen (%b/b)
3000	1600	53,30 %

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat

Tujuan dari penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat adalah untuk mengetahui hasil dari serbuk biji alpukat yang didapat apakah memenuhi persyaratan atau tidak dan untuk memberikan batasan maksimal terhadap besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan, sesuai dengan standar

yang telah ditetapkan menggunakan alat *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan dalam serbuk biji alpukat

berat awal (g)	berat akhir (g)	susut pengeringan (%)
2,00	1,90	8,5
2,00	1,91	8,5
2,00	1,90	8,5
rata-rata		8,5

Dari tabel di atas, dapat diketahui bahwa persentase rata-rata susut pengeringan dari serbuk biji alpukat adalah 8,5%. Nilai tersebut menunjukkan bahwa serbuk biji alpukat memenuhi syarat, dimana menurut Depkes (1985) proses reaksi enzimatik di dalam sel tidak lebih dari 10%. Perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 11.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol biji alpukat

Ekstrak etanol biji alpukat diperoleh dengan cara maserasi karena pengerjaan dan peralatan sederhana, serta mudah diusahakan. Selain itu zat aktif dari biji alpukat yang memiliki aktifitas antiarthritis pada umumnya merupakan senyawa nonvolatile sehingga sangat cocok bila diekstraksi dengan maserasi yang tanpa pemanasan karena tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000). Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% dengan perbandingan serbuk : etanol (1 : 7,5). Menggunakan etanol karena dapat melarutkan zat aktif yang dibutuhkan dalam penelitian seperti alkaloid, flavonoid, dan steroid (Depkes 1986). Maserasi dilakukan pada botol kaca kedap cahaya

selama 5 hari sambil diaduk tiap harinya. Hasil maserasi yang telah terpisah dari ampasnya dievaporasi dengan alat evaporator pada suhu kurang dari 50°C.

Data hasil pembuatan ekstrak etanol biji alpukat dapat dilihat pada tabel 4.

Perhitungan rendemen ekstrak etanol biji alpukat dapat dilihat pada lampiran 12.

Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol biji alpukat

Simplisia	Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Redemen (% b/b)
biji alpukat	400	50	12.5

5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji alpukat

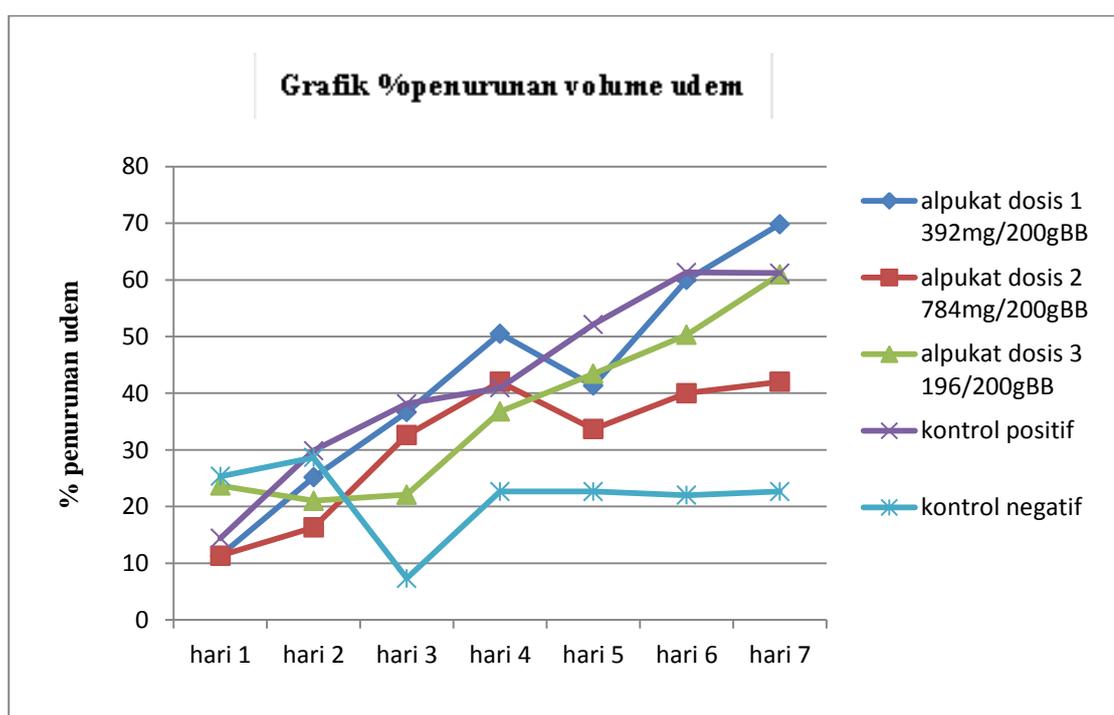
Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak etanol biji alpukat dilakukan untuk mengetahui zat aktif yang terkandung dalam biji alpukat. Senyawa yang diidentifikasi merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antiarthritis yaitu alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpen. Identifikasi dilakukan dengan menambahkan ekstrak etanol biji alpukat dengan pereaksi yang sesuai dan dilihat perubahan warnanya. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.

Senyawa	Prosedur	Hasil	Pustaka
Flavonoid	1 ml sampel + 1g serbuk Mg +10 tetes HCL pekat	+ (warna jingga)	Harborne 1987
alkaloid	1 ml sampel + larutan mayer 1 ml sampel + larutan magner 1 ml sampe; + larutan dragendroff	+ (endapan putih) (endapan coklat) (endapan jingga)	Sangi <i>et al.</i> , 2008
steroid	1 ml sampel + 0,5 ml kloroform + 0,5 mL asam asetat anhidrat + 1-2 ml H ₂ SO ₄	+ (Cincin kecoklatan dan warna hijau kebiruan)	Sangi <i>et al.</i> , 2008
saponin	Sampel + air panas sama banyak, didinginkan lalu dikocok 10detik	+ (berbusa)	Sangi <i>et al.</i> , 2008
tanin	Sampel + FeCl ₃	+ (warna hitam kebiruan)	Sangi <i>et al.</i> , 2008

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak biji alpukat

B. Hasil perhitungan presentasi penurunan volume udem

Persentase penurunan volume udem adalah besarnya efektivitas ekstrak uji dalam menurunkan volume udem yang dinyatakan dalam satuan persen (%). Persentase penurunan volume udem ini diperoleh dari perhitungan data volume udem pada hari ke-0 sampai ke-7, dimana dalam perhitungan ini volume udem hari ke-0 (V_0) yang menjadi tolok ukurnya. Data hasil pengukuran volume udem kaki tikus selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 14.



