

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP *DISTRESS EPIGASTRIC*



Oleh:

**Dwi Endang Febriyanti
21154521A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP *DISTRESS EPIGASTRIC*

SKRIPSI

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



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP *DISTRESS EPIGASTRIC*

Oleh:

Dwi Endang Febriyanti

21154521A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 22 Desember 2018

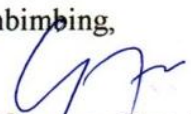
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



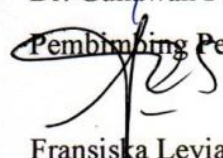
Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing,



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


~~Pembimbing Pendamping,~~

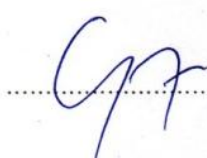

Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt.

Penguji:

1. Dwi Ningsih, S. Si., M. Farm., Apt. 

2. Dr. Jason Merari P., MM., M.Si., Apt. 

3. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. 

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

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Desember 2018



Dwi Endang Febriyanti

KATA PENGANTAR

السَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

Puji syukur kehadiran Allah SWT Yang Maha Mendengar lagi Maha Melihat dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta seluruh keluarga dan sahabatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP *DISTRESS EPIGASTRIC*” Tugas akhir ini merupakan syarat terakhir yang harus ditempuh untuk menyelesaikan pendidikan jenjang Strata Satu (S1), pada Program Studi Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penulisan skripsi ini, banyak pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dwi Ningsih, S. Si., M. Farm., Apt. selaku Penguji atas kritik, saran, motivasi, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Ibu Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt. selaku Penguji atas kritik, saran, motivasi, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
3. Bapak Dr. Gunawan Pamuji W., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama atas kritik, saran, motivasi, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
4. Ibu Fransiska Leviana, S.Farm., M.Si., Apt. Dosen Pembimbing Pendamping atas kritik, saran, motivasi, dan bimbingan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

5. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi atas keramahan, dukungan, dan bantuan baik secara moril maupun materil yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Seluruh teman-teman Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi atas dukungan, bantuan, dan kebersamaannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Dan semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Tentunya sebagai manusia tidak pernah luput dari kesalahan, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu saran dan kritik dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya. Akhirnya hanya kepada Allah SWT kita kembalikan semua urusan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya. Semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah di sisi-Nya, amin.

وَالسَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

Surakarta, Desember 2018



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	<u>xii</u>
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tumbuhan Sembukan	4
1. Sistematika tumbuhan	4
2. Nama daerah dan nama asing.....	4
3. Sinonim	4
4. Morfologi tumbuhan	4
5. Kandungan senyawa.....	5
6. Kegunaan tanaman.....	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Standarisasi mutu simplisia.....	9
C. Ekstrak dan Metode Ekstraksi	10

1. Pengertian ekstrak.....	10
2. Pengertian ekstraksi	10
3. Metode ekstraksi	11
4. Pelarut	13
D. Inflamasi	13
1. Pengertian inflamasi	13
2. Macam-macam inflamasi.....	14
3. Tanda-tanda inflamasi.....	14
4. Mekanisme terjadinya inflamasi	15
E. Metode Uji Inflamasi	16
1. Metode edema pada kaki tikus.....	16
2. Metode eritema akibat induksi sinar UV	17
3. Metode iritasi dengan panas	17
4. Metode kantong granuloma	18
5. Metode iritasi pleura	18
6. Metode penumpukan kristal synovitis	18
7. Metode induksi asam asetat	19
8. Metode induksi histamin.....	19
9. Induksi xylen pada daun telinga	19
F. Bahan Penginduksi	19
1. <i>Complete Freund's Adjuvant (CFA)</i>	19
2. Karagenan	20
3. Albumin putih telur.....	20
4. Venom ular	20
G. Antiinflamasi	20
1. Antiinflamasi non steroid.....	21
2. Antiinflamasi steroid (kortikosteroid)	22
3. Asetosal.....	23
4. Metabolit sekunder sebagai antiinflamasi.....	24
H. Karagenan	25
I. Histopatologi.....	25

J.	Lambung	29
	1. Anatomi dan fisiologi lambung	29
	2. Fungsi lambung.....	29
	3. Gangguan pada lambung	29
	4. Keamanan terhadap lambung.....	30
K.	Hewan Uji	30
	1. Sistematika hewan uji	30
	2. Karakteristik tikus putih.....	30
	3. Biologis tikus	31
	4. Anatomi dan fisiologi lambung tikus.....	31
	5. Cara pemberian bahan uji dan perlakuan.....	34
L.	Landasan Teori	35
M.	Hipotesis	37
N.	Kerangka Pikir	38
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		39
A.	Populasi dan Sampel	39
B.	Variabel Penelitian.....	39
	1. Identifikasi variabel utama.....	39
	2. Klasifikasi variabel utama.....	39
	3. Definisi operasional variabel utama.....	40
C.	Alat dan Bahan.....	41
	1. Alat.....	41
	2. Bahan.....	41
D.	Jalannya Penelitian	42
	1. Determinasi	42
	2. Pembuatan simplisia	42
	3. Penetapan kadar air serbuk	42
	4. Pembuatan ekstrak etanol daun sembukan	42
	5. Penetapan kadar air ekstrak	43
	6. Identifikasi senyawa	43
	7. Penentuan Dosis.....	44

8. Pembuatan larutan uji/suspensi.....	44
9. Persiapan hewan uji	44
10. Persiapan perlakuan	45
11. Cara euthanasia / membunuh hewan	46
12. Pengamatan.....	46
13. Pemeriksaan histopatologi organ lambung	46
E. Analisis Data.....	47
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	50
A. Tanaman Sembukan (<i>Paederia scandens</i> (Lour.) Merr)	50
1. Hasil determinasi tanaman.....	50
2. Pengambilan tanaman dan pengeringan daun sembukan.....	50
3. Hasil pembuatan serbuk daun sembukan.....	51
4. Hasil penetapan kadar air serbuk	51
B. Ekstraksi	52
1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sembukan	52
2. Hasil penetapan kadar air ekstrak	52
3. Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun sembukan.....	53
C. Uji Aktivitas Antiinflamasi	53
D. Pengamatan Histopatologi Organ Lambung	57
1. Pengamatan makroskopis.....	57
2. Pengamatan mikroskopis	62
E. Uji Hipotesis.....	68
1. Aktivitas antiinflamasi daun sembukan terhadap edema.....	68
2. Pengaruh ekstrak daun sembukan terhadap organ lambung tikus	69
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	72
A. Kesimpulan	72
B. Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	80

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tumbuhan semburan.....	6
2. Mekanisme terjadinya inflamasi	18
3. Struktur kimia asetosal.....	24
4. Mekanisme kerja asetosal	25
5. Histologi lambung tikus bagian pilorus	33
6. Mikroskopik lambung normal tikus	33
7. Mikroskopik lambung normal tikus	34
8. Mikroskopik lambung tikus yang diberi asetosal.....	34
9. Mikroskopik lambung tikus yang diberi asetosal.....	34
10. Kerangka pikir penelitian.....	39
11. Skema penelitian uji antiinflamasi	49
12. Skema penelitian uji histopatologi	50
13. Grafik rata-rata volume edema.....	55
14. Foto makroskopis lambung tikus lama pemberian 10 hari	59
15. Foto makroskopis lambung tikus lama pemberian 15 hari	59
16. Foto makroskopis lambung tikus lama pemberian 20 hari	60
17. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 10 hari.....	63
18. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 15 hari.....	64
19. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 20 hari.....	64
20. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 10 hari.....	65
21. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 20 hari.....	66
22. Foto makroskopis dan mikroskopis lambung normal	66
23. Grafik rata-rata jumlah skoring histopatologi lambung	68

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen daun kering terhadap daun basah	52
2. Rendemen serbuk terhadap daun kering	52
3. Hasil penetapan kadar air serbuk	52
4. Rendemen ekstrak terhadap serbuk kering	53
5. Hasil penetapan kadar air ekstrak	53
6. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	54
7. Rata-rata volume edema.....	55
8. Rata-rata AUC dan persentase volume edema.....	57
9. Persentase inhibisi radang (DAI)	57
10. Skor lambung tikus kelompok uji 10 hari.....	60
11. Skor lambung tikus kelompok uji 15 hari.....	61
12. Skor lambung tikus kelompok uji 20 hari	62
13. Rata-rata skoring histopatologi lambung tikus	67
14. Hasil uji normalitas data <i>shapiro-wilk</i>	69
15. Hasil uji anova.....	69
16. Hasil uji multiple comparisons.....	69
17. Hasil uji normalitas data <i>shapiro-wilk</i>	70
18. Hasil uji anova kelompok CMC.....	70
19. Hasil uji anova pada kelompok asetosal	71
20. Hasil uji anova kelompok ekstrak	71

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi.....	82
2. Surat kelaikan etik (<i>Ethical Clearance Letter</i>).....	83
3. Foto tanaman, daun, serbuk, dan ekstrak daun sembukan	84
4. Foto identifikasi senyawa.....	84
5. Foto larutan stok.....	85
6. Foto uji antiinflamasi	85
7. Foto makroskopis organ lambung lama pemberian 10 hari.....	86
8. Foto makroskopis organ lambung lama pemberian 15 hari.....	86
9. Foto makroskopis organ lambung lama pemberian 20 hari.....	87
10. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 10 hari.....	87
11. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 15 hari.....	87
12. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 20 hari	88
13. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 10 hari	88
14. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 15 hari	88
15. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 20 hari	89
16. Hasil pengamatan histologi organ lambung.....	89
17. Derajat inflamasi pada lambung (<i>Sydney Grading</i>).....	93
18. Perhitungan rendemen daun sembukan	94
19. Perhitungan dosis dan penimbangan larutan stok	96
20. Hasil uji aktivitas antiinflamasi.....	99
21. Hasil uji statistik.....	108

INTISARI

FEBRIYANTI D.E. 2018. AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP *DISTRESS EPIGASTRIC*. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun sembukun (*Paederia scandens* (Lour) Merr) adalah tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat tradisional dan memiliki senyawa kimia antara lain minyak atsiri, alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid. Salah satu aktivitas yang ditunjukkan oleh senyawa flavanoid yaitu antiinflamasi. Asetosal merupakan obat anti inflamasi yang dapat menyebabkan efek samping gangguan mukosa lambung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukun dan pengaruh lama waktu penggunaan asetosal dan ekstrak daun sembukun terhadap lambung tikus putih jantan.

Penelitian aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan cara memberikan karagenan sebagai bahan penyebab radang pada telapak kaki tikus putih jantan, lalu pemberian secara oral suspensi ekstrak etanol daun sembukun (*Paederia scandens* (Lour) Merr) dengan dosis 250 mg/kg BB, natrium CMC sebagai kontrol negatif dan asetosal sebagai kontrol positif. Pengukuran dilakukan setiap 1 jam selama 6 jam dan pada jam ke-24 setelah diinduksi karagenan. Penelitian histopatologi menggunakan 27 ekor tikus putih jantan. Hewan uji dibagi dalam kelompok kontrol negatif (I) dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dibagi atas kelompok tikus yang diberi asetosal 90 mg/kg BB (II) dan tikus yang diberi ekstrak daun sembukun 250 mg/kg BB (III). Kelompok I, II dan III diterminasi pada hari ke-10, 15, dan 20.

Diperoleh ekstrak daun sembukun pada dosis 250 mg/kg BB mempunyai persentase penurunan radang 67,32% dan uji statistik diperoleh 0,003 (<0,05) yang menunjukkan ekstrak daun sembukun berpengaruh secara signifikan terhadap inflamasi. Ekstrak daun sembukun pada dosis 250 mg/kg BB aman digunakan sampai dengan penggunaan selama 20 hari, uji statistik diperoleh 0,079 (>0,05) artinya tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun sembukun terhadap *distress epigastric*.

Kata kunci : daun sembukun, asetosal, antiinflamasi, *distress epigastric*, waktu.

ABSTRACT

FEBRIYANTI D.E. 2018. ANTIINFLAMATION ACTIVITIES OF SEMBUKAN LEAF EXTRACTS (*Paederia scandens* (Lour) Merr) AND THE EFFECT OF TIME USE ON DISTRESS EPIGASTRIC. SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Sembukan leaves (*Paederia scandens* (Lour) Merr) are plants that are empirically used as traditional medicines and have chemical compounds including essential oils, alkaloids, steroids, saponins, and flavonoids. One of the activities shown by flavonoids is anti-inflammatory. Acetosal is an anti-inflammatory drug that can cause side effects of gastric mucosal disorders. This research aims to determine the antiinflammatory activity of sembukan leaf extract and the effect of duration use of acetosal and leaf extracts on the stomach of male white rats.

The study of anti-inflammatory activity was carried out by giving carrageenan as the cause of inflammation in the soles of male white rats, then administering the suspension of sembukan ethanol extract (*Paederia scandens* (Lour) Merr) at a dose of 250 mg/kg BB, sodium CMC as negative and acetosal as positive control. Measurements were carried out every 1 hour for 6 hours and at 24 hours after carrageenan was induced. Histopathological study used 27 male white rats. Test animals were divided into negative control groups (I) and treatment groups. The treatment group was divided into groups of rats given acetosal 90 mg/kg BB (II) and rats given sembukan leaf extract 250 mg/kg BB (III). Groups I, II and III are terminated on the 10th, 15th, and 20th days.

Sembukan leaf extract obtained at a dose of 250 mg / kg BB had a decrease in inflammation percentage of 67,32% and a statistical test was obtained at 0,003 ($<0,05$) which showed that sembukan leaf extract significantly affected inflammation. Sembukan leaf extract at a dose of 250 mg / kg BB is safe to use until the use of 20 days of statistical tests obtained 0,079 ($> 0,05$) means that there is no significant effect of giving leaf extract to epigastric distress.

Keywords: sembukan leaves, acetosal, anti-inflammatory, distress epigastric, time

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Jika penyembuhan lengkap, proses peradangan biasanya reda (Mycek *et al.* 2001).

Proses inflamasi merupakan suatu mekanisme perlindungan tubuh untuk menetralsir dan membasmi agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera misalnya antigen, virus, bakteri, atau protozoa dan mempersiapkan keadaan untuk perbaikan jaringan. Sampai sekarang fenomena mekanisme inflamasi pada tingkat bioseluler masih belum dapat dijelaskan secara rinci. Fenomena inflamasi ini meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan migrasi leukosit ke jaringan radang (Fauziyah 2008).

Antiinflamasi adalah obat yang dapat menghilangkan radang yang disebabkan bukan karena mikroorganisme, namun yang timbul sebagai respon cedera jaringan dan infeksi. Dikenal obat antiinflamasi non steroid atau NSAID (*Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*). NSAID memiliki khasiat analgetik, antipiretik, dan antiinflamasi. Istilah non steroid digunakan untuk membedakan jenis obat-obatan ini dengan steroid, yang juga memiliki khasiat serupa. Cara kerja NSAID didasarkan pada penghambatan isoenzim COX-1 (*cyclooxygenase-1*) dan COX-2 (*cyclooxygenase-2*). Enzim *cyclooxygenase* ini berperan dalam memacu pembentukan prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat. Dengan terhambatnya isoenzim ini, maka prostaglandin yang menimbulkan reaksi radang berupa panas, nyeri, merah, bengkak, dan disertai gangguan fungsi itu pun tidak terbentuk.

Selain obat golongan NSAID, tumbuhan juga dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Tumbuhan banyak yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai

bahan makanan, rempah, atau sebagai obat tradisional. Obat tradisional memiliki efek samping yang relatif kecil dibandingkan dengan obat modern bila digunakan dalam dosis yang tepat. Satu jenis tumbuhan dapat memiliki beberapa efek farmakologi.

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan masyarakat sebagai makanan dan obat tradisional adalah daun sembukan. Sembukan merupakan tumbuhan dari keluarga *Rubiaceae* dan mempunyai spesies *Paederia scandens*. Secara empiris daun sembukan dipercaya dapat mengobati rematik, perut kembung, peluruh dahak (mukolitik), penambah nafsu makan, peluruh kencing, detoksifikasi, dan antibiotik (Hariana 2013). Kandungan yang terdapat dalam daun sembukan antara lain pada daun dan batangnya mengandung asperulosida, deasetilasperulosida, *6b-O-sinapoyl scandoside methyl ester*, *three dimeric iridoid glucosides*, paederosida, metil ester asam paederosida, gama-sitosteron, arbutin, asam oleanolik, dan minyak atsiri (Utami 2008). Selain itu, daun sembukan juga mengandung alkaloid, paederin, metilmerkaptan (Pratama *et al.* 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Pratama *et al.* (2015) diketahui bahwa ekstrak etanol daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis 250 mg/kg BB namun hanya diuji aktivitas antiinflamasi dari daun sembukan tetapi tidak diuji keamanannya terhadap lambung berupa *distress epigastric*. Berdasarkan pada penelitian tersebut dan dengan melihat potensi kerusakan pada sel lambung yang disebabkan oleh obat-obat antiinflamasi golongan NSAID, akan dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sembukan terhadap tikus pada dosis 250 mg/kg BB dengan metode induksi karagenan dan dilakukan uji histopatologi terhadap organ lambung tikus untuk melihat apakah ekstrak daun sembukan berpotensi menyebabkan *distress epigastric*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap edema buatan dengan metode induksi karagenan pada tikus putih jantan?

Kedua, apakah penggunaan ekstrak daun sembukan sampai dengan 20 hari aman terhadap *distress epigastric* tikus putih jantan dibandingkan dengan asetosal dilihat dari pengamatan histopatologi?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak daun sembukan terhadap edema buatan dengan metode induksi karagenan pada tikus putih jantan.

Kedua, untuk mengetahui keamanan penggunaan ekstrak daun sembukan sampai dengan 20 hari terhadap *distress epigastric* tikus putih jantan dilihat dari pengamatan histopatologi.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat tentang kegunaan daun sembukan sebagai tanaman yang berkhasiat mengurangi peradangan, serta dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya mengenai tumbuhan sembukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Sembukan

1. Sistematika tumbuhan

Kedudukan tumbuhan sembukan mempunyai sistematika sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: <i>Paederia</i>
Jenis	: <i>Paederia scandens</i> (Raina 2011).

2. Nama daerah dan nama asing

Tumbuhan sembukan, di Indonesia dikenal dengan nama yang berbeda-beda di masing-masing daerah seperti: *daun kentut* (Sumatera), *kahitutan* (Sunda), *sembukan/kasembukan* (Jawa), *gumi siki* (Ternate), *bintaos* (Madura). Tumbuhan sembukan memiliki nama asing *chinese fevervine* (Inggris), *ji shi teng* (Cina) (Hariana 2013).

3. Sinonim

Tumbuhan sembukan (*Paederia scandens*) memiliki nama lain/sinonim *P. chinensis* Hance., *P. foetida* Auct., *P. foetida*, Linn., dan *P. tomentosa*, BI (Haryanto 2012).

4. Morfologi tumbuhan

Sembukan merupakan tumbuhan tahunan berbatang memanjat, membelit dengan panjang 3-5 meter, pangkal berkayu, daun tunggal, bertangkai 1-5 cm dan tersusun berhadapan. Bentuk daun bulat telur sampai lanset, pangkal bulat, tepi rata, ujung runcing dengan panjang 3-12,5 cm dan lebar 2-7 cm. Permukaan atas daun berambut atau gundul dengan tulang menyirip, bila diremas berbau kentut.

Bunganya majemuk, keluar dari ketiak daun atau ujung percabangan. Mahkota bunga berwarna putih dengan tabung ungu, buah bulat, warna kuning mengkilap, diameter 4-6 mm, (seperti pada gambar 1). Perkembangbiakan dengan stek batang atau biji (Haryanto 2012).

Sembukan tumbuh di hutan di daerah India, Cina, Pilipina, dan Indonesia. Di Indonesia terdapat di daerah Jawa Barat, Jawa Timur, Madura, Sumatera, Ternate, dan Kalimantan. Tumbuh liar di tanah terbuka, semak belukar, atau di tepi sungai.



Gambar 1. Tumbuhan sembukan.

Sumber : Hariana (2013)

5. Kandungan senyawa

Sembukan adalah tumbuhan liar yang batang dan daunnya telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena terdapat metabolit sekunder seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan steroid (Ekawati *et al.*2017). Sembukan kaya kandungan kimia seperti *asperuloside*, *deacetyl asperuloside*, *scandoside*, arbutin, paederosid, asam paederosidik, gama-sitosterol, asam oleanolat, dan minyak atsiri (metil merkaptan) pada batang dan daun (Hariana 2013). Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sembukan mengandung senyawa flavonoid dan senyawa terpenoid (Abriyanto *et al.* 2012).

5.1 Minyak atsiri. Minyak atsiri bukanlah senyawa murni tetapi merupakan campuran senyawa organik yang dapat terdiri dari 25 senyawa atau

komponen yang berlainan. Sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon, karbon dan hidrogen, atau hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik yang secara umum disebut terpenoid. Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak eteris, minyak esensial, atau minyak menguap karena pada suhu kamar mudah menguap. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Dalam keadaan segar dan murni, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Namun pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi. Untuk mencegahnya, minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap, diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan di tempat yang kering dan sejuk (Gunawan & Mulyani 2004). Minyak atsiri yang terkandung dalam daun sembung adalah metil merkaptan (Hariana 2013). Metil merkaptan adalah senyawa organosulfur dengan rumus kimia CH_3SH berupa gas mudah terbakar dan tidak berwarna dengan bau busuk yang khas dan merupakan zat alami yang ditemukan dalam darah dan otak manusia dan hewan, serta di jaringan tanaman. Metil merkaptan dibuang melalui kotoran hewan, terdapat juga pada makanan tertentu, seperti kacang dan keju. Merupakan salah satu senyawa utama penyebab bau mulut dan bau kentut.

5.2 Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (batasan ini tidak terlalu tepat karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam yang bukan tergolong alkaloid). Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan yang lain berdasarkan sifat basanya. Oleh karena itu, senyawa golongan ini sering diisolasi dalam bentuk garamnya dengan asam klorida atau asam sulfat. Garam ini atau alkaloid bebasnya berbentuk padat membentuk kristal yang tidak berwarna. Banyak alkaloid yang bersifat optis aktif dan biasanya hanya satu isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dikenal juga campuran rasemat alkaloid. Senyawa golongan alkaloid

diklasifikasikan menurut jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Menurut klasifikasi tersebut, maka alkaloid dapat dibedakan atas beberapa jenis yaitu alkaloid pirolidin, alkaloid piperidin, alkaloid isokuinolin, alkaloid indol, alkaloid piridin, dan alkaloid tropana (Endarini 2016).

5.3 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus, dan insektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya. Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional (Endarini 2016).

5.4 Steroid. Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang dapat dihasilkan dari reaksi penurunan terpena atau skualena. Steroid merupakan kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 karbon dengan membentuk struktur 1,2-siklopenteno perhidrofenantren. Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. Secara biogenetik, steroid yang terdapat di alam berasal dari triterpen, yang terdapat dalam jaringan hewan berasal dari lanosterol, sedangkan yang terdapat dalam jaringan tumbuhan berasal dari sikloartenol (Endarini 2016).

5.5 Terpenoid. Terpenoid atau isoprenoid adalah kelas besar dan beragam dari bahan kimia organik alami yang mirip dengan terpena, berasal dari

unit isoprena 5 karbon yang dirakit dan dimodifikasi dalam ribuan cara. Sebagian besar adalah struktur multisiklik yang berbeda satu sama lain tidak hanya dalam kelompok fungsional tetapi juga dalam kerangka karbon dasar mereka. Lipid ini dapat ditemukan di semua kelas makhluk hidup dan merupakan kelompok produk alami terbesar. Terpenoid merupakan derivat dehidrogenasi dan oksigenasi dari senyawa terpen. Terpenoid yang memiliki 30 atom karbon disebut triterpenoid. Gama-sitosterol adalah triterpenoid yang diisolasi dari alga merah laut India *Gracilaria edulis*, spons *Veronica aerophoba*, dan *Kenyan Marine Green*. *Macroalga Halimeda macroloba*. Ini adalah inhibitor ampuh komponen komplemen C1 (NCBI 2018).

5.6 Saponin. Saponin adalah metabolit sekunder dengan berat molekul tinggi, terdapat dalam berbagai macam spesies tanaman dan didistribusikan ke seluruh kulit kayu, daun, batang, akar, dan bahkan bunga. Saponin berasa pahit dan memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektif, anti-ulkus, anti-tumor, antimikroba, adjuvan, dan aktivitas anti-inflamasi (Moghimipour & Handali 2014).

6. Kegunaan tanaman

Daun sembukan berkhasiat sebagai antirematik, analgetik, karminatif, detoksifikasi, mukolitik, diuretik, stomakik, antibiotik, antiinflamasi, antitusif, anthelmintik, dan antikonvulsan (Hariana 2013). Dosis empiris sebagai antiinflamasi dengan merebus 50 g daun sembukan dalam 3 gelas air hingga airnya tersisa 1 gelas, lalu disaring dan airnya diminum. Sebagai pemakaian luar, daun sembukan cukup ditumbuk halus dan dioleskan pada bagian tubuh yang sakit (Hariana 2013).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dikatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Depkes 2008).

Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (Depkes 2008). Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iccoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*). Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga (Depkes 1979).

Syarat baku simplisia, kadar air tidak lebih dari 10%, angka lempeng total tidak lebih dari 10, angka kapang khamir tidak lebih dari 10, tidak terdapat mikroba patogen, aflatoksin tidak lebih dari 30 bagian per juta, pada sari jamu diperbolehkan mengandung etanol tidak lebih dari 1% dari v/v (20°C) serta kadar metanol tidak lebih dari 0,1% dari kadar etanol (BPOM 2014).

2. Standarisasi mutu simplisia

Standarisasi mutu simplisia dilakukan terhadap beberapa parameter, kebenaran jenis (identifikasi senyawa tumbuhan) meliputi parameter makroskopis (deskripsi morfologi simplisia), parameter mikroskopis yang mencakup pengamatan terhadap penampang melintang simplisia atau bagian simplisia, dan terhadap fragmen pengenal serbuk simplisia serta reaksi identifikasi, yaitu reaksi warna untuk memastikan identifikasi dan kemurnian simplisia (terhadap irisan atau serbuk simplisia). Kemurnian (bebas kontaminasi kimia maupun biologi) di antaranya harus bebas dari serangga, fragmen atau kotoran hewan, bau dan warnanya tidak boleh menyimpang, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan beracun atau berbahaya. Aturan penstabilan meliputi wadah, penyimpanan, dan transportasi. Pengawetan simplisia nabati boleh diawetkan dengan menggunakan kloroform, karbon tetraklorida, etilenoksida, atau bahan pengawet lain yang

sesuai, mudah menguap dan tidak meninggalkan sisa. Wadah dan bungkus tidak boleh mempengaruhi bahan yang disimpan baik secara kimiawi maupun fisika, harus tertutup baik dan rapat. Penyimpanan simplisia sebaiknya terhindar dari cahaya dan penyerapan air. Secara umum standarisasi mutu simplisia dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, serta penyimpanan (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Ekstrak dan Metode Ekstraksi

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes 2008).

Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak terdiri dari faktor biologi di antaranya adalah identitas (spesies), lokasi tumbuhan asal, periode pemanenan hasil tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, usia tumbuhan dan bagian yang digunakan, untuk simplisia dari tumbuhan hasil budidaya juga dipengaruhi oleh proses *GAP (Good Agricultural Practice)*, untuk simplisia tumbuhan liar (*wild crop*) dipengaruhi oleh proses pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan, serta faktor kimia meliputi jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif, metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat), ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat dan kandungan pestisida (Depkes 2000).

2. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat terlarut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan sebagainya. Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan memudahkan dalam pemilihan pelarut dan cara

ekstraksi yang tepat. Ekstraksi dibuat dari serbuk kering simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia. Jika tidak dinyatakan lain digunakan etanol 70% (Depkes 2008).

Teknik ekstraksi yang ideal adalah teknik ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan, dan hasil yang diperoleh selalu konsisten jika dilakukan berulang-ulang (Endarini 2016).

3. Metode ekstraksi

Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara:

3.1 Maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam dalam cairan penyari bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar atau serbuk simplisia. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel. Umumnya maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia dalam 75% bagian penyari (Depkes 2008) dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini kemudian disaring dan ampas yang diperoleh diperas untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu. Keuntungan proses maserasi di antaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan pengadukan, pengepresan, dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini 2016).