Gambar 4. Grafik hubungan rata-rata volume udem dengan waktu pada masing-masing perlakuan

Gambar 4 mendeskripsikan hubungan antara rata-rata persentase volume udem (%) dengan waktu (hari) pada masing-masing perlakuan. Hasil pengukuran volume udem sesuai dengan hasil perhitungan persentase penurunan volume udem dimana semakin besar persentase penurunan volume udem, berbanding lurus dengan penurunan volume udem. Hasil perhitungan persentase penurunan

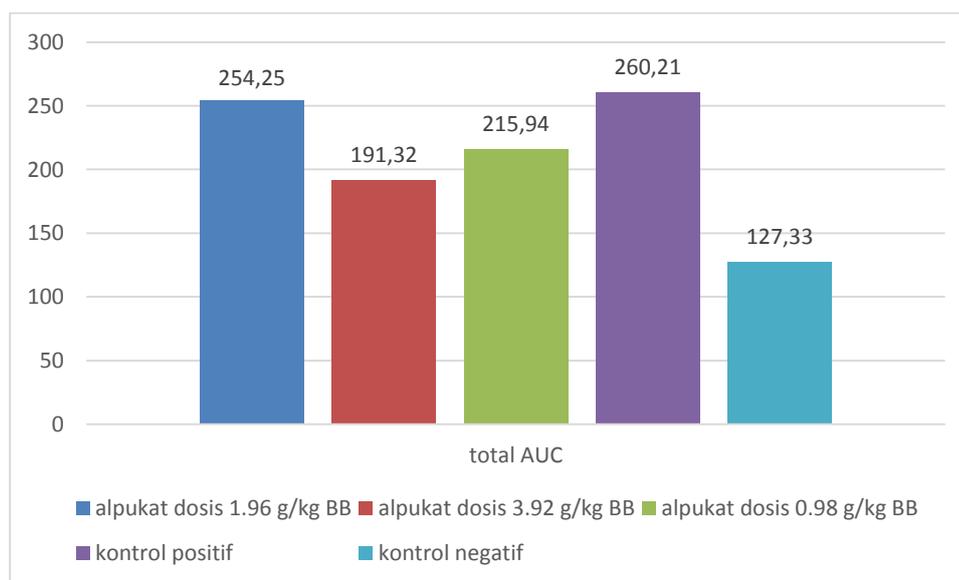
volume udem dapat dilihat pada lampiran 15. Berdasarkan pada grafik Gambar 4 diketahui bahwa kelompok perlakuan dengan ekstrak biji alpukat dengan dosis 1,96 g/kg BB tikus mempunyai persentase paling tinggi serta penurunan volume udem yang lebih baik dibanding dengan dosis 0,980 g/kg BB tikus, dosis 3,92 g/kg BB tikus kontrol positif dan kontrol negatif. Kelompok perlakuan dengan dosis 1,96 g/kg BB tikus lebih baik dari dosis 0,980 g/kg BB tikus karena adanya kandungan zat aktif yang lebih besar. Perlakuan pada dosis 3,92 g/kg BB tikus menurunkan volume udem lebih kecil karena dosis yang besar terdapat beberapa senyawa yang menyebabkan penghambatan efek. Salah satu senyawanya adalah tanin, dimana dalam jumlah besar dapat menyebabkan iritasi pada jaringan, sehingga menghambat absorpsi zat aktifnya (Mira 2012). Biji alpukat terdapat kandungan pati, yang mempunyai ciri khas salah satunya adalah kemampuannya menyerap air dan apabila terkena panas akan mengalami gelatinisasi, sehingga proses penyerapan zat aktif dapat terhambat (winarti dan purnomo 2006).

Data persen penghambatan volume udem dianalisis statistik menggunakan ANOVA ($p < 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan secara nyata efek antiartritis pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil analisis statistik (lampiran 18), kelompok kontrol positif, ekstrak biji alpukat dosis 1.96 g/kg BB dan ekstrak biji alpukat dosis 0.98 g/kg BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata karena berada dalam satu kelompok. Artinya ketiga kelompok tersebut memberikan efek yang setara terhadap presentase penurunan udem pada kaki tikus. Sedangkan kelompok kontrol negatif dan ekstrak biji alpukat dosis 3.92 g/kg BB mempunyai perbedaan yang nyata karena tidak berada dalam satu

kelompok, artinya kedua kelompok tersebut tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap persentase penghambatan volume udem pada kaki tikus. Berdasarkan hasil pengolahan data menggunakan metode ANOVA, penurunan volume udem pada hari ke-4 terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) dengan hari ke-7. Hari ke-5 terdapat perbedaan yang bermakna dengan hari ke-7 dan pada hari ke-6 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan hari ke-7. Artinya semakin lama pemberian larutan uji maka presentase penurunan udem semakin tinggi dan memberikan efek yang lebih bagus.

Ekstrak biji alpukat dapat menurunkan volume udem karena mempunyai antioksidan non enzimatis seperti polifenol dan tanin yang berfungsi sebagai pemakan radikal bebas. Komponen tersebut memberikan atom hidrogen untuk mengikat dan menetralkan radikal bebas sehingga mengendalikan dan mengurangi reaksi autooksidasi lipid dengan cara melindungi membran sel tubuh dalam mengurangi inflamasi. Antioksidan bekerja melalui penghambatan reaksi autooksidasi lipid (Confroti *et al.* 2009 & Zhou 2011). Kandungan kimia lainnya yaitu flavonoid mekanisme menghambat terjadinya radang melalui dua cara, yaitu pertama menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endotelial dan kedua menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses radang (Rahayu 2009). Kandungan kimia lainnya yaitu steroid dan saponin, steroid bekerja dengan jalan mencegah produksi mediator proinflamasi dan menghambat prostaglandin (Fernandes 2001). Mekanisme antiinflamasi saponin adalah dengan menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vascular (Bunyapraphatsara 1999)

Data hasil rata-rata presentase penurunan udem pada kaki tikus didapatkan data AUC yang menunjukkan total aktivitas penurunan volume udem dimana nilai AUC yang besar sebanding dengan penurunan volume udem. Data perhitungan AUC selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 16. Nilai AUC berturut-turut dari yang terbesar sebagai berikut: kontrol positif, dosis 1,96 g/kg BB tikus, dosis 0,980 g/kg BB tikus, dosis 3,92 g/kg BB tikus dan kontrol negatif. Total aktifitas penurunan volume udem terbesar yaitu kontrol positif triamsinolon. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Katzung (2002) bahwa triamsinolon berkhasiat sebagai anti-inflamasi dengan menghambat enzim pospolifase sehingga pelepasan asam arakidonat yang dibutuhkan untuk mengaktivasi jalur enzim berikutnya dapat dicegah, sehingga pembentukan prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, dan leukotriene terganggu. Nilai AUC dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Grafik total AUC persen penurunan volume udem