3.2 Perkolasi. Perkolasi merupakan teknik yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dari bagian tanaman dalam penyediaan tingtur dan ekstrak cair dengan alat perkolator yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut dari serbuk simplisia yang telah dibasahi.

3.3 Refluks. Refluks merupakan ekstraksi yang dilakukan pada temperatur didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama 3-5 kali.

3.4 Sokletasi. Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi yang berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3.5 Digesti. Digesti merupakan maserasi kinetik dengan pengadukan kontinyu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan. Secara umum dilakukan pada suhu 45-50°C.

3.6 Infus. Infus dibuat dengan maserasi bagian tanaman dengan air dingin atau air mendidih dalam jangka waktu yang pendek. Infus merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada suhu pemanasan air, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit). Hasil infus tidak bisa digunakan dalam jangka waktu yang lama karena tidak menggunakan bahan pengawet. Namun pada beberapa kasus, hasil infusi (larutan infus) dipekatkan lagi dengan pendidihan untuk mengurangi kadar air dan ditambah sedikit alkohol sebagai pengawet.

3.7 Dekok. Bagian tanaman direbus dalam air mendidih dengan volume dan selama waktu tertentu kemudian didinginkan dan disaring. Proses ini sesuai untuk mengekstrak bahan bioaktif yang dapat larut dalam air dan tahan terhadap panas. Selama proses perebusan terjadi penguapan air secara terus menerus, sehingga volume cairan ekstrak yang diperoleh biasanya hanya seperempat dari volume semula. Ekstrak yang pekat ini selanjutnya disaring dan segera digunakan atau diproses lebih lanjut (Endarini 2016).

3.8 Destilasi uap. Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa minyak atsiri dari bahan segar atau simplisia dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan

parsial. Minyak atsiri akan terikat oleh fase uap air dari ketel secara kontinyu dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah dengan sempurna atau sebagian (Depkes 2000).

4. Pelarut

Pelarut digunakan sebagai cairan penyari, umumnya merupakan suatu cairan yang dapat berupa zat murni ataupun campuran. Zat yang terlarut dapat berupa gas, padat, atau cairan lain. Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga disebut pelarut organik. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar. Salah satu contoh pelarut organik adalah etanol.

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlakukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas, sedangkan kerugiannya adalah etanol mahal harganya (Sa'adah & Nurhasnawati 2015).

D. Inflamasi

1. Pengertian inflamasi

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat

perbaikan jaringan. Jika penyembuhan lengkap, proses peradangan biasanya reda (Mycek *et al.* 2001).

Proses inflamasi merupakan suatu mekanisme perlindungan tubuh untuk menetralkan dan membasmi agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera misalnya antigen, virus, bakteri, atau protozoa dan mempersiapkan keadaan untuk perbaikan jaringan (Fauziyah 2008).

2. Macam-macam inflamasi

2.1 Inflamasi akut. Inflamasi ini ditandai dengan kemerahan dan panas yang terlihat jelas pada jaringan luar. Hal ini akibat pecahnya sel mast sehingga melepaskan mediator inflamasi dan enzim lisosom serta ditandai dengan banyaknya leukosit. Selain dari peristiwa tersebut, terjadi eksudasi cairan plasma ke tempat inflamasi yang terus meningkat sehingga terbentuk cairan eksudat yang ditandai dengan edema (Vogel 2002, diacu dalam Purnamasari 2013; Inayati 2010).

2.2 Inflamasi kronik. Inflamasi ini ditandai dengan banyaknya eksudat jaringan granulomatosis, monosit, dan pengumpulan plasma sel akibat jaringan mengalami fibrosis dan timbul hiperplasia di sekitar jaringan. Tetapi hal ini dapat terjadi tergantung dari kedudukan dan inflamasi kronik. Elemen-elemen jaringan yang diserang akan menghasilkan reaksi imun antara suatu antigen dengan suatu antibodi yang merangsang terjadinya inflamasi. Inflamasi kronik mempunyai waktu kerja yang lama (Vogel 2002, diacu dalam Purnamasari 2013; Inayati 2010).

3. Tanda-tanda inflamasi

Gejala proses terjadinya inflamasi yang sudah dikenal adalah *rubor*, *tumor*, *kalor*, *dolor*, dan *functio laesa*.

3.1. Rubor (kemerahan). Terjadi pada tahap pertama dari inflamasi. Darah berkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, histamin).

3.2. Tumor atau edema (pembengkakan). Merupakan tahap kedua dari inflamasi. Plasma merembes ke dalam jaringan intestinal pada tempat cedera. Kinin mendilatasi arteriol, meningkatkan permeabilitas kapiler.

3.3. Kalor (panas). Panas dapat disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah atau mungkin karena pirogen yaitu substansi yang menimbulkan demam, yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus.

3.4. Dolor (nyeri). Daerah yang mengalami inflamasi cenderung nyeri, terutama ketika disentuh. Nyeri terjadi akibat peregangan saraf karena pembengkakan dan rangsangan ujung-ujung saraf oleh mediator-mediator inflamasi.

3.5. *Functio laesa* (hilangnya fungsi). Hilangnya fungsi yang disebabkan oleh penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan dan karena rasa nyeri (Price & Wilson 2005 diacu dalam Fridiana 2012).

Inflamasi dicetuskan oleh pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak dan migrasi sel. Mediator kimiawi spesifik bervariasi dengan tipe proses peradangan dan meliputi amin seperti histamin dan 5-hidroksitriptamin, lipid seperti prostaglandin, peptida kecil seperti bradikinin dan peptida besar seperti interleukin-1 (Mycek *et al.* 2001).

Inflamasi dibagi dalam tiga fase, yaitu inflamasi akut, subkronik, dan kronik. Inflamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan melalui mediator respon inflamasi akut yang terlibat antara lain histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin, dan leukotrien. Pada tahap sub kronik, respon imun terjadi bila sejumlah sel yang mampu menimbulkan kekebalan diaktifkan untuk merespon organisme asing atau substansi antigenik yang terlepas selama respon terhadap inflamasi akut serta kronis. Inflamasi kronis melibatkan keluarnya sejumlah mediator yang tidak menonjol dalam respon akut (Katzung 2001).

4. Mekanisme terjadinya inflamasi

Terjadinya inflamasi adalah reaksi setempat dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsang atau cedera. Setiap ada cedera, terjadi rangsangan untuk dilepaskannya zat kimia tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan jaringan pada reaksi radang tersebut, di antaranya adalah histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Histamin bertanggung jawab pada perubahan yang paling awal yaitu menyebabkan vasodilatasi pada arteriol yang

didahului dengan vasokonstriksi awal dan peningkatan permeabilitas kapiler. Hal ini menyebabkan perubahan distribusi sel darah merah. Oleh karena aliran darah yang lambat, sel darah merah akan menggumpal, akibatnya sel darah putih terdesak ke pinggir. Makin lambat aliran darah maka sel darah putih yang akan menempel pada dinding pembuluh darah makin lama makin banyak. Perubahan permeabilitas yang terjadi menyebabkan cairan keluar dari pembuluh darah dan berkumpul dalam jaringan. Bradikinin bereaksi lokal menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, dan meningkatkan permeabilitas kapiler. Sebagai penyebab radang, prostaglandin berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator lainnya (Fauziah 2008).

Asam arakidonat adalah substrat untuk enzim-enzim *cyclooxygenase* dan *lypooxygenase*. *Cyclooxygenase* menyintesis endoperoksida siklik (prostaglandin G-2 dan H-2) yang kemudian akan diubah menjadi prostaglandin stabil, tromboksan, atau protasiklin. Ketiga produk ini berasal dari leukosit dan dijumpai pada keadaan radang. Di dalam leukosit, asam arakidonat oleh *lypooxygenase* akan diubah menjadi asam-asam mono dan dihidroksi yang merupakan prekursor dari leukotrien (senyawa yang dijumpai saat anafilaksis). Dengan adanya rangsang mekanis atau kimia, produksi enzim *lypooxygenase* akan dipacu sehingga meningkatkan produksi leukotrien dari asam arakidonat (Katzung 2001). Mekanisme terjadinya inflamasi seperti pada gambar 2.

E. Metode Uji Inflamasi

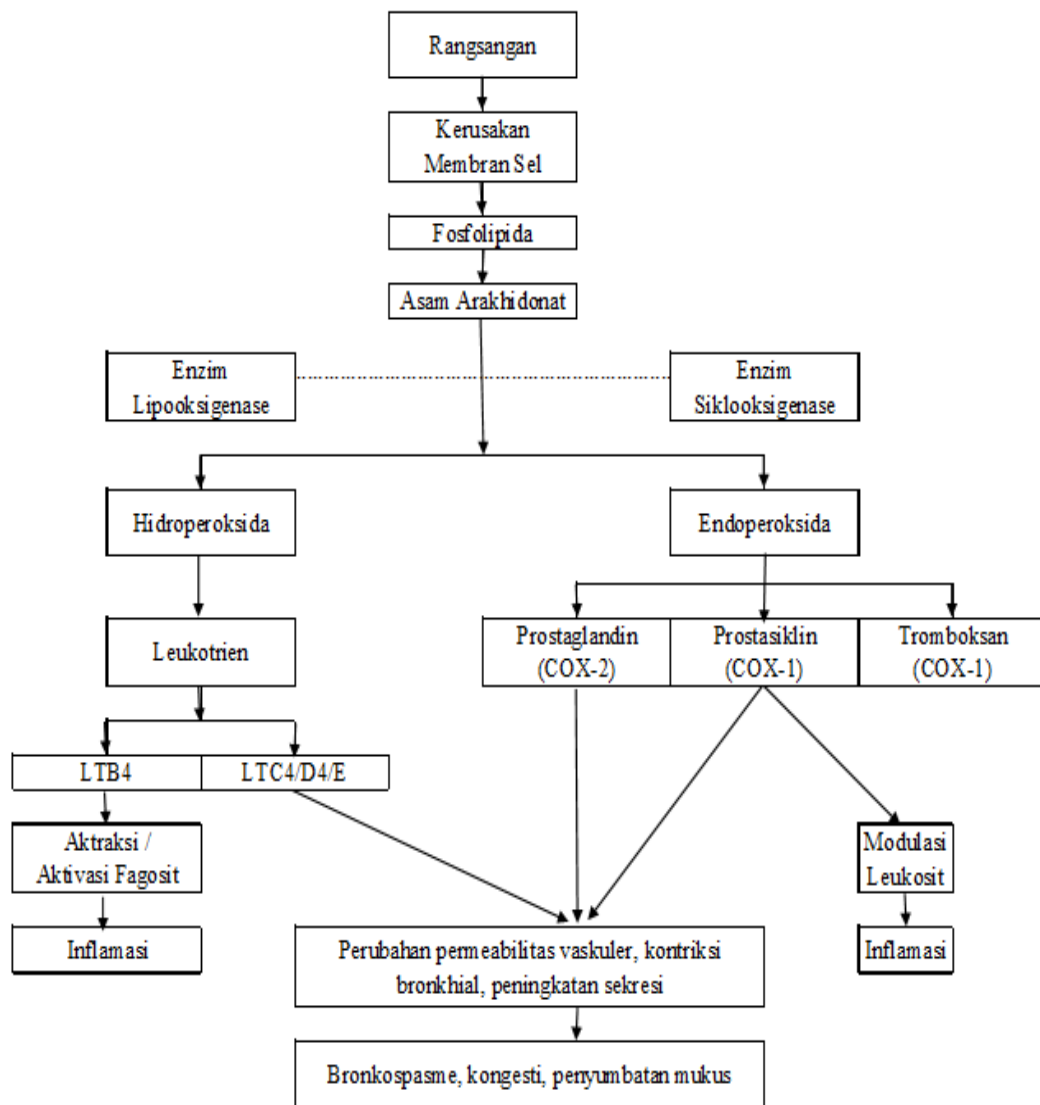
Uji inflamasi dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain:

1. Metode edema pada kaki tikus

Metode ini didasarkan pengukuran volume dari edema buatan. Volume edema diukur sebelum dan sesudah pemberian bahan uji. Contoh iritan yang dipakai adalah formalin, kaolin, ragi, dekstran, dan karagenan. Iritan yang umum digunakan dan memiliki kepekaan yang tinggi adalah karagenan. (Inayati 2010; Sukaina 2013).

2. Metode eritema akibat induksi sinar UV

Metode ini didasarkan pengamatan secara visual terhadap eritema pada kulit hewan yang telah dicukur bulunya. Eritema dibentuk akibat iritasi sinar UV selama 20 detik sehingga terjadi vasodilatasi yang diikuti dengan meningkatnya permeabilitas pembuluh darah dan leukositosis lokal. Dua jam kemudian eritema yang terbentuk diamati (Inayati 2010).



Gambar 2. Mekanisme terjadinya inflamasi (Katzung 2001).

3. Metode iritasi dengan panas

Metode ini berdasarkan luas radang dan berat edema yang terbentuk setelah diiritasi dengan panas. Mula-mula hewan diberi zat pewarna tripan biru

yang disuntikkan secara IV, zat ini akan berikatan dengan albumin plasma. Kemudian pada daerah penyuntikan tersebut dirangsang dengan panas yang cukup tinggi. Panas menyebabkan pembebasan histamin endogen sehingga timbul inflamasi. Zat warna akan keluar dari pembuluh darah yang mengalami dilatasi bersama-sama dengan albumin plasma sehingga jaringan yang meradang kelihatan berwarna. Penilaian derajat inflamasi diketahui dengan mengukur luas radang akibat perembesan zat ke jaringan yang meradang. Pengukuran juga dapat dilakukan dengan menimbang edema yang terbentuk yaitu dengan memotong jaringan yang meradang kemudian ditimbang (Inayati 2010).

4. Metode kantong granuloma

Metode ini berdasarkan volume pengukuran eksudat yang terbentuk di dalam kantong granuloma. Mula-mula benda berbentuk pellet yang terbuat dari kapas ditanam di bawah kulit abdomen hewan uji menembus linia alba. Respon yang terjadi berupa gejala iritasi, migrasi leukosit dan makrofag ke tempat radang yang mengakibatkan kerusakan jaringan sehingga menimbulkan granuloma (Inayati 2010).

5. Metode iritasi pleura

Metode ini berdasarkan pengukuran volume eksudat yang terbentuk karena iritasi dengan induktor radang. Adanya aktivitas obat yang diuji ditandai dengan berkurangnya volume eksudat. Obat diberikan secara oral. Satu jam kemudian disuntik dengan induktor radang seperti formalin. Setelah 24 jam hewan dibunuh dengan eter lalu rongga pleura dibuka dan volume eksudat inflamasi diukur (Inayati 2010).

6. Metode penumpukan kristal synovitis

Pada metode ini telapak kaki hewan uji disuntik dengan suspensi ragi brewer dalam larutan metil selulosa secara subkutan. Akibat penyuntikan ini menyebabkan suhu rektal lebih kurang 2°C atau lebih. Pada waktu 18 jam setelah penyuntikan diberikan obat secara oral dan suhu rektal diukur dalam selang waktu 30 menit (Inayati 2010).

7. Metode induksi asam asetat

Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penghambatan obat terhadap peningkatan permeabilitas vaskular yang diinduksi asam asetat secara intraperitoneal. Kemudian pewarna Evan's Blue 10% disuntikkan secara intravena. Aktivitas penghambatan obat uji pada permeabilitas pembuluh darah ditunjukkan oleh kemampuan obat uji dalam mengurangi konsentrasi pewarna yang melekat pada ruang abdomen dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang visibel, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Sukaina 2013).

8. Metode induksi histamin

Metode ini hampir sama dengan metode induksi karagenan, tetapi penginduksi yang digunakan adalah 0,1 ml larutan histamin 1% (Sukaina 2013).

9. Induksi xylen pada daun telinga

Tikus diinduksi xylen dengan mikropipet pada kedua permukaan daun telinga kanan. Telinga kiri digunakan sebagai kontrol. Ada dua parameter yang diukur dalam metode ini, yaitu ketebalan dan berat dari daun telinga tikus. Ketebalan daun telinga tikus yang telah diinduksi diukur dengan menggunakan jangka sorong digital, kemudian dibandingkan dengan telinga kiri. Jika menggunakan parameter bobot daun telinga, maka daun telinga dipotong dan ditimbang. Kemudian beratnya dibandingkan dengan telinga kiri (Sukaina 2013).

F. Bahan Penginduksi

Bahan yang dapat digunakan sebagai penginduksi antara lain:

1. Complete Freund's Adjuvant (CFA)

Complete Freund's Adjuvant adalah emulsi air dalam minyak yang mengandung *Mycobacterium butyricum* yang digunakan untuk meningkatkan antigen dan menstimulasi respon imun yang lebih baik dibandingkan dengan antigen saja. Injeksi CFA pada hewan uji akan memberikan respon inflamasi yang sangat keras. Untuk itu, pada percobaan antiinflamasi injeksi pada telapak kaki dibenarkan secara ilmiah jika hanya diberikan pada satu kaki saja pada tiap percobaan (Abdulkadir & Polontalo 2011).

2. Karagenan

Karagenan adalah senyawa polisakarida yang berasal dari rumput laut *Chondrus crispus*. Karagenan diperoleh sebagai hasil ekstraksi karaginofit dengan air dan larutan alkali. Proses ekstraksi karagenan dilakukan melalui proses modifikasi dengan alkali, filtrasi, presipitasi, atau koagulasi dengan alkohol, pengeringan, dan terakhir penghancuran menjadi tepung karagenan.

Pada umumnya karagenan dapat berinteraksi dengan makromolekul yang bermuatan, misalnya protein sehingga mampu memberikan jenis pengaruh seperti peningkatan viskositas, pembentukan gel, pengendapan, dan stabilitas (Abdulkadir & Polontalo 2011).

3. Albumin putih telur

Albumin adalah istilah untuk suatu jenis protein yang larut dalam air. Albumin dapat ditemukan dalam putih telur dan darah manusia. Albumin merupakan jenis protein terbanyak di dalam plasma yang mencapai kadar 60%, bermanfaat untuk pembentukan jaringan sel baru. Di dalam ilmu kedokteran, albumin dimanfaatkan untuk mempercepat pemulihan jaringan sel tubuh yang rusak. Albumin juga berperan mengikat obat-obatan serta logam berat yang tidak mudah larut dalam darah (Abdulkadir & Polontalo 2011).

4. Venom ular

Venom merupakan zat yang diperoleh dari spesimen *B asper* dewasa yang berada di bagian Pasifik Costa Rica dan hidup di kolam lebih dari 40 individu. Pada kondisi dingin venom dapat bertahan pada suhu -200°C . Venom memediasi enzim *cyclooxygenase*, produksi *eucosanoid lipooxygenase*, dan mengaktivasi alfa 1 dan 2 reseptor adrenergik (Abdulkadir & Polontalo 2011).

G. Antiinflamasi

Antiinflamasi adalah golongan obat yang memiliki aktivitas menekan atau mengurangi peradangan. Aktivitas ini dapat dicapai melalui berbagai cara, yaitu menghambat pembentukan mediator radang prostaglandin, menghambat migrasi sel-sel leukosit ke daerah radang, dan menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel tempat pembentukannya (Depkes 1993). Mekanisme yang digunakan

untuk menekan peradangan ada tiga, pertama adalah penghambatan enzim *cyclooxygenase*. *Cyclooxygenase* mengatalisis sintesis pembawa pesan kimia poten yang disebut prostaglandin, yang mengatur peradangan, suhu tubuh, analgesia, agregasi trombosit, dan sejumlah proses lain. Mekanisme kedua melibatkan penghambatan fungsi-fungsi imun. Dalam proses peradangan, peran prostaglandin adalah untuk memanggil sistem imun. Infiltrasi jaringan lokal oleh sel imun dan pelepasan mediator kimia oleh sel-sel seperti itu menyebabkan gejala peradangan (panas, kemerahan, nyeri). Mekanisme ketiga adalah mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun. Histamin yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil sebagai respon terhadap antigen, menyebabkan peradangan dan konstiksi bronkus dengan mengikat respon histamin pada sel-sel bronkus (Olson & James 2003 diacu dalam Utami 2016).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat antiinflamasi terbagi ke dalam golongan steroid yang terutama bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel sumbernya dan golongan non steroid yang bekerja melalui mekanisme lain seperti inhibisi *cyclooxygenase* yang berperan pada biosintesis prostaglandin (Depkes 1993).

1. Antiinflamasi non steroid

Pengobatan anti inflamasi mempunyai dua tujuan utama. Pertama meringankan rasa nyeri yang sering kali merupakan gejala awal yang terlihat dan keluhan utama yang terus-menerus dari pasien. Kedua adalah memperlambat atau membatasi kerusakan jaringan (Katzung 2001).

Aktivitas antiinflamasi non steroid melalui penghambatan sintesis prostaglandin sebagai mediator inflamasi, dengan menghambat enzim *cyclooxygenase* (COX), penangkapan radikal oksigen maupun penghambatan glutathion-S-transferase (GST). Enzim *cyclooxygenase* (COX) yang merupakan target aksi obat antiinflamasi non steroid terdapat dalam dua isoform, yaitu COX-1 dan COX-2. Kedua enzim tersebut mengatalisis reaksi dan menghasilkan produk yang sama yaitu prostaglandin, tetapi dengan fungsi biologis yang berbeda. COX-1 diekspresikan pada hampir semua jaringan dan bertanggungjawab menghasilkan prostasiklin (PGI₂) dan tromboksan.

Tromboksan berperan dalam vasokonstriktif dan menstimulasi agregasi keping darah, sedangkan prostasiklin berperan menjaga homeostatis saluran pencernaan (Katzung 2001). Ekspresi COX-2 terinduksi oleh berbagai stimulan inflamasi atau mitogenik dan bertanggungjawab pada biosintesis prostaglandin (PGE₂, PGD₂, dan PGF₂) yang terlibat pada reaksi inflamasi dan rasa nyeri (Tjay & Raharja 2002 diacu dalam Utami 2016). Sebagian besar NSAID yang beredar saat ini masih bersifat non selektif COX, sehingga selain menghambat COX-2 juga menghambat COX-1. Penghambatan COX-1 inilah yang menimbulkan efek samping pada penggunaan NSAID, terutama pada saluran gastrointestinal. Selain terinduksi pada proses inflamasi, *over* ekspresi COX-2 juga ditemukan pada banyak tipe pre-malignan dan malignan neoplasma pada manusia dan organisme lain, seperti pada kanker prostat, payudara, liver, dan kolorektal (Moore & Simmons 2000 diacu dalam Ikawati *et al.* 2006).

Prostaglandin hasil aktivitas COX-2 dinyatakan terlibat dalam karsinogenesis melalui perangsangan proses proliferasi sel, angiogenesis, dan penghambatan apoptosis (Koki & Masferrer 2002 diacu dalam Ikawati *et al.* 2006). Aktivitas COX-2 memainkan peranan penting dalam proses inflamasi maupun kanker. Penggunaan NSAID selektif terhadap COX-2 diharapkan akan memberikan aksi antiinflamasi setara dengan NSAID non selektif tetapi dengan angka kejadian efek samping yang lebih kecil dan mempunyai profil antikanker yang lebih baik. Hal ini memotivasi pencarian agen yang dapat mempengaruhi regulasi COX-2, baik melalui penekanan ekspresi COX-2 dan/atau melalui penghambatan COX-2 (Perera *et al.* 2001 diacu dalam Ikawati *et al.* 2006).

Obat NSAID (*Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*) merupakan suatu grup obat yang secara kimiawi tidak sama, yang berbeda aktivitas analgesik, antipiretik, dan antiinflamasinya. Terutama bekerja dengan menghambat enzim *cyclooxygenase* tetapi tidak enzim *lypoxigenase*. Asetosal adalah prototip dari grup ini.

2. Antiinflamasi steroid (kortikosteroid)

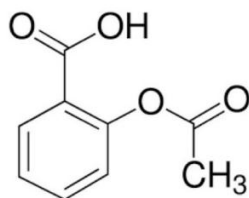
Kortikosteroid adalah hormon yang merupakan senyawa regulator seluruh sistem homeostasis tubuh organisme agar dapat bertahan menghadapi perubahan

lingkungan dan infeksi. Hormon kortikosteroid terdiri dari 2 sub-jenis yaitu hormon jenis glukokortikoid dan mineralokortikoid. Efek terapeutik glukokortikoid yang paling penting adalah kemampuannya untuk mengurangi respon peradangan, efek ini didapat dari proses penurunan dan penghambatan limfosit serta makrofag perifer A_2 secara tidak langsung menghambat pelepasan asam arakidonat, prostaglandin, dan leukotrien (Mycek *et al.* 2001). Setelah pemberian dosis tunggal glukokortikoid bekerja singkat dengan konsentrasi neutrofil meningkat yang menyebabkan pengurangan jumlah sel pada daerah peradangan (Katzung 2001).

Overdosis atau penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan efek fisiologis yang berlebihan sehingga menimbulkan efek samping glukokortikoid maupun mineralokortikoid. Efek samping mineralokortikoid adalah hipertensi, retensi natrium dan air, serta kehilangan kalium. Efek samping glukokortikoid antara lain diabetes dan osteoporosis, yang berbahaya terutama pada lanjut usia dapat terjadi fraktur osteoporotik pada tulang pinggul dan tulang belakang. Selain itu, pemberian dosis tinggi dapat mengakibatkan nekrosis avaskular pada kepala femur (BPOM 2015).

3. Asetosal

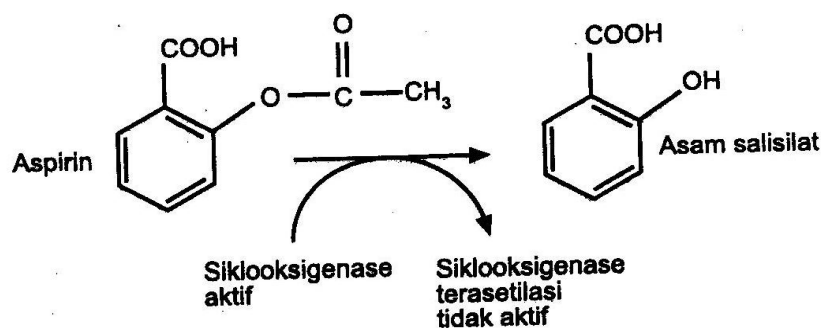
Asetosal/aspirin/asam asetilsalisilat (*Acetylsalicylic acid*) mempunyai tiga efek farmakologi utama yaitu analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi (Mycek *et al.* 2001). Asetosal merupakan satu-satunya NSAID yang bekerja dengan cara inaktivasi ireversibel COX (Stringer 2009).



Gambar 3. Struktur kimia asetosal.

Asetosal dimetabolisme menjadi asam salisilat yang merupakan senyawa aktifnya melalui penghilangan gugus asetat. Jika asetat tersebut diambil oleh

enzim *cyclooxygenase*, enzim tersebut menjadi tidak aktif. Dengan cara ini, asetosal menyebabkan inhibisi ireversibel *cyclooxygenase* (Gambar 4). Oleh karena itu, efek asetosal berlangsung terus sampai tubuh membuat lagi enzim tersebut (Stringer 2009).



Gambar 4. Mekanisme kerja asetosal.

4. Metabolit sekunder sebagai antiinflamasi

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba, atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital (jika tidak ada tidak mati) sebagaimana gula, asam amino, dan asam lemak. Metabolit ini memiliki aktivitas farmakologi dan biologi (Saifudin 2014). Metabolit sekunder dalam tanaman dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam yaitu terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid (Lenny 2006).

Isolat alkaloid dari *Piper nigrum* yaitu piperin memiliki aktivitas sebagai agen antiinflamasi, diduga dapat menghambat enzim *cyclooxygenase* (Setyo 2016). Penelitian yang dilakukan Soemarie (2016), menyimpulkan bahwa senyawa golongan flavonoid yaitu kuersetin dari kulit bawang merah memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis 200 mg/kg BB mencit yaitu sebesar 73,75%.