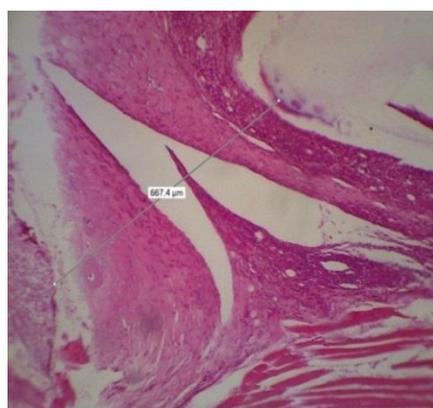
C. Hasil pengukuran histopatologi persendian

Profil histologi persendian dalam keadaan normal tidak terdapat infiltrasi sel pada sekitar joint space, yaitu daerah yang berada diantara dua kartilago articular. Sedangkan pada kondisi arthritis terjadi perubahan histologi persendian yang ditunjukkan dengan masuknya sel inflamasi, hiperplasia sinovial, dan infiltrasi sel mononuklear dan polimorfonuklear ke dalam ruang sendi, akibatnya akumulasi sel-sel disekitar ruang sendi terbentuk sehingga pada profil histopatologi persendian yang arthritis ruang sendi terlihat tidak bersih.

Menurut Koopman (1997) menyatakan bahwa pemberian CFA pada tikus menyebabkan kerusakan membran sinovial dan infiltrasi sel mononuklear sehingga terjadi penebalan. Kerusakan membran sinovial terjadi karena peningkatan sitokin IL-1 β yang memicu ekspresi molekul pada sel endotel sehingga leukosit emigrasi di dalam membran sinovial. Menurut Burrage *et al.*, (2006) leukosit di dalam jaringan akan memfagositosis antigen yang terdapat di dalam sel sehingga menyebabkan kerusakan sel-sel pada membran sinovial sehingga terjadi menebal.



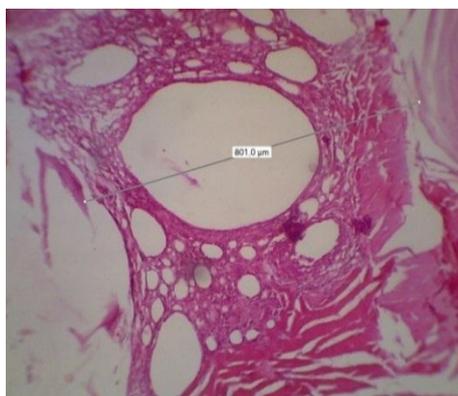
(a)



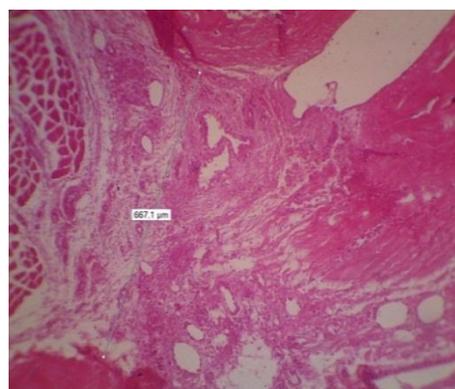
(b)

Gambar 6. Profil histopatologi persendian pada kaki tikus normal (a) dan profil histopatologi persendian kaki tikus yang diberi control negative CMC 0,5%

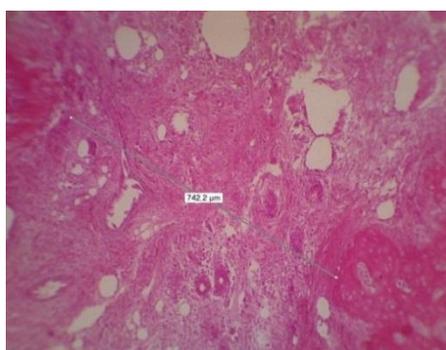
Gambar 6 mendiskripsikan perbandingan profil histopatologi persendian pada kaki tikus normal dengan profil kaki tikus dengan kontrol negatif CMC 0,5%. Berdasarkan gambar 4 terlihat bahwa ruang sendi pada kelompok kaki normal dalam keadaan bersih dan tidak terdapat infiltrasi sel sedangkan pada kontrol negatif terdapat infiltrasi sel. Pada kondisi arthritis terjadi perubahan histologi pada persendian sebagai akibat dari masuknya sel inflamasi, hyperplasia synovial dan infiltrasi sel monomorfonuklear dan polimorfonuklear kedalam ruang sendi. Akibat akumulasi sel disekitar ruang sendi sehingga pada profil histopatologi persendian yang arthritis ruang sendi terlihat tidak bersih.



(c)



(d)



(e)



(f)

Gambar 7. Profil histopatologi persendian kaki tikus kelompok dosis 1,96 g/kg BB (c), kelompok dosis 0,980 g/kg BB (d), kelompok dosis 3,92 g/kg BB (e), dan control positif triamsinolon (f)

Berdasarkan gambar 7 memperlihatkan perbandingan profil histopatologi persendian kaki tikus pada masing-masing kelompok perlakuan dengan ekstrak uji dan kontrol positif, dimana pada kelompok uji memberikan gambaran yang lebih baik dibanding pada kontrol negatif. Ruang sendi pada kelompok uji lebih bersih dan mengandung infiltrasi sel yang lebih sedikit dibanding kontrol negatif. Kelompok uji menunjukkan perbaikan pada profil histopatologi kaki tikus. Ekstrak biji alpukat dapat memperbaiki profil histopatologi karena mengandung polifenol dan tanin. Menurut Chen *et al.* (2012) dan Lee & Lee (2008) polifenol dan tanin mengendalikan reaksi autooksidasi sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak dalam menurunkan produksi radikal bebas dan menghambat terjadinya jalur siklooksigenase, sehingga akan mengurangi respon inflamasi kemudian membentuk perbaikan jaringan pada permukaan kartilago.