Tumbuhan mengandung senyawa aktif antiinflamasi yaitu *Kaempferia galanga* (flavonoid), *Bixa orellana* L. (bixin, norbixin), *Elephantopus scaber* (epifrielinol, lupeol, stigmasterol triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol acetat, deoxyelephantopi, isodeoxyelephantopin), *Ipomoea batatas* (flavonoid), *Curcuma longa* (kurkumin), *Premna pubescens* (flavonoid), *Dracaena angustifolia*

(flavonoid, steroid), *Anacardium occidentale* (fenolik), *Phaleria macrocarpa* (fenolik, flavonoid), *Nigella sativa* L. (minyak atsiri, timokinon), *Callicarpa longifolia* L. (tannin, saponin, flavonoid, alkaloid), *Curcuma domestica* (kurkumin), *Hemigraphiscolorata* (alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, monoterpenoid, seskuiterpenoid), *Solenostemonscutellarioides* (flavonoid, steroid), *Lantana camara* (saponin, flavonoid, minyak atsiri) (Khotimah & Muhtadi 2016).

H. Karagenan

Karagenan merupakan suatu mukopolisakarida yang diperoleh dari rumput laut merah Irlandia (*Chondrus crispus*). Karagenan juga merupakan suatu zat asing (antigen) yang bila masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator radang seperti histamin sehingga menimbulkan radang akibat antibodi tubuh bereaksi terhadap antigen tersebut untuk melawan pengaruhnya (Sukmawati *et al.* 2015).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji metode inflamasi akut di antaranya adalah edema buatan. Edema dilakukan pada kaki hewan uji yang disuntikkan suspensi karagenan secara subplantar. Volume edema kaki diukur dengan alat plestismometer. Aktivitas antiinflamasi ditentukan oleh kemampuan bahan uji mengurangi edema pada telapak kaki hewan uji (Depkes 1993).

Karagenan dipilih karena dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 jam sampai 2,5 jam setelah diinduksi dan fase ketiga pada 3 jam setelah diinduksi terjadi pelepasan prostaglandin lalu volume edema maksimal dan bertahan sampai 5 jam setelah diinduksi (Sukmawati *et al.* 2015).

I. Histopatologi

Histopatologi merupakan suatu cabang ilmu histologi yaitu cabang ilmu yang mempelajari organ dan jaringan tubuh makhluk hidup yang berkaitan dengan kerusakan-kerusakan beserta penyakitnya. Histopatologi penting kaitannya

dengan diagnosis penyakit karena merupakan suatu pertimbangan diagnosis melalui gambaran jaringan yang diduga terganggu. Oleh karena itu, dengan proses diagnosis yang benar akan dapat ditentukan jenis penyakitnya sehingga dapat dipilih tindakan preventif dan kuratif.

Pemeriksaan histopatologi dilakukan melalui pemeriksaan terhadap perubahan-perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi. Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan. Pemeriksaan ini hendaknya disertai dengan pengetahuan tentang gambaran histologi normal jaringan sehingga dapat dilakukan perbandingan antara kondisi jaringan normal terhadap jaringan sampel (abnormal). Dengan membandingkan kondisi jaringan tersebut maka dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak (Muntiha 2001).

Teknik histopatologi merupakan suatu cara yang dilakukan untuk melihat perubahan metabolisme dari perubahan jaringan yang terjadi. Aplikasinya diawali dengan pembuatan preparat dengan menipiskan sel jaringan dari organ-organ tubuh. Untuk itu jaringan halus dapat ditanam pada parafin dengan pembekuan, selanjutnya jaringan dipotong. Prasyarat untuk mendapatkan histopatologi dan histokimia yang tepat dapat diperoleh dengan mengamati preparat di bawah mikroskop elektron. Preparat dari histopat mempunyai tanda spesifik yang terlihat dari jaringan sel dan struktur jaringan akibat serangan patogenisitas. Perlengkapan yang digunakan dalam teknik histopatologi adalah alas dari bahan kayu/plastik untuk pemotong jaringan, scalpel untuk memotong jaringan menjadi ukuran lebih kecil, pensil dan kertas untuk memberi tanda/kode jaringan, wadah berukuran kurang lebih 3 x 4 x 1 cm untuk meletakkan jaringan setelah dipotong kecil, tabung gelas berukuran 500-1000 mL sebanyak kurang lebih 10 buah untuk proses dehidrasi, *clearing* dan *blocking* dengan parafin, mikrotom untuk memotong jaringan setebal 4-6 μm , penangas air untuk mengembangkan hasil potongan jaringan yang diletakkan di gelas obyek, mesin pemanas (inkubator) dengan suhu 56-60°C untuk mencairkan parafin selama proses *blocking*, lemari

pendingin untuk menyimpan bahan kimia dan menyimpan hasil *blocking*, gelas obyek dan gelas penutup, mikroskop cahaya (Muntiha 2001).

Teknik histopatologi adalah sebagai berikut:

Fiksasi, merupakan proses pengawetan organ/jaringan agar tidak terjadi perubahan pasca mati (*autolysis post mortem*) sehingga struktur jaringan sampel dapat dipertahankan seperti saat sampel masih hidup. Keterlambatan pengambilan jaringan, terlebih dalam suhu lapangan yang panas, mengakibatkan jaringan cepat menjadi busuk. Pada jaringan yang mengalami perubahan maka diambil jaringan pada perbatasan antara jaringan yang sakit (mengalami perubahan) dengan jaringan yang sehat. Ukuran jaringan yang diambil sekitar 1 cm³. Jaringan tersebut harus segera difiksasi. Potongan jaringan yang terlalu besar mengakibatkan jaringan yang terletak di dalamnya tidak terfiksasi dengan sempurna sehingga dapat membusuk.

Preparasi organ atau jaringan target dari sampel. Setelah jaringan organ yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*, kemudian dimasukkan ke dalam keranjang khusus (basket).

Dehidrasi, adalah cara pengeluaran air dari jaringan dengan menggunakan alkohol bertingkat dimulai dari alkohol 70% sampai 100% (70%, 85%, 95%, dan 100%) yang dilakukan secara otomatis oleh mesin *tissue prosessor* dengan tujuan agar seluruh ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi dengan molekul parafin. Dalam tahapan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dimaksudkan untuk menjaga agar tidak terjadi perubahan tiba-tiba pada sel dan jaringan. Apabila jaringan masih keruh pada proses *clearing* maka proses dehidrasi harus diulang.

Clearing, secara otomatis mesin *tissue prosessor* akan memindahkan jaringan/organ dari alkohol bertingkat ke larutan xilen/xylol pertama (kesatu), kedua, dan ketiga masing-masing selama 30 menit. *Clearing* bertujuan untuk menghilangkan alkohol pada tahap dehidrasi sehingga sampel menjadi transparan dan xilen/xylol mempunyai sifat mampu menggantikan alkohol dan dapat melarutkan parafin yang digunakan pada tahapan berikutnya..

Infiltrasi, secara otomatis *tissue processor* akan memindahkan jaringan dari larutan xylen/xylol ke dalam parafin cair pertama (kesatu) dan kedua, masing-masing selama 2 jam pada suhu 52-58°C. Infiltrasi merupakan cara penyusupan parafin ke dalam jaringan sampel uji yang bertujuan untuk menggantikan xylen/xylol sehingga sampel uji tidak rusak pada saat dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom.

Teknik *embedding* (penanaman jaringan dan pembuatan blok), dilakukan dengan cara mengeluarkan jaringan/organ dari *cassete*, kemudian menempatkannya pada paraffin mold dengan posisi sesuai dengan tujuan pemeriksaan, kemudian dibenamkan dengan paraplast cair dan ditutup permukaannya dengan *cassette*. Penanaman jaringan dilakukan menggunakan pinset yang ujungnya telah dipanaskan pada suhu 56°C. Selanjutnya dibekukan dengan mendinginkannya di atas *cold plate* dengan suhu 0°C. Setelah membeku, keluarkan blok parafin berisi jaringan/organ sampel dari parafin mold dan siap untuk dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom.

Trimming (pemotongan), merupakan proses memotong blok parafin berisi jaringan/organ pada bagian atas keempat sisinya dengan hati-hati sehingga membentuk segi empat di bagian tengah blok.

Sectioning (pemotongan blok parafin), dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μm . Hasil pemotongan parafin berbentuk seperti pita kemudian diregangkan pada permukaan air dalam *floating bath* bersuhu 40-45°C. Selanjutnya dilakukan penempelan irisan pada gelas obyek yang diolesi dengan albumin-gliserin. Gelas obyek dengan irisan jaringan ini disebut sampel sediaan (slide).

Pewarnaan jaringan dan sediaan preparat. Pewarnaan yang digunakan adalah haematoxylen dan eosin. Slide direndam dalam haematoxylen selama 10 menit. Kemudian dipindahkan dan dicelupkan dalam air suling sebanyak 4 kali celupan. Selanjutnya slide dicelupkan dalam *acid* alkohol sebanyak 4 kali celupan, kemudian bilas dengan air bersih yang mengalir selama 10 menit, dan rendam slide dalam eosin selama 2 menit.

Pengamatan hasil untuk diagnosis dengan metode komparasi di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 100-1000x. Agar gambaran terlihat jelas, teteskan minyak imersi di atas sediaan preparat histo yang telah ditutup dengan *cover glass* (Muntiha 2001; BKIPM 2017).

J. Lambung

1. Anatomi dan fisiologi lambung

1.1 Anatomi lambung. Lambung adalah ruang berbentuk kantung mirip huruf J yang terletak di antara esofagus dan usus halus. Lambung dibagi menjadi tiga bagian berdasarkan perbedaan anatomis, histologis, dan fungsional. Lambung terdiri atas korpus/badan, antrum, dan sfingter pilorus (Sherwood 2001).

1.2 Histologi lambung. Lambung adalah organ endokrin-eksokrin campuran yang mencerna makanan dan mensekresi hormon. Lambung adalah bagian saluran cerna yang melebar dengan fungsi utama menambahkan cairan asam pada makanan yang masuk, mengubahnya melalui aktivitas otot menjadi massa kental (khimus) dan melanjutkan proses pencernaan yang telah dimulai dalam rongga mulut dengan menghasilkan enzim proteolitik pepsin. Lambung juga membentuk lipase lambung yang menguraikan trigliserida dengan bantuan lipase lingual (Junqueira *et al.* 2007).

2. Fungsi lambung

Lambung melakukan beberapa fungsi. Fungsi utama adalah menyimpan makanan yang masuk sampai disalurkan ke usus halus dengan kecepatan yang sesuai untuk pencernaan dan penyerapan yang optimal. Fungsi kedua lambung adalah untuk mensekresikan asam hidroklorida (HCl) dan enzim-enzim yang memulai pencernaan protein (Sherwood 2001).

3. Gangguan pada lambung

Sistem pencernaan dapat mengalami gangguan, artinya gangguan dapat mengenai kelenjar pencernaan dan saluran pencernaannya sendiri serta mengenai enzim-enzimnya. Gangguan saluran pencernaan dapat berupa radang atau infeksi, maupun *distress epigastric* yaitu nyeri pada epigastrium yaitu daerah tengah atas perut. Epigastrium adalah salah satu dari sembilan daerah perut, bersama dengan

hipokondria kanan dan kiri, daerah lateral kanan dan kiri (daerah lumbar atau panggul), daerah inguinal kanan dan kiri (atau fossae), dan daerah pusar dan pubis.

Radang pada dinding lambung dapat menyebabkan tukak lambung yaitu luka pada lapisan mukosa dinding lambung (Irianto 2005).

4. Keamanan terhadap lambung

Secara klinik keamanan obat NSAID terhadap lambung dapat diperiksa dengan melakukan gastrokopi (endoskopi gastrointestinal) dan membuat foto *Roentgen* lambung untuk melihat gerakan dan keadaan lambung (Pearce 2008). Untuk mengamati keadaan gastrointestinal dapat digunakan foto *Roentgen* (Camiller & Linden 2016). Endoskopi gastrointestinal atas adalah metode yang akurat dan aman untuk mengevaluasi mukosa esofagus, lambung, dan duodenum (Caglar *et al.* 2014) yang dilakukan untuk berbagai indikasi, terutama untuk tujuan diagnostik salah satunya adalah ulkus peptikum.

K. Hewan Uji

1. Sistematika hewan uji

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar menurut (Sugiyanto 1995) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Subfamilia	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik tikus putih

Hewan uji yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus. Tikus merupakan hewan laboratorium yang banyak digunakan dalam penelitian dan percobaan antara lain untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas,

metabolisme, embriologi, maupun dalam mempelajari tingkah laku (Puspitasari 2008). Tikus putih galur wistar memiliki ciri kepala lebar, telinga panjang, dan mempunyai ekor yang panjangnya tidak melebihi panjang tubuhnya, berbulu putih, mata berwarna merah, moncong tumpul, telinga dan mata kecil. Memakan segala (*omnivora*) namun lebih menyukai daging dan kacang, ahli berenang, bisa memanjat namun tidak ahli (Puspitasari 2008).

3. Biologis tikus

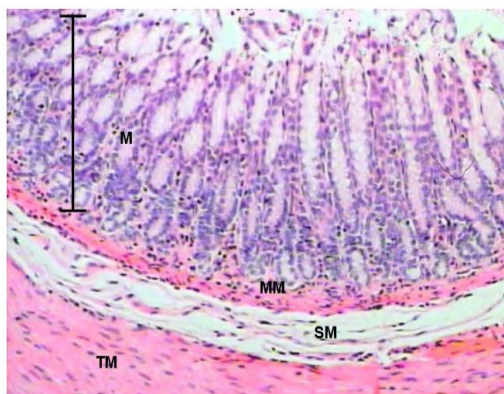
Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 180-210 g. Tikus putih mudah dipelihara dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian (Depkes 2011). Tikus putih memiliki suhu tubuh 37,5°C dan laju respirasi normal 210 tiap menit, serta memiliki kegiatan yang tidak bergantung pada aktivitas manusia di sekelilingnya. Tikus putih adalah hewan yang tenang namun bila diperlakukan dengan kasar dapat menyerang pemegang. Tikus hanya memiliki kelenjar keringat pada bagian telapak kaki. Bagian tikus yang digunakan untuk mengurangi panas adalah ekor. Mekanisme perlindungan tikus dengan mengeluarkan ludah dan menutupi bulunya dengan ludah tersebut (Puspitasari 2008).

4. Anatomi dan fisiologi lambung tikus

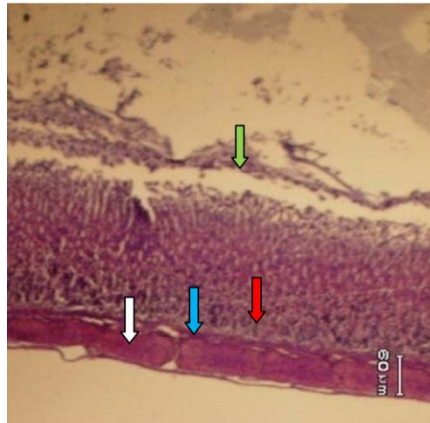
4.1. Anatomi lambung tikus. Tikus memiliki satu lambung (*monogastric*) terletak di sisi kiri rongga abdomen dan berbatasan dengan hati. Lambung dan organ pencernaan lainnya terikat ke rongga tubuh bagian dorsal oleh mesenterium yang kaya pembuluh darah. Mesenterium yang mengikat lambung pada kurvatura mayor disebut omentum. Lambung tikus terbagi menjadi 2 bagian, sisi glandular dan sisi lambung depan non-glandular yang berdinding tipis. Kedua bagian tersebut dibatasi oleh sebuah jembatan (*ridge*) yang sekaligus melapisi pintu masuknya esofagus. Struktur lambung ini mencegah terjadinya muntah pada tikus. Sisi lambung depan non-glandular memiliki lipatan mukosa yang menyerupai mukosa lumen dan dilapisi oleh sel epitel skuamosa bertingkat dan berperan sebagai reservoir. Sisi glandular lambung (korpus) memiliki karakteristik adanya sumur lambung yang dilapisi oleh sel epitel kolumnar selapis. Kelenjar lambung

terdiri dari sel parietal dan *chief cell*/sel zimogen. Bagian pilorus lambung tikus dilapisi oleh epitel kolumnar selapis yang juga melapisi perpanjangan sumur lambung. Di bawah lapisan tersebut terdapat kelenjar pilorus (Puspitasari 2008). Mukosa lambung depan (lambung non kelenjar) berbentuk epitel pipih banyak lapis yang tertutupi oleh lapis keratin. Ketebalan lapisan keratin bervariasi tergantung pada spesies, umur, diet, dan derajat perluasan lambung. Batas antara lambung non kelenjar dan lambung kelenjar dapat terlihat pada peralihan bentuk epitel pipih banyak lapis ke bentuk epitel silindris sebaris (Puspitasari 2008).

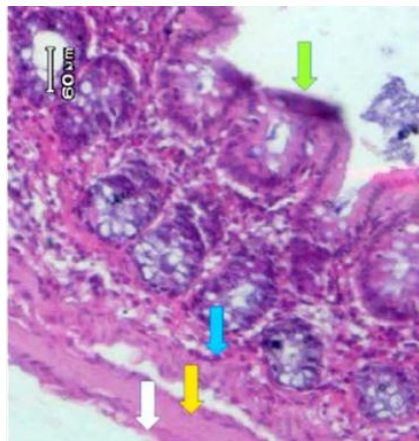
4.2. Histologi lambung tikus. Gambaran histologi lambung beserta lapisan-lapisannya (Puspitasari 2008) seperti pada gambar 5. Gambaran histologi lambung tikus normal menunjukkan lapisan mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa dalam keadaan normal tanpa adanya sel-sel radang dan edema mukosa seperti pada gambar 6 (Nanlohy *et al.* 2013) dan gambar 7 (Bawulele *et al.* 2016). Gambaran histologi lambung tikus yang diberi asetosal memperlihatkan adanya sel-sel radang, edema, dan kapiler yang melebar seperti pada gambar 8 (Nanlohy *et al.* 2013) dan gambar 9 (Bawulele *et al.* 2016).



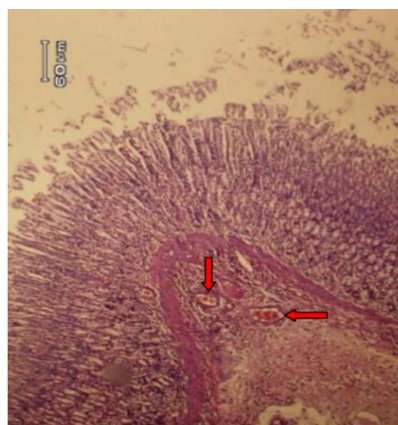
Gambar 5. Histologi lambung tikus bagian pilorus. M= mukosa; MM= muskularis mukosa; SM= submukosa; TM= tunika muskularis (Puspitasari 2008).



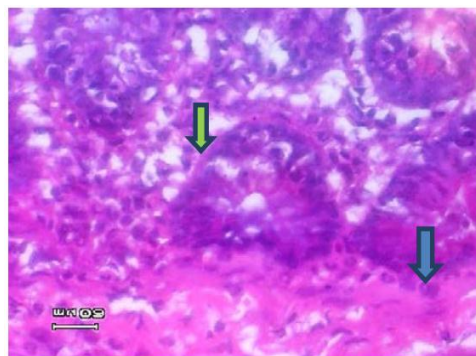
Gambar 6. Gambaran mikroskopik lambung tikus pembesaran 4x10 (panah hijau: lapisan mukosa; panah merah: lapisan submukosa; panah biru: lapisan muskularis; panah putih: lapisan serosa) (Nanlohy *et al.* 2013).



Gambar 7. Gambaran mikroskopik lambung normal tikus (pembesaran 40x10) (panah hijau: lapisan mukosa; panah biru: lapisan submukosa; panah kuning: lapisan muskularis; panah putih: lapisan serosa) (Bawulele *et al.* 2016).



Gambar 8. Gambaran mikroskopik lambung tikus yang diberi asetosal pembesaran 4x10 dan 10x10 (panah merah: kapiler melebar; panah hijau: sel-sel radang) (Nanlohy *et al.* 2013).



Gambar 9. Gambaran mikroskopik lambung tikus yang diberi asetosal (pembesaran 40x10) terdapat infiltrasi sel radang PMN dari mukosa (panah hijau) sampai submukosa (panah biru) (Bawulele *et al.* 2016).

Lambung tikus yang diberi asetosal memberikan gambaran peradangan akut (gastritis akut) berupa adanya sel-sel radang pada lapisan mukosa sampai serosa, edema mukosa, dan pelebaran kapiler. Peradangan tersebut merupakan efek samping dari penggunaan asetosal yaitu iritasi pada lambung yang disebabkan oleh sintesis prostaglandin terganggu. Terganggunya sintesis prostaglandin menyebabkan aliran darah pada daerah mukosa terganggu dan hilangnya lapisan mukus yang melindungi mukosa lambung (Nanlohy *et al.* 2013). Asetosal menghambat sintesis prostaglandin sehingga aliran darah pada daerah mukosa dan submukosa menjadi terganggu sedangkan pada gambaran mikroskopik lambung terdapat sel-sel radang di lapisan mukosa sampai submukosa (Bawulele *et al.* 2016). Asetosal menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan enzim *cyklooxygenase-1*, yang mengakibatkan penghambatan sintesis PGE2. Prostaglandin juga berfungsi mengatur sekresi asam lambung dan sebagai pertahanan (sitoprotektif) terhadap mukosa lambung. Bila sintesis PGE2 terhambat maka aliran darah mukosa terganggu dan hilangnya lapisan mukus yang melindungi mukosa lambung. Selain itu reaksi radang pada mukosa lambung dapat terjadi juga karena iritasi asetosal pada mukosa lambung (Bawulele *et al.* 2016).

5. Cara pemberian bahan uji dan perlakuan

Sebelum memberikan perlakuan, sebaiknya diketahui cara memegang tikus yang benar serta menggunakan alat pelindung diri berupa baju laboratorium, sarung tangan, dan masker.

5.1 Cara memegang tikus. Tikus adalah hewan yang pandai dan responnya baik bila dipegang dengan baik pula. Tikus tidak akan menyerang kecuali merasa terancam atau diprovokasi. Penggunaan sarung tangan selain mengurangi resiko alergi, juga menghindari paparan feromon dan senyawa kimia lain yang dapat menyebabkan tikus gugup. Angkat tikus dengan lembut dengan cara menempatkan tangan di sekitar dada bagian atas, tanpa meremas. Tempatkan ibu jari di bawah rahang tikus jika takut digigit, tetapi tidak memberikan tekanan pada tenggorokan. Tikus akan tetap santai jika perut dipijat lembut. Berbicara dengan tenang dan menghindari suara bernada tinggi. Tahan selalu bagian belakangnya (Stevani 2016).

5.2 Cara pemberian bahan uji. Cara pemberian oral, sediaan uji asetosal maupun ekstrak daun sembukan diberikan dengan menggunakan sonde oral yang ujungnya ditempelkan pada langit-langit mulut atas tikus. Sonde oral kemudian dimasukkan perlahan-lahan sampai ke esofagus dan sediaan uji dimasukkan (Stevani 2016). Cara pemberian sub plantar, bagian plantar (telapak kaki) dimasukkan obat dengan menggunakan alat suntik 1 ml dan jarum ukuran 27G/0,4 mm.

L. Landasan Teori

Inflamasi adalah respon terhadap cedera jaringan dan infeksi. Ketika proses inflamasi berlangsung, terjadi reaksi vaskuler dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih (leukosit), dan mediator kimia berkumpul pada tempat cedera jaringan atau infeksi. Proses inflamasi merupakan suatu mekanisme perlindungan dimana tubuh berusaha untuk menetralkan dan membasmi agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera dan mempersiapkan keadaan untuk perbaikan jaringan.

Inflamasi berasal dari kata *inflamare* yang berarti membakar, merupakan reaksi lokal terhadap edema yang dinyatakan dengan dilatasi mikrosirkulasi dan cairan yang dikandungnya, mikrosirkulasi termasuk arteriola, venula, kapiler, dan pembentukan darah. Dua tahap inflamasi adalah tahap vaskuler yang terjadi 10-15 menit setelah terjadinya cedera dan tahap lambat. Tahap vaskuler berkaitan

dengan vasodilatasi dan bertambahnya permeabilitas kapiler dimana substansi darah dan cairan meninggalkan plasma dan pergi menuju ke tempat cedera. Tahap lambat terjadi ketika leukosit menginfiltrasi jaringan inflamasi. Berbagai mediator kimia dilepaskan selama proses inflamasi. Prostaglandin yang telah berhasil diisolasi dari eksudat pada tempat inflamasi adalah salah satu di antaranya. Prostaglandin mempunyai banyak efek, termasuk di antaranya vasodilatasi, relaksasi otot polos, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan sensitisasi sel-sel syaraf terhadap nyeri (Kee & Hayes 1993 diacu dalam Permatasari 2012).

Salah satu parameter keamanan adalah gambaran histopatologi organ lambung yang memperlihatkan adanya sel-sel radang, edema, dan kapiler yang melebar (Nanlohy *et al.* 2013) sehingga dapat digunakan untuk menggambarkan kondisi organ lambung.

Pengujian antiinflamasi dilakukan dengan metode induksi karagenan pada telapak kaki tikus. Digunakan karagenan karena paling cepat menyebabkan inflamasi serta memiliki bentuk gel yang baik dan tidak keras. Karagenan dalam menyebabkan edema melalui tiga fase yaitu pelepasan histamin dan serotonin, pelepasan bradikinin, dan pelepasan prostaglandin.

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antiinflamasi adalah daun sembukan. Daun sembukan mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, dan steroid (Ekawati *et al.* 2017). Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena mudah dilakukan dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai.

Penelitian *in vivo* mengenai efek antiinflamasi fraksi air daun sembukan yang dilakukan oleh Pratama *et al.* (2015) menitikberatkan pada pengamatan volume edema buatan pada kaki tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), dan mendapatkan dosis efektif 50 mg/kg BB.

Penelitian yang dilakukan oleh Utami *et.al* (2011), digunakan dosis bertingkat dengan tujuan untuk mengetahui dosis ekstrak etanol daun sembukan yang tepat yang dapat menunjukkan efek antiinflamasi yang optimal. Efektivitas ekstrak etanol daun sembukan dalam mengurangi edema dapat dilihat dari rata-rata persentase volume edema. Dari penelitian tersebut diperoleh bahwa ekstrak etanol daun sembukan pada dosis 20 mg/kg BB dan 30 mg/kg BB memiliki potensi yang sangat besar dalam menghambat inflamasi yang ditunjukkan dengan inhibisi radang yang lebih dari 50%, yaitu sebesar 70,54% dan 60,47%, sedangkan penelitian yang dilakukan Fachrunisa (2016) mendapatkan bahwa dosis efektifnya adalah 500 mg/kg BB.

Penelitian terhadap keamanan penggunaan asetosal pada lambung tikus dilakukan oleh Nanlohy *et al.* (2013) dan Bawulele *et al.* (2016) menguji dengan pemberian asetosal pada dosis masing-masing yaitu 21 mg/hari dan 30 mg/hari selama 10 hari dan diketahui menyebabkan gastritis akut pada lambung tikus.