Profil histopatologi persendian kelompok kontrol positif terlihat bahwa kondisi kartilago masih utuh dan area sendinya bersih hampir seperti pada kaki tikus normal sesuai dengan literatur dari Katzung (2002) yang menyatakan bahwa efek triamsinolon tidak hanya bekerja sebagai antiinflamasi penghambatan melalui jalur enzim pospolipase tetapi dapat mengurangi gejala inflamasi dengan efek vaskularnya.

Berdasarkan hasil pengujian yang telah diamati dapat diketahui bahwa pada keadaan arthritis terdapat udem pada kaki tikus, dimana ukuran volume udem diakibatkan adanya inflamasi pada persendian. Inflamasi ini terjadi karena

kondisi artritis yang muncul setelah di induksi pereaksi CFA yang menyebabkan sel darah putih mensekresikan zat kimia seperti IL-1 dan TNF- α sehingga menghasilkan nyeri, pembengkakan dan kerusakan sendi. Pelepasan berbagai sitokin dan mediator inflamasi ini menyebabkan cairan sinovial berkembang biak dan menyebar membentuk *pannus* kemudian muncul fibrosis. Fibrosis menyebabkan hilangnya mobilitas sendi sehingga membran sinovial menjadi menebal dan tulang rawan terkikis. Membran sinovial ini menyerang ruang antar persendian sehingga menyebabkan bengkak dan rasa sakit pada bagian sendi yang terserang. Bengkak dan rasa sakit pada kaki tikus dapat dihilangkan dan dicegah dengan pemberian antiartritis. Penelitian ini setelah dilakukan pemberian ekstrak uji hampir seluruh perlakuan mengalami peningkatan persentase penurunan volume udem.

Berdasarkan hal diatas suatu tanaman memiliki aktivitas antiarthritis jika dapat memberikan efek penurunan volume udem dan perbaikan profil histopatologi persendian namun dalam penelitian ini profil histopatologi hanya sebagai parameter pendukung.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

4. Ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek antiarthritis terhadap tikus jantan yang mengalami pembengkakan sendi kaki akibat arthritis yang diinduksi CFA.
5. Ekstrak etanol biji alpukat dapat memperbaiki profil volume udem dan profil histopatologi pada kaki tikus yang diinduksi CFA.
6. Ekstrak etanol biji alpukat yang efektif sebagai antiarthritis dosis 1,96 g/kg BB.

B. Saran

Saran pada penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang variasi dosis ekstrak etanol biji alpukat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan hewan uji dalam jumlah lebih banyak.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan fraksinasi menggunakan etil asetat untuk mencari flavonoid sebagai kandungan zat aktif yang dapat mengobati inflamasi.

Daftar Pustaka

- Anief . 1997. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hlm 169-171.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar bentuk sediaan farmasi*. Ed-IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Arifin AS, Holisotan E, MakmurL. 1990. Flavonoid dan phytomedica, kegunaan danp rospek. *Journal of Phyto Medical* 2:123-127.
- Bodman KB, I.M. Roitt. 1994. The pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Fundamental and Clinical Rheumatics*. 2:73-81.
- Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. 2006. Matrix metalloproteinase: role in arthritis. *Front Biosci* 11:529–543.
- Conforti FS *et al.* 2009. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol content. *J. Food Chemistry* 112:587-594.
- Dafid LS, Frederick W, Tom WJ. 2010. *Rheumatoid arthritis*. London: Departemen of Rheumatology, King’s College London School of Medicine.
- De PLS, Bunyaphatsara N, Lemmens RHMS. 1999. *Plant resources of south east asia. medical and poisonous plants*. Bogor, Indonesia Leyden: Backhuys Publishers.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm.12-18.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1-15.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 10-16, 51.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid II. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 265-266.

- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2006. *Pharmaceutical Care untuk Pasien Penyakit Arthritis Rematik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 23-25.
- Fanada M, Muda W, BaDikProf SumSel. 2012. Pengaruh kompres hangat dalam menurunkan skala nyeri pada lansia yang mengalami nyeri reumatik di panti sosial tresna werdha teratai Palembang. 23:12-16.
- Fernandez MA, Heras B, Garcia MD, Saenz MT, Villar A. 2001. New insights into the Mechanism of Action of the Antiinflammatory Triterpene Lupeol. *J Pharm Pharmacol* 53:1533-9.
- Freida L, Carson. 2007. *Histotechnology*. Dallas, texas : Departemen of Pathology Baylor University Medical Center.
- Gordon N.F. 2002. The Cooper Clinic and Research Institute Fitness Series. *Fajar Interpretama Offset* 25:123-134.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-4. Terjemahan dari: Kosasih P dan Soediro L. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Herman S, Kronke G, Schett G. 2008. Molecular mechanism of inflammatory bone damage: emerging targets for therapy. *Trends In Molecular Medicine* 14:245–253.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman berkhasiat antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadana.
- Isbagio Harry. 1995. *Osteoporosis dan Artritis Reumatoid-Perbedaan Patogenitas, Gambaran Klinis, dan Terapi*. Dalam Cermin Dunia Kedokteran No. 104. Jakarta : PT. Kalbe Farma.
- Jayaprakasam R, Ravi TK. 2012. Evaluation Of Anti Arthritic Activity Of The Root Extract Of *Acalypha Indica* Linn. *Using In Vitro Techniques*. *International Journal of Phytopharmacy* 2:169-173.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Buku 2 Ed ke-8. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology* 8thed. hlm 449-462.
- Koopman, William 1997 & Hopkins 2005. *Arthritis and Allied Conditions A Text Book of Rheumatology* 13thed. Philadelphia: Williams and Wilkins.

- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 1992. Disorders of the Immune System: *Rheumatoid Arthritis*. Ed ke-5. London: W.B. Saunders & Co.
- Lee HC, Lee HS. 2008. Acaricidal Activity and Function of Mite Indicator Using Plumbagin and Its Derivates Isolated from *Diospyros Kaki Thunb.* roots (*ebenaceae*). *J. Microbiol. Biotechnol* 18: 189- 193.
- Long, Barbara C. 1996. *Perawatan Medikal Bedah*. Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W, editor. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Kapita Selekta Kedokteran*.
- Malole MB, Pramono CS. 1989. *Penggunaan Hewan Percobaan di Laboratorium Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. Bogor: IPB.
- Mansjoer S. 1997. Efek anti radang minyak atsiri temu putih (*Curcuma zedoria* Rosc.) terhadap udem buatan pada tikus putih jantan galur wistar. *Majalah Farmasi Indonesia* 8:35-41.
- Mira M, Meiske S. Sangi, Audy D, Wuntu. 2012. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktifitas ekstrak etanol biji alpukat (*persea Americana Mill*). hlm 24-28.
- Naidu AS. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. Amerika: CRC Press.
- Nainggolan O. 2009. Prevalensi dan Determinan Penyakit Rematik di Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia* 59(12):588-594.
- Nugroho. 2012. Farmakologi Obat-obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan. Jogjakarta: *Pustaka Pelajar* 28:183-188.
- Olsen NS, Stein CMS. 2004. New drugs for rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine* 350: 21.
- O'Dell J. 2005. Rheumatoid Arthritis. Singapore: *Mc Graw Hill* 21:45-67.
- Pramono E. 2002. The Commercial use of traditional knowledge and medicinal plants in indonesia. submitted for multi-stakeholder dialogue on trade, intellectual property and biological resources in Asia. *Journal Biological* 36(3):148-150.
- Prabowa S. 2005. Pengaruh stresor dingin terhadap proses peradangan pada 82 arthritis ajuvan: penelitian eksperimental pada arthritis ajuvan (model hewan untuk arthritis rematoid) [Tesis]. Fakultas Farmasi, Iptunair.
- Rahayu Y.C. 2009. Respons Antiinflamasi Serbuk Biji Alpukat (*Perseaa mericana mill*) terhadap Jumlah PMN Neutrofil Mencit yang Diinduksi Bakteri *E.*

- coli*. [Artikel Penelitian]. Jember: Bagian Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Reeves JR, Roux G, Lockhart R. 2001. *Medikal-Surgical Nursing*. Jakarta: Salemba Medika.
- Rennie KL, Hughes R, Lang, Jebb SA. 2003. Nutritional management of rheumatoid arthritis: a review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 16: 97–109.
- Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA, 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1:47-53.
- Simoes *et al.* 2005. Developments in the rat adjuvant arthritis model and its use in therapeutic evaluation of novel non-invasive treatment by SOD in Transfersomes. *Journal of Controlled Release* 10:419-434.
- Smeltzer SC, Bare BG. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: EGC.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Yogyakarta. Fakultas Farmasi UGM. Laboratorium Farmakologi & Toksikologi.
- Suratun, Heryati, Manurung S, Raenah. 2008. *Klien Gangguan Sistem Muskuloskeletal*. Jakarta: EGC.
- Syamsuni, Ella, Vinny. 2007. *Ilmu resep*. Ed ke-1. Jakarta : EGC. hlm 249-250.
- Tjay HT, Rahardja K. 2002. Obat-Obat Penting Khasiat: *Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed ke-5. Soedani Noerono, penerjemah; Yogyakarta: Gadjahmada University Press.
- Wijayakusuma H *et al.* 1998. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid IV. Jakarta.
- Winarti S, Purnomo Y. 2006. *Olahan Biji Buah Trobus Agrisorana*. Surabaya.
- Yulinah E, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AP, Kusnandar AD. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT ISFI.
- Yuneka S. 2014. Aktivitas Antiartitis Kombinasi Ekstrak Etanol Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dan Tanaman Ciplukan (*Physallis angulata*

L.) Terhadap Tikus yang Diinduksi *Complete Freund Adjuvant* [Skripsi].
Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Yunita FC. 2004. Ekstraksi daging biji picung (*Pangium edule*) dan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. *Jurnal Farmasi* 4(1):1-5.

Zhou C, Zhao D, Sheng Y, Tao J, Yang Y. 2011. Carotenoids in Fruits of Different Persimmon Cultivars. *J. Molecules* 16: 624-636.

Zuhrotun, A. 2007. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Bentuk Bulat [Karya Ilmiah]. Jatinangor: Fakultas Farmasi, UNPAD.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi



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

Nomor : 22/UN27.9.6.4/Lab/2016
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Afifah Khoirunnisa
NIM : 18123554A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Persea americana* Mill.
Familia : Lauraceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802b-806b-807b-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834b-835a-836a-837c-851a-852b-853b-854a-855c-856b-857a-858a-859c-860b-872a-873b
1b-2a-3b-5b-8b-9b-10a
1a-2b

12. Lauraceae
2. *Persea americana* Mill.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tinggi 3-20 m, tajuk berbentuk kubah. Akar : tunggang, bercabang-cabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, bercabang-cabang jarang hingga banyak, arah percabangan horizontal, permukaan ranting muda berambut tetapi ranting tua gundul, kulit batang berwarna coklat kotor. Daun : tunggal, terletak tersebar, kadangkala berjejalan di ujung ranting, helaian daun berbentuk bulat telur terbalik memanjang atau eliptis atau lanset, panjang 5-40 cm, lebar 3-15 cm, ujung daun runcing, tepi rata, pangkal daun runcing, tekstur daging daun seperti kulit, permukaan atas agak berlipit, daun muda berwarna merah, daun tua berwarna hijau gelap, permukaan daun muda berambut tetapi daun tua gundul, pertulangan daun menyirip, tulang daun terlihat menonjol nyata; panjang tangkai daun 1.5-5 cm. Bunga : majemuk, tipe tandan atau malai bercabang, duduk di ujung ranting; bunga berkelamin 2 (biseksual), berbau harum, berwarna kehijauan, bagian-bagian bunga terdiri atas 3 bagian (trimer); perhiasan bunga berupa tenda bunga yang terbagi dalam 2 lingkaran, masing-masing lingkaran terdiri atas 3 bagian, lingkaran luar mirip dengan kelopak bunga sedangkan lingkaran dalam mirip dengan mahkota bunga, panjang 5 mm, berwarna putih kekuningan, berbau harum, permukaan berambut; benang sari berjumlah 9, tersusun dalam 3 lingkaran, masing-masing lingkaran terdiri atas 3 benang sari, ditambah 1 lingkaran terdalam berupa 3 staminodia yang steril, staminodia berwarna oranye hingga coklat; tangkai putik ramping memanjang, bakal buah beruang 1. Buah : buni, bentuk bola atau buah peer hingga bulat memanjang, panjang 7-20 cm, berwarna hijau muda ketika muda dan berwarna hijau kekuningan hingga merah tua atau coklat ketika masak, permukaan licin dan berbintik-bintik, daging buah berwarna hijau kekuningan. Biji : besar, hanya berjumlah 1, bentuk bola, diameter 2.5-5 cm, kulit biji 2 lapis

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Surakarta, 2 Februari 2016
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS
Dr. Rima Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 3. Gambar tanaman, serbuk, dan ekstrak biji alpukat



A. Biji alpukat



B. serbuk biji alpukat



C. Ekstrak biji alpukat

Lampiran 4. Gambar kontrol positif (triamsinolon)