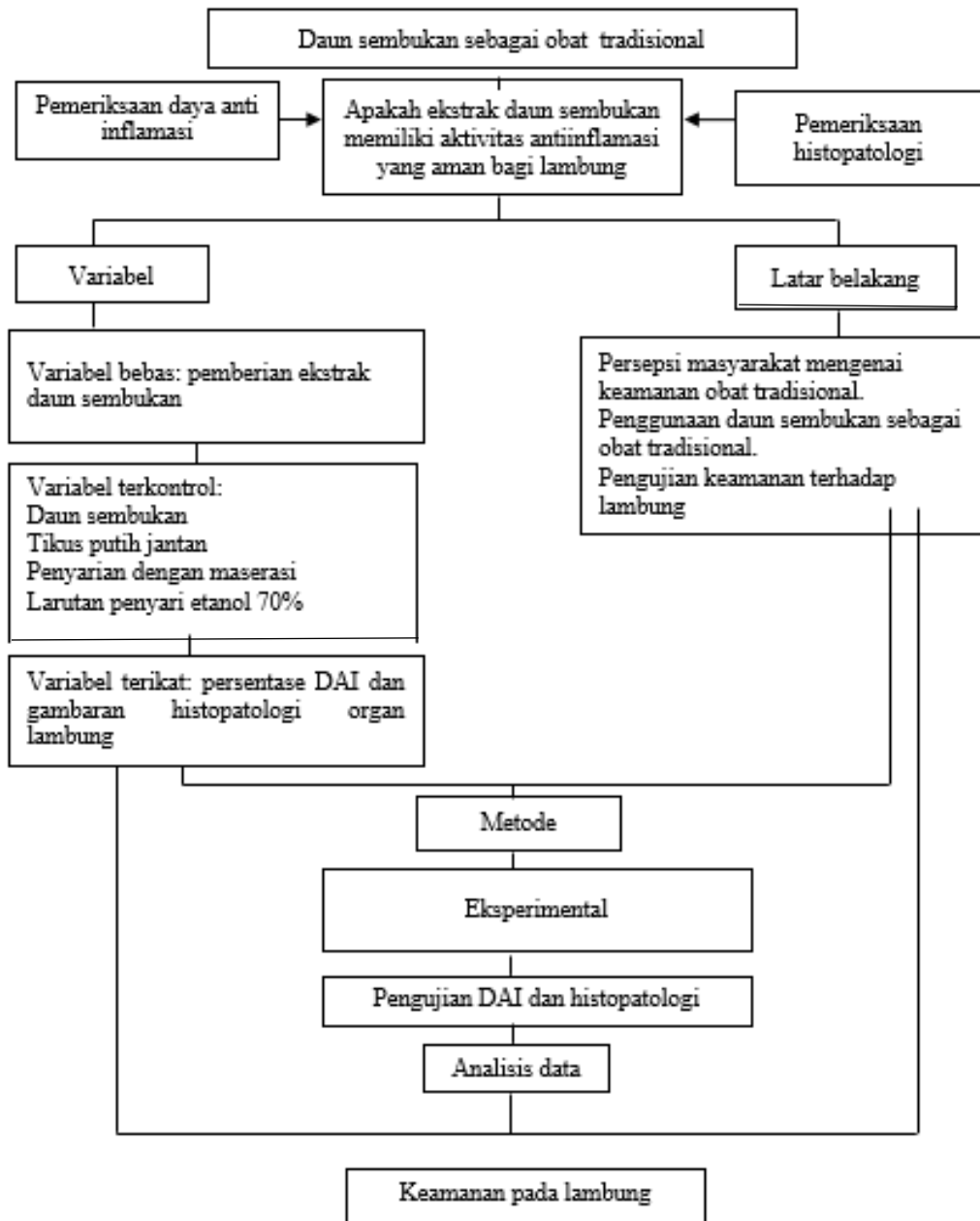
M. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun hipotesis bahwa:

Pertama, ekstrak daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi dilihat dari parameter edema buatan pada telapak kaki hewan uji.

Kedua, berdasarkan gambaran histopatologi organ lambung hewan uji, ekstrak daun sembukan aman digunakan sampai dengan 20 hari terhadap *distress epigastric* dibandingkan dengan asetosal.

N. Kerangka Pikir



Gambar 10. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan keseluruhan obyek penelitian (Sabar 2007). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sembukan (*Paederia scandens*) yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel merupakan sebagian dari subyek dalam populasi (Sabar 2007) atau jumlah/karakteristik yang dimiliki oleh populasi (Sugiyono 2011). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sembukan (*Paederia scandens*) segar yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel merupakan atribut, sifat, atau nilai dari suatu obyek yang mempunyai variasi tertentu dan ditetapkan oleh seorang peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik suatu kesimpulan (Sugiyono 2011).

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sembukan, efek antiinflamasi ekstrak etanol daun sembukan pada tikus putih jantan, kondisi peneliti, kondisi fisik hewan uji, kondisi laboratorium dan metode uji, serta keamanan terhadap lambung.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung dan dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, terikat, dan kontrol (Sugiyono 2011).

Variabel bebas merupakan variabel *independent* yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun sembukan dan lamanya waktu pemberian ekstrak etanol daun sembukan yang diinduksi pada tikus putih jantan.

Variabel terikat adalah variabel *dependent* yang dipengaruhi keberadaannya oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sembukan terhadap volume edema telapak kaki tikus putih jantan dan keamanannya terhadap lambung.

Variabel kontrol adalah variabel yang membuat konstan hubungan variabel bebas dan variabel terikat, sehingga variabel bebas tidak langsung mempengaruhi variabel terikat. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah kondisi peneliti, kondisi hewan uji, perlakuan oleh peneliti, metode kerja, jaringan yang diamati.

3. Definisi operasional variabel utama

Daun sembukan adalah daun yang dipetik dari tanaman sembukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Jawa Tengah dalam keadaan masih segar dan berwarna hijau tua.

Serbuk daun sembukan adalah daun sembukan segar yang dicuci, dikeringkan dengan oven, dihaluskan dengan *toothed disc mill*, dan diayak dengan ayakan nomor 60.

Ekstrak etanol daun sembukan adalah ekstrak yang dibuat dari serbuk kering yang diekstraksi dengan metode maserasi berdasarkan Depkes RI (2008) menggunakan pelarut etanol 70%.

Hewan uji adalah adalah tikus putih jantan, dengan berat badan 180-210 gram, usia 6-8 minggu.

Aktivitas antiinflamasi adalah persentase penurunan volume edema telapak kaki tikus putih jantan yang dihasilkan akibat induksi karagenan berdasarkan nilai AUC volume edema dan daya antiinflamasinya.

Keamanan terhadap lambung adalah kemampuan sediaan uji memberikan keamanan pada lambung yang ditunjukkan dengan tidak adanya tanda-tanda tukak pada lambung yang dilihat pada gambaran makroskopis dan gambaran histopatologi lambung tikus putih jantan akibat pemberian sediaan uji selama 10 hari, 15 hari, dan 20 hari.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan simplisia kering, serbuk bahan ekstrak, dan ekstrak adalah pisau, oven, loyang, wadah penampung, *toothed disc mill*, ayakan nomor 60, neraca analitik, gelas beker, batang pengaduk, gelas ukur, pipet tetes, aluminium foil, kertas saring, corong gelas, penguap putar vakum (*rotary vacuum vaporator*).

Alat yang digunakan pada proses perlakuan terhadap hewan uji adalah timbangan tikus, sonde oral, pletismometer, scalpel, spuit *disposable*, mikropipet, pipet tetes, kandang tikus, sonifikator, sentrifugor, mini spin, alat pelindung diri meliputi masker dan sarung tangan.

Alat yang digunakan selama proses pembedahan, pengambilan organ lambung, dan pengamatan histopatologi adalah seperangkat alat bedah, mikroskop, mikrotom, jarum suntik pipa kapiler, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kapas, pisau bedah, kantong kasa, botol fiksasi, botol dehidrasi, alat dehidrasi otomatis, kaca obyek, inkubator, alat pewarna jaringan, *cover glass*, blok kayu, dan alat potong beku.

2. Bahan

2.1. Bahan antiinflamasi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun semburan (*Paederia scandens*), air suling, asetosal, karagenan, CMC Na dan larutan NaCl 0,9%.

2.2. Bahan pereaksi. Bahan yang digunakan sebagai pereaksi dan identifikasi senyawa meliputi HCl 2N, pereaksi Lieberman Burchard, serbuk magnesium, HCl pekat, pereaksi Dragendorff, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, anisaldehyd asam sulfat, toluen, benzen. Pewarna hematoxylin dan pewarna eosin digunakan untuk pewarnaan preparat organ yang akan diamati, larutan formalin sebagai larutan pengawet organ setelah proses pembedahan, dan parafin cair. Subyek penelitian ini adalah 27 ekor tikus jantan galur wistar dengan berat badan 180-210 gram, usia 6-8 minggu, yang dibagi menjadi 9 kelompok, masing-masing berjumlah 3 ekor.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dari daun sembukan (*Paederia scandens*) yang akan digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian.

2. Pembuatan simplisia

Beberapa tahapan yang harus dipenuhi sebelum pembuatan simplisia adalah pencarian bahan baku serta menentukan kualitas bahan baku. Bahan baku disortasi ketika masih dalam keadaan segar. Kemudian dicuci untuk menghilangkan pengotor yang ada pada permukaan daun. Daun sembukan ditiriskan kemudian ditimbang dan dilakukan penetapan kadar zat pada sejumlah bahan yang ditimbang (BPOM 2010). Proses selanjutnya adalah proses perajangan, proses ini bertujuan untuk memperkecil ukuran daun sembukan agar pada saat proses pengeringan bahan dapat dikeringkan dengan cepat dan sempurna. Proses pengeringan dilakukan pada suhu 60°C menggunakan oven. Selanjutnya dilakukan pembuatan serbuk dengan cara menghaluskan dengan *toothed disc mill* dan diayak dengan pengayak nomor 60 untuk memperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang seragam (Depkes 2008).

3. Penetapan kadar air serbuk

Disiapkan alat destilasi *Sterling-Bidwell* dan toluen jenuh air. Ditimbang 15 g serbuk, dimasukkan ke dalam labu kering. Dimasukkan \pm 100 mL toluen jenuh air ke dalam labu, pasang rangkaian alat. Dipanaskan labu dengan hati-hati selama 15 menit. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b (Kemenkes 2011).

4. Pembuatan ekstrak etanol daun sembukan

Serbuk kering simplisia sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam bejana, ditambah 5 L pelarut etanol 70%. Direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan penyaringan. Ulangi proses penyarian dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat dan uapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak

kental. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang diperoleh dengan bobot serbuk simplisia yang ditimbang (Depkes 2008).

5. Penetapan kadar air ekstrak

Penetapan kadar air dilakukan dengan destilasi *Sterling Bidwell*. Ekstrak ditimbang seberat 5 g dan dimasukkan ke dalam labu, kemudian ditambahkan \pm 200 mL toluen jenuh air. Alat dihubungkan dan dilakukan destilasi sampai adanya pemisahan antara air dan toluen. Volume air dibaca dan dihitung kadar airnya terhadap bobot awal ekstrak (Sukaina 2013).

6. Identifikasi senyawa

6.1 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak benzen. Hasil positif mengandung minyak atsiri ditunjukkan dengan terbentuknya bercak warna ungu (Gunawan & Mulyani 2004).

6.2 Identifikasi senyawa alkaloid. Ekstrak ditambahkan 2 mL HCl, kemudian dimasukkan 1 mL larutan Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna kuning coklat (Kokate 2001).

6.3 Identifikasi senyawa flavonoid. Ekstrak ditambah beberapa tetes HCl pekat dan sedikit serbuk magnesium. Bila terjadi perubahan warna merah, merah muda, atau kuning menunjukkan sampel mengandung flavonoid (Depkes 1989).

6.4 Identifikasi senyawa steroid (Uji Lieberman Buchard). Ekstrak etanol daun sembung ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard (asam asetat anhidrida + H₂SO₄ pekat). Uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru, warna merah jingga atau ungu menandakan uji positif terhadap triterpenoid (Evans 2009 diacu dalam Simaremare 2014).

6.5 Identifikasi senyawa saponin. Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat selama 15 menit. Reaksi positif jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Buih tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N (Depkes 1979).

7. Penentuan Dosis

7.1 Dosis asetosal. Dosis asetosal untuk manusia dewasa sebagai antiinflamasi adalah 2,6-5,2 g per hari dalam empat kali dosis terbagi (Sukandar *et al.* 2013). Dosis yang diperlukan untuk inflamasi sendi adalah setidaknya 3,6 g sehari (BPOM 2014).

7.2 Dosis ekstrak daun sembukan. Dosis ekstrak daun sembukan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu dosis efektif 250 mg/kg BB (Pratama *et al.* 2015).

8. Pembuatan larutan uji/suspensi

8.1 Pembuatan suspensi CMC Na 0,5%. CMC Na seberat 0,5 g dimasukkan ke dalam gelas beker 300 ml lalu ditambah 50 ml air panas dan diaduk hingga homogen, ditandai dengan tidak tampaknya lagi serbuk berwarna putih dan campuran berupa seperti gel. Ditambahkan air panas sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume larutan tersebut menjadi 100 ml lalu didinginkan (Stevani 2016). Volume oral tiap tikus adalah 1 mL.

8.2 Pembuatan suspensi asetosal 2%. Serbuk asetosal seberat 2 g digerus dengan penambahan sedikit suspensi CMC Na 1% sampai homogen, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan CMC Na 1% sampai garis tanda batas. Volume oral untuk 200 g BB tikus adalah 0,9 mL.

8.3 Pembuatan suspensi ekstrak daun sembukan 4%. Ekstrak daun sembukan seberat 4 g ditambah sedikit suspensi CMC Na 0,5% dan diaduk sampai homogen, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan CMC Na 0,5% sampai garis tanda batas. Volume oral untuk 200 g BB tikus pada dosis 250 mg/kg BB adalah 1,25 mL.

8.4 Pembuatan suspensi karagenan 0,5%. Karagenan ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 10 mL NaCl 0,9%. Kemudian diaduk di atas waterbath dengan suhu 37°C sampai larut. Volume injeksi karagenan 1% sebanyak 0,1 mL secara subplantar.

9. Persiapan hewan uji

Pertama hewan uji diaklimasi (adaptasi) dalam laboratorium selama satu minggu sebelum dilakukan perlakuan, kedua pemberian makan dan minum hewan

uji selama proses adaptasi, ketiga hewan uji ditimbang berat badannya setelah proses adaptasi, keempat melakukan pengelompokan terhadap hewan uji sesuai dengan perlakuan/uji yang akan dilakukan.

10. Persiapan perlakuan

Dua puluh tujuh ekor tikus wistar jantan (180 g-210 g) dipuaskan \pm 24 jam sebelum pengujian namun air minum tetap diberikan. Tikus-tikus tersebut dikelompokkan secara acak menjadi 9 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 3 ekor. Berat badan tikus ditimbang dan diberi kode tertentu. Sebelum diberi perlakuan, tikus dibiarkan selama 1 jam di ruangan laboratorium untuk beradaptasi dengan lingkungan.

Uji efek antiinflamasi dilakukan dengan cara kaki tikus diberi tanda sebatas mata kaki untuk menyamakan persepsi pembacaan pada setiap jamnya. Sebelum tikus diinduksi dengan karagenan, volume kaki tikus diukur menggunakan alat pletismometer sebagai volume awal (T₀). Kelompok I, II, dan III merupakan kelompok kontrol karagenan atau kelompok inflamasi yang hanya diberi suspensi CMC Na 0,5%. Kelompok IV, V, dan VI merupakan kontrol positif atau pembanding, tikus diberi obat antiinflamasi yaitu suspensi asetosal dengan dosis 90 mg/kg dalam CMC Na 0,5%. Kelompok VII, VIII, dan IX merupakan kelompok perlakuan, tikus diberikan suspensi ekstrak daun semburan dengan dosis 250 mg/kg BB. Semua perlakuan diberikan melalui oral. Tikus pada kelompok I, IV, dan VII diberikan suntikan suspensi karagenan 1% sebanyak 0,1 mL pada telapak kaki tikus secara sub plantar. Kelompok I, II, dan III dilanjutkan pemberian suspensi CMC Na 0,5% selama masing-masing 10, 15, dan 20 hari. Kelompok IV, V, dan VI dilanjutkan pemberian suspensi asetosal dosis 90 mg/kg BB selama masing-masing 10, 15, dan 20 hari sebagai kontrol positif pada pengujian histopatologi. Kemudian kelompok VII, VIII, dan IX dilanjutkan pemberian suspensi ekstrak daun semburan dengan dosis 250 mg/kg BB selama masing-masing 10, 15, dan 20 hari.

Tempat untuk melakukan perlakuan. Bersih, dekat dengan air yang memadai / mengalir, dan dekat dengan tempat untuk mengubur.

Peralatan untuk keperluan pemeriksaan jaringan. 10 persen larutan buffer formalin netral, black marker, kertas label.

11. Cara euthanasia / membunuh hewan

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam euthanasia adalah hewan tidak boleh merasa sakit, dihindari terjadinya perdarahan dan pengeluaran kotoran, dihindari terjadinya luka pada tubuhnya, hewan tidak boleh berteriak dan meronta-ronta.

Hewan uji dibunuh dengan cara kapas yang dibasahi eter, dimasukkan ke dalam suatu tempat yang sesuai besar hewan uji (toples), kemudian tikus dimasukkan dalam tempat tersebut, ditunggu sampai mati. Setelah tikus mati, segera dilakukan pembedahan untuk mengambil organ lambung dan dilakukan uji histopatologi.

12. Pengamatan

Edema yang timbul diukur dengan pletismometer air raksa yang dihubungkan dengan pipet ukur 2 mL berskala 0,02 mL. Pengukuran dilakukan selama 6 jam dengan selang waktu 1 jam yaitu pada jam ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, dan ke-5, kemudian ke-24. Selanjutnya data volume edema diubah menjadi persentase volume edema (% VE).

13. Pemeriksaan histopatologi organ lambung

Uji histopatologi dilakukan untuk melihat adanya kelainan pada organ lambung yang ditimbulkan akibat pemberian sediaan uji. Pada penelitian ini akan digunakan variasi waktu pemberian sediaan uji yaitu selama 10, 15, dan 20 hari. Prosedur pengujian histopatologi meliputi beberapa tahap, diawali dengan fiksasi yaitu proses perendaman dalam larutan formalin 10%, proses ini dilakukan dalam suhu kamar sambil sekali-sekali dilakukan penggojokkan. Organ dibiarkan selama satu minggu. Selanjutnya dilakukan pemotongan kasar pada organ, hasil potongan kasar organ dimasukan ke dalam kantong kasa kecil. Masing-masing kantong diberi nomor kode hewan.

Tahap selanjutnya dilakukan fiksasi kedua minimal selama 3 hari pada larutan formalin 10%. Setelah fiksasi kedua untuk menghilangkan formalin dilakukan pencucian terhadap preparat dengan air secara terus menerus paling

sedikit selama 6 jam. Proses selanjutnya adalah dehidrasi, proses ini dilakukan dengan menggunakan alat dehidrasi otomatis. Kemudian dilakukan pembersihan atau penjernihan organ lambung melalui perendaman dengan menggunakan parafin pada suhu 56-58°C di inkubator.

Tahapan selanjutnya adalah pencetakan, tahap ini dilakukan dengan bantuan potongan logam berbentuk L atau perahu kertas. Dua potongan logam L diletakan di atas kaca sehingga membentuk rongga empat persegi panjang, di dalamnya diletakan potongan jaringan kemudian diisi dengan parafin cair lalu dibiarkan membeku. Blok parafin lalu diletakan pada blok kayu kemudian dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Tahap akhir dari proses pembuatan preparat ini adalah pemulasan yang bertujuan untuk memulas unsur-unsur sel atau bangunan intersel agar lebih mudah dikenali (BPOM 2014).

E. Analisis Data

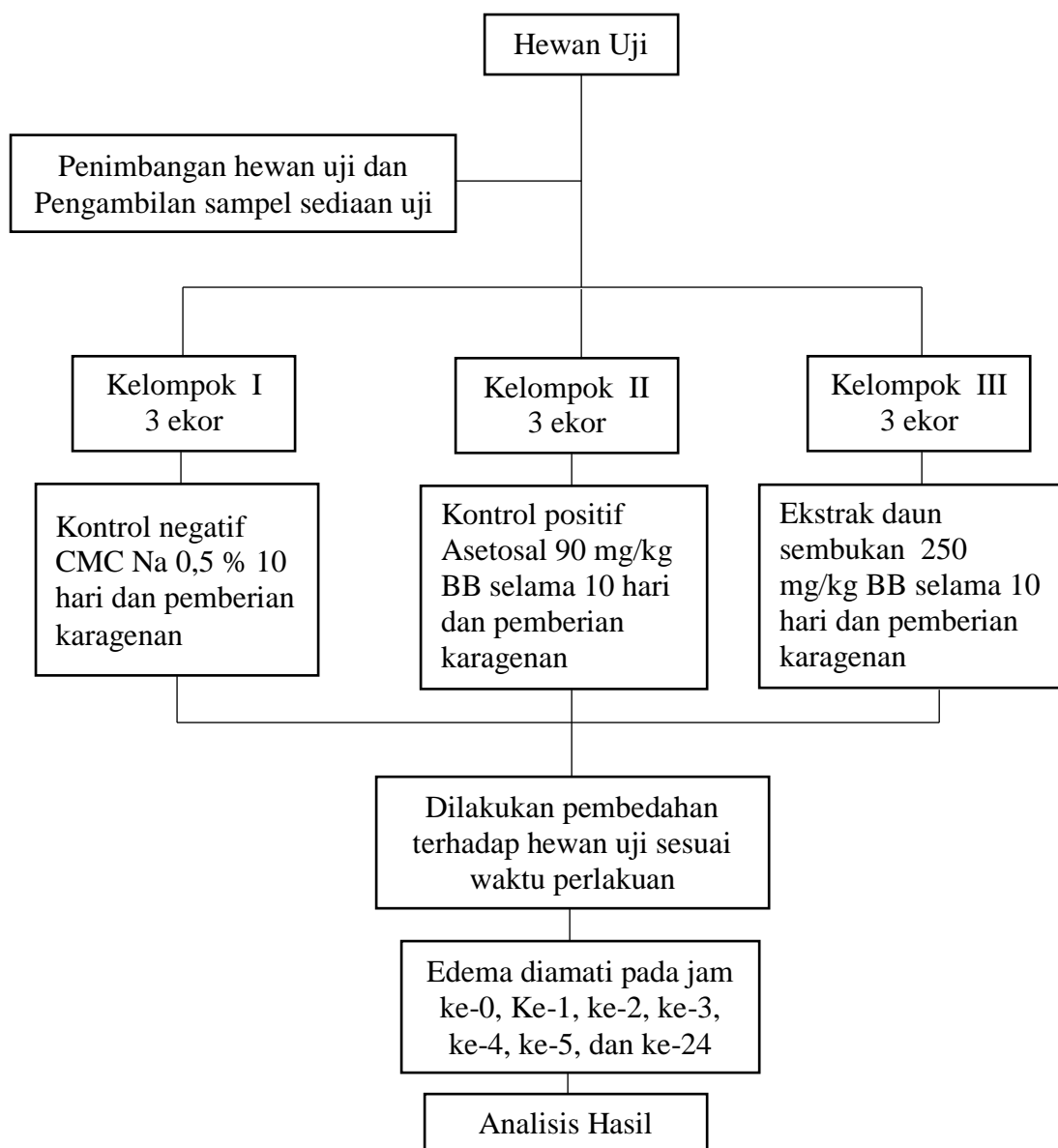
Analisis hasil pada penelitian ini berdasarkan data hasil pengamatan terhadap efek antiinflamasi pada edema kaki hewan uji dan persentase kerusakan pada organ lambung yaitu adanya sel-sel radang, edema, kapiler yang melebar, dan kerusakan lambung lainnya. Data selisih tebal edema kaki hewan uji dan gambaran kerusakan pada organ lambung digunakan untuk menghitung nilai AUC (*Area Under Curve*). Hasil perhitungan rata-rata nilai AUC digunakan untuk menghitung persentase daya antiinflamasi dan persentase kerusakan lambung yang dianalisis secara statistik. Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal *Shapiro-Wilk* karena metode *Shapiro-Wilk* adalah metode uji normalitas yang efektif dan valid digunakan untuk sampel berjumlah kecil (jumlah data < 50). Data terdistribusi normal jika nilai $p > 0,05$ dan data tidak terdistribusi normal jika nilai $p < 0,05$.

Analisa hasil data dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan yang bermakna di antara kelompok perlakuan. Apabila hasil uji One Way ANOVA menunjukkan ($p > 0,05$) memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan, sedangkan jika

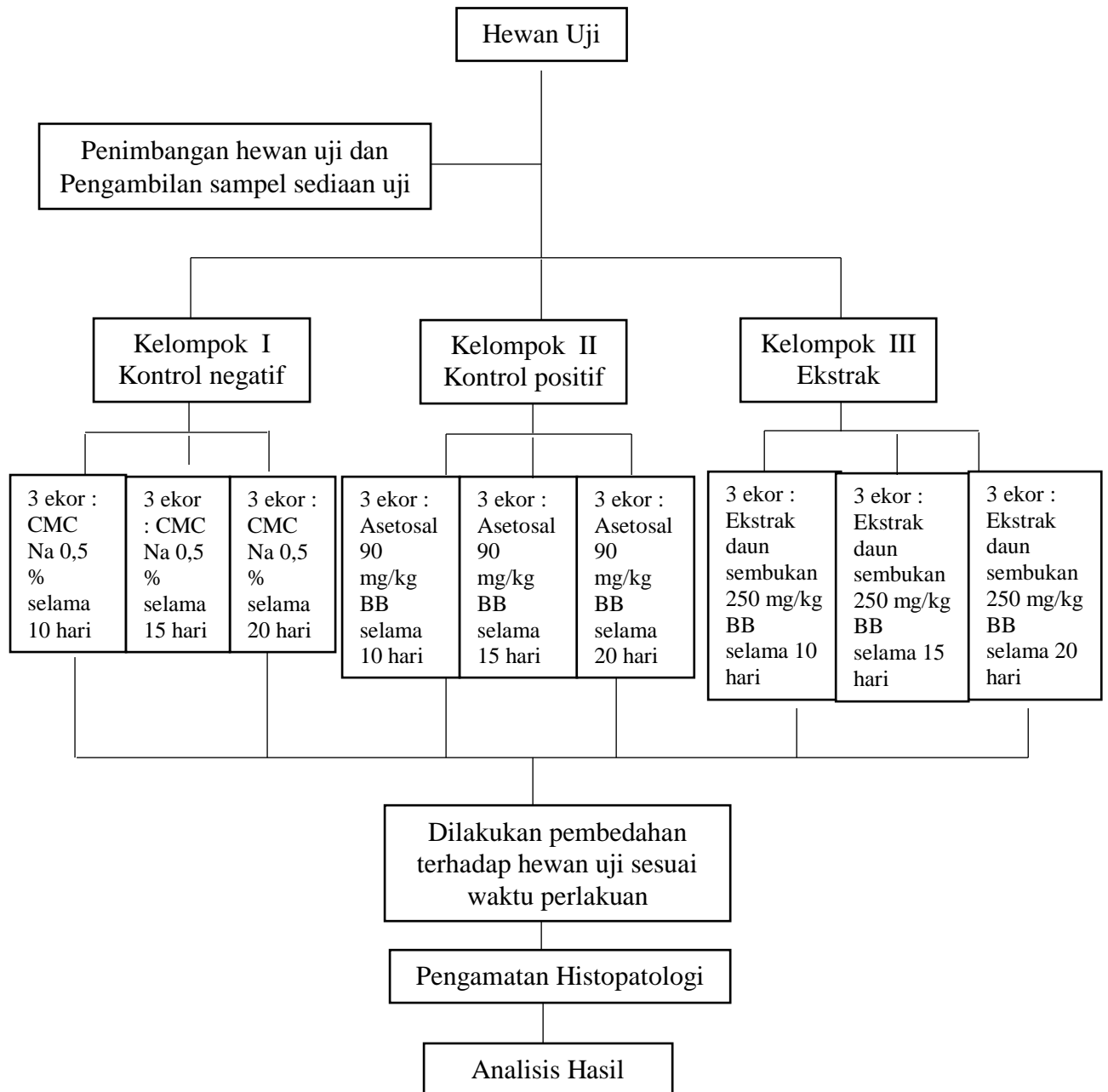
hasil uji one Way ANOVA menunjukkan ($p < 0,05$) memiliki arti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Apabila terdapat perbedaan yang bermakna, selanjutnya dilakukan uji Post Hoc untuk mengetahui kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan tersebut.

Skema Penelitian



Gambar 11. Skema penelitian uji antiinflamasi



Gambar 12. Skema penelitian uji histopatologi terhadap *distress epigastric*

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Sembukan (*Paederia scandens* (Lour.) Merr)

1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian berdasarkan ciri morfologi. Hasil determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1965) adalah 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416a-417a-418a-419a_____162.

Rubiaceae 1a-2b-4c-10b-13b-14b-15b-16b-17b-18b-19b-20b-21a-22a-23b-24b-25b____59. *Paederia*

1a_____ *Paederia foetida* L.

Berdasarkan hasil determinasi tersebut dapat dinyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah benar tanaman sembukun (*Paederia scandens* (Lour.) Merr.) sinonim *Paederia foetida* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1 halaman 82.

2. Pengambilan tanaman dan pengeringan daun sembukun

Daun sembukun yang digunakan berasal dari Wonogiri, Jawa Tengah dalam keadaan segar yang dipanen pada bulan Juli 2018.

Daun sembukun segar seberat