A. Serbuk triamsinolon dalam kemasan puyer

Lampiran 5. Gambar peralatan dalam penelitian



A. Rangkaian alat evaporator

Lampiran 6. Gambar larutan stok dan sediaan induksi CFA

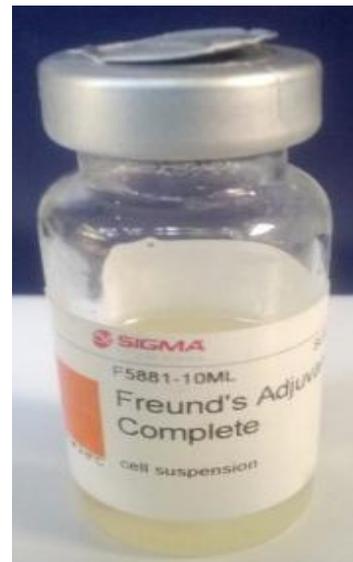
A. Larutan stok ekstrak biji alpukat



B. larutan stok triamsinolon

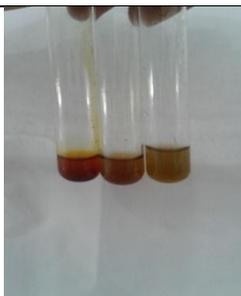
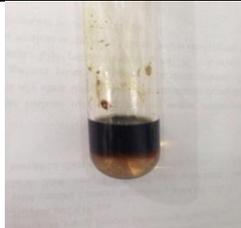


C. Larutan stok CMC 0,5%



D. sediaan induksi CFA

Lampiran 7. Gambar hasil uji identifikasi kandungan kimia

senyawa	Uji tabung	hasil
flavonoid		+ (warna jingga)
alkaloid		+ (reagen mayer endapan coklat, reagen wagner endapan putih, reagen dragendorff endapan jingga)
triterpenoid		+ (cincin kecoklatan dan warna hijau kebiruan)
tanin		+ (warna biru kehitaman)
saponin		+ (berbusa)

Lampiran 8. Gambar hewan uji dan pemberian ekstrak secara oral



A. Hewan uji



B. Pemberian ekstrak secara per oral

Lampiran 9. Pengujian arthritis



A. Tikus diinduksi CFA

Lampiran 10. Hasil persentase rendemen berat kering terhadap berat basah biji alpukat

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Redemen (%b/b)
3000	1600	53,30 %

Perhitungan reedmen

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

$$\text{Rendemen (\%b/b)} = \frac{1600}{3000} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%b/b)} = 53,33\%$$

Kesimpulan : persentase rendemen biji alpukat kering terhadap biji alpukat basah adalah 53,33% b/b

Lampiran 11. Hasil penetapan susut pengeringan biji alpukat

Hasil penetapan susut pengeringan biji alpukat

berat awal (g)	berat akhir (g)	susut pengeringan (%)
2,00	1,90	8,5
2,00	1,91	8,5
2,00	1,90	8,5
rata-rata		8,5

Perhitungan rata-rata susut pengeringan serbuk biji alpukat adalah :

$$\frac{8,5 + 8,5 + 8,5}{3} = 8,5$$

Lampiran 12. Hasil persentasi rendemen ekstrak maserasi biji alpukat terhadap serbuk

simplisia	serbuk (g)	ekstrak kental (g)	redemen (% b/b)
biji alpukat	400	50	12.5

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{\text{ekstrak kental (g)}}{\text{ekstrak kering (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{50}{400} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = 12,5\% \text{ b/b}$$

Kesimpulan : persentase rendemen ekstrak maserasi biji alpukat terhadap serbuk adalah 12,5% b/b

Lampiran 13. Perhitungan dosis

1. Induksi CFA

Dosis CFA yang diinjeksikan pada tikus sebesar 0,2 ml/kg BB tikus

2. Perhitungan volume pemberian

Perhitungan volume pemberian larutan stok didasarkan pada berat badan tikus. Pada penelitian ini, jalur pemberian ekstrak yang dilakukan adalah secara peroral, dengan volume maksimum larutan yang dapat diberikan pada tikus sebesar 5,0 ml (Harmita & Radji 2005). Sehingga setiap pembuatan larutan stok di sini, digunakan volume larutan 2ml. Jika tikus dengan berat badan 170 mg maka:

$$\frac{170 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

3. Triamsinolon

Dosis triamsinolon asetonid ditentukan berdasarkan faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g. Faktor konversi manusia-tikus sebesar 0,018. Dosis awal yang diberikan adalah dosis yang digunakan masyarakat pada umumnya. Dosis lazim triamsinolon asetonid untuk manusia adalah 4mg.

$$\begin{aligned} \text{Maka faktor konversi dari manusia ke tikus} &= 4 \text{ mg} \times 0.018 \\ &= 0.072 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \\ &= 0.36 \text{ mg}/\text{kg BB} \end{aligned}$$

4. Ekstrak biji alpukat

Dosis ekstrak biji alpukat yang ditetapkan pada tikus adalah 200mg/kg

BB. Berdasarkan data orientasi dosis yang digunakan adalah :

a. Dosis 1.96 g

$$\text{larutan stok} = \frac{1.96 \text{ g}}{1,7} \times 100\text{ml} = 1.15 \text{ g}/100\text{ml}$$

b. Dosis 3.92 g

$$\text{larutan stok} = \frac{3.92 \text{ g}}{1,7} \times 100\text{ml} = 2.3 \text{ g}/100\text{ml}$$

c. Dosis 0.98 g

$$\text{larutan stok} = \frac{0.98 \text{ g}}{1,7} \times 100\text{ml} = 0.58 \text{ g}/100\text{ml}$$

Lampiran 14. Hasil pengukuran volume udem kaki tikus

kelompok	no	volume udem							
		hari ke 0	hari ke1	hari ke 2	hari ke 3	hari ke 4	hari ke 5	hari ke 6	hari ke 7
alpukat dosis 1.96 g/kg BB	1	0.05	0.03	0.04	0.05	0.02	0.03	0.01	0.01
	2	0.05	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02
	3	0.08	0.08	0.07	0.04	0.03	0.04	0.04	0.03
	4	0.05	0.06	0.03	0.03	0.03	0.02	0.01	0.01
	5	0.06	0.05	0.04	0.04	0.03	0.05	0.03	0.02
alpukat dosis 3.92 g/kg BB	1	0.05	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02
	2	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	0.03	0.03
	3	0.04	0.04	0.04	0.05	0.02	0.03	0.03	0.03
	4	0.05	0.04	0.04	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03
	5	0.06	0.05	0.05	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03
alpukat dosis 0.98 g/kg BB	1	0.07	0.05	0.05	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02
	2	0.06	0.05	0.06	0.05	0.04	0.03	0.03	0.02
	3	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.03
	4	0.05	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02
	5	0.06	0.04	0.05	0.05	0.04	0.03	0.03	0.02
kontrol positif triamsinolon	1	0.07	0.06	0.06	0.04	0.05	0.04	0.03	0.03
	2	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02
	3	0.07	0.05	0.06	0.06	0.04	0.04	0.03	0.03
	4	0.08	0.07	0.05	0.03	0.04	0.02	0.03	0.02
	5	0.08	0.08	0.04	0.05	0.04	0.04	0.03	0.04
kontrol negatif CMC 0.5%	1	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04
	2	0.06	0.04	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.05
	3	0.06	0.04	0.03	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05
	4	0.05	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03	0.04	0.03
	5	0.05	0.04	0.02	0.05	0.03	0.04	0.04	0.04

Lampiran 15. perhitungan persen penurunan volume udem kaki tikus

Kelompok	NO	persen penurunan voleme udem						
		hari ke 1	hari ke 2	hari ke 3	hari ke 4	hari ke 5	hari ke 6	hari ke 7
alpukat dosis 1.96 g/kg BB	1	40	20	0	60	40	80	80
	2	20	20	40	40	40	40	60
	3	0	12.5	50	62.5	50	50	62.5
	4	-20	40	60	40	60	80	80
	5	16.67	33.33	33.33	50	16.67	60	66.67
alpukat dosis 3.92 g/kg BB	1	20	20	40	20	40	60	60
	2	0	25	25	50	50	25	25
	3	0	0	25	50	25	25	25
	4	20	20	40	40	20	40	50
	5	16.67	16.67	33.33	50	33.33	50	50
alpukat dosis 0,98 g/kg BB	1	28.57	28.57	57.14	57.14	57.14	71.43	71.43
	2	16.66	0	16.66	33.33	50	50	66.67
	3	20	20	0	20	20	20	40
	4	20	40	20	40	40	60	60
	5	33.33	16.67	16.67	33.33	50	50	66.67
kontrol positif triamsinolon	1	14.28	14.28	42.86	28.57	42.86	57.14	57.14
	2	16.67	33.33	33.33	33.33	50	66.67	66.67
	3	28.57	14.28	14.28	42.86	42.86	57.14	57.14
	4	12.5	37.5	62.8	50	75	62.8	75
	5	0	50	37.5	50	50	62.8	50
kontrol negative CMC 0.5%	1	0	20	0	0	20	20	20
	2	33.33	33.33	16.67	16.67	33.33	33.33	16.67
	3	33.33	50	0	16.67	0	16.67	16.75
	4	40	20	20	40	40	20	40
	5	20	20	0	40	20	20	20

Perhitungan persen penurunan volume udem secara manual

$$\% = \left(\frac{V_0 - V_t}{V_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan: % = persentase penurunan volume udem kaki, V_t = volume kaki tikus yang diberi perlakuan, V_0 = volume kaki tikus yang tidak diberi perlakuan.

Ekstrak biji alpukat dosis 392mg/200gBB hari 1 sampel 1

$$i = \frac{0,05 - 0,03}{0,05} \times 100\% = 40\%$$

Rata-rata persen penurunan udem

Kelompok	hari 1	hari 2	hari 3	hari 4	hari 5	hari 6	hari 7
alpukat dosis 1.96 g/kg BB	11.33	25.17	36.67	50.5	41.33	60	69.83
alpukat dosis 3.92 g/kg BB	11.33	16.33	32.6	42	33.66	40	42
alpukat dosis 0.98 g/kg BB	24	21.03	22.09	36.76	43.43	50.29	60.95
kontrol positif triamsinolon	14.4	29.88	38.15	40.95	52.14	61.31	61.19
kontrol negative CMC 0.5%	25.33	28.67	7.33	22.67	22.67	22	22.67

Lampiran 16. Data total AUC persen penurunan volume udem

Kelompok	1	2	3	4	5	6	Total AUC
alpukat dosis 1.96 g/kg BB	12.25	30.92	43.58	45.92	50.66	64.92	254.25
alpukat dosis 3.92 g/kg BB	13.82	24.5	37.33	37.83	36.83	41	191.32
alpukat dosis 0.98 g/kg BB	22.37	21.56	29.43	46.09	46.86	55.62	215.94
kontrol positif triamsinolon	22.14	34.01	39.55	46.54	56.72	61.25	260.21
kontrol negatif CMC 0.5%	27	18	15	22.67	22.33	22.33	127.33

Lampiran 17. Hasil analisis statistic AUC

Uji normalitas

Sampel		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUC	alpukat dosis 1.96 g	.215	6	.200 [*]	.966	6	.868
	alpukat dosis 3.92 g	.348	6	.022	.817	6	.083
	alpukat dosis 0.98 g	.236	6	.200 [*]	.883	6	.282
	Kontrol positif	.154	6	.200 [*]	.974	6	.916
	Kontrol negatif	.271	6	.190	.936	6	.629

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji one-way anova

Test of Homogeneity of Variances

AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.323	4	25	.084

ANOVA

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1884.981	4	471.245	2.701	.054
Within Groups	4361.279	25	174.451		
Total	6246.260	29			

Post hoc tests

Multiple Comparisons

AUC

Tukey HSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
alpukat dosis 1.96 g	alpukat dosis 3.92 g	9.49000	7.62564	.726	-12.9055	31.8855
	alpukat dosis 0.98 g	4.38667	7.62564	.978	-18.0089	26.7822
	Kontrol positif	-1.99333	7.62564	.999	-24.3889	20.4022
	Kontrol negatif	20.15333	7.62564	.093	-2.2422	42.5489
alpukat dosis 3.92 g	alpukat dosis 1.96 g	-9.49000	7.62564	.726	-31.8855	12.9055
	alpukat dosis 0.98 g	-5.10333	7.62564	.961	-27.4989	17.2922
	Kontrol positif	-11.48333	7.62564	.568	-33.8789	10.9122
	Kontrol negatif	10.66333	7.62564	.634	-11.7322	33.0589
alpukat dosis 0.98 g	alpukat dosis 1.96 g	-4.38667	7.62564	.978	-26.7822	18.0089
	alpukat dosis 3.92 g	5.10333	7.62564	.961	-17.2922	27.4989
	Kontrol positif	-6.38000	7.62564	.917	-28.7755	16.0155
	Kontrol negatif	15.76667	7.62564	.265	-6.6289	38.1622
Kontrol positif	alpukat dosis 1.96 g	1.99333	7.62564	.999	-20.4022	24.3889
	alpukat dosis 3.92 g	11.48333	7.62564	.568	-10.9122	33.8789
	alpukat dosis 0.98 g	6.38000	7.62564	.917	-16.0155	28.7755
	Kontrol negatif	22.14667	7.62564	.054	-.2489	44.5422
Kontrol negatif	alpukat dosis 1.96 g	-20.15333	7.62564	.093	-42.5489	2.2422
	alpukat dosis 3.92 g	-10.66333	7.62564	.634	-33.0589	11.7322
	alpukat dosis 0.98 g	-15.76667	7.62564	.265	-38.1622	6.6289
	Kontrol positif	-22.14667	7.62564	.054	-44.5422	.2489

Homogeneous subsets

AUC

Tukey HSD^a

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Kontrol negatif	6	21.2217
alpukat dosis 3.92 g	6	31.8850
alpukat dosis 0.98 g	6	36.9883
alpukat dosis 1.96 g	6	41.3750
Kontrol positif	6	43.3683
Sig.		.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 18. Hasil analisa statistic pengukuran volume udem

Uji normalitas

Sampel		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pnurunnudem	Alpukat dosis 1.96 g	.200	35	.001	.907	35	.007
	Alpukat dosis 3.92 g	.259	35	.000	.870	35	.005
	Alpukat dosis 0.98 g	.199	35	.001	.904	35	.006
	Kontrol positif	.218	35	.000	.924	35	.020
	Kontrol negatif	.233	35	.000	.897	35	.005

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis menggunakan anava 2 jalan

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
sampel	1.00	alpukat dosis 1.96 g	20
	2.00	alpukat dosis 3.92 g	20
	3.00	alpukat dosis 0.98 g	20
	4.00	kontrol positif	20
	5.00	kontrol negatif	20
hari	4.00	hari ke 4	25
	5.00	hari ke 5	25
	6.00	hari ke 6	25
	7.00	hari ke 7	25

Descriptive Statistics

Dependent Variable: prsnpenrunanudem

sampel	hari	Mean	Std. Deviation	N
alpukat dosis 1.96 g	hari ke 4	50.5000	10.66536	5
	hari ke 5	41.3340	16.08875	5
	hari ke 6	62.0000	17.88854	5
	hari ke 7	69.8340	9.58125	5
	Total	55.9170	17.01557	20
alpukat dosis 3.92 g	hari ke 4	42.0000	13.03840	5
	hari ke 5	33.6660	11.92572	5
	hari ke 6	40.0000	15.41104	5
	hari ke 7	42.0000	16.04681	5
	Total	39.4165	13.49986	20
alpukat dosis 0.98 g	hari ke 4	36.7600	13.51175	5
	hari ke 5	43.4280	14.44839	5
	hari ke 6	50.2860	19.09736	5
	hari ke 7	60.9540	12.40032	5
	Total	47.8570	16.60716	20
kontrol positif	hari ke 4	40.9520	9.73116	5
	hari ke 5	52.1440	13.26627	5
	hari ke 6	61.3100	4.12152	5
	hari ke 7	61.1900	9.73098	5
	Total	53.8990	12.40417	20
kontrol negatif	hari ke 4	22.6680	17.22343	5
	hari ke 5	22.6660	15.34724	5
	hari ke 6	22.0000	6.49573	5
	hari ke 7	22.6840	9.81876	5
	Total	22.5045	11.88729	20
Total	hari ke 4	38.5760	15.15229	25
	hari ke 5	38.6476	16.51726	25
	hari ke 6	47.1192	19.89355	25
	hari ke 7	51.3324	20.38799	25
	Total	43.9188	18.68679	100

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: prsnpenrunanudem

F	df1	df2	Sig.
---	-----	-----	------

.800	19	80	.700
------	----	----	------

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + sampel + hari + sampel * hari

Post hoc test sampel

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: prsnpenrunanudem

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20352.112 ^a	19	1071.164	6.027	.000
Intercept	192886.099	1	192886.099	1085.283	.000
sampel	14758.271	4	3689.568	20.760	.000
Hari	3038.377	3	1012.792	5.699	.001
sampel * hari	2555.463	12	212.955	1.198	.299
Error	14218.305	80	177.729		
Total	227456.516	100			
Corrected Total	34570.417	99			

a. R Squared = .589 (Adjusted R Squared = .491)

Homogenous test

prsnpenrunanudem

Tukey HSD^{a,b}

Sampel	N	Subset		
		1	2	3
kontrol negative	20	22.5045		
alpukat dosis 3.92 g	20		39.4165	
alpukat dosis 0.98 g	20		47.8570	47.8570
kontrol positif	20			53.8990
alpukat dosis 1.96 g	20			55.9170
Sig.		1.000	.274	.320

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 177.729.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

hari**Multiple Comparisons**

Prsnpenrunanudem
Tukey HSD

(I) hari	(J) hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
hari ke 4	hari ke 5	-.0716	3.77072	1.000	-9.9654	9.8222
	hari ke 6	-8.5432	3.77072	.115	-18.4370	1.3506
	hari ke 7	-12.7564*	3.77072	.006	-22.6502	-2.8626
hari ke 5	hari ke 4	.0716	3.77072	1.000	-9.8222	9.9654
	hari ke 6	-8.4716	3.77072	.120	-18.3654	1.4222
	hari ke 7	-12.6848*	3.77072	.006	-22.5786	-2.7910
hari ke 6	hari ke 4	8.5432	3.77072	.115	-1.3506	18.4370
	hari ke 5	8.4716	3.77072	.120	-1.4222	18.3654
	hari ke 7	-4.2132	3.77072	.680	-14.1070	5.6806
hari ke 7	hari ke 4	12.7564*	3.77072	.006	2.8626	22.6502
	hari ke 5	12.6848*	3.77072	.006	2.7910	22.5786
	hari ke 6	4.2132	3.77072	.680	-5.6806	14.1070

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 177.729.

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

Homogenous subsets

prsnpenrunanudem

Tukey HSD^{a,b}

hari	N	Subset	
		1	2
hari ke 4	25	38.5760	
hari ke 5	25	38.6476	
hari ke 6	25	47.1192	47.1192
hari ke 7	25		51.3324
Sig.		.115	.680

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 177.729.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

b. Alpha = .05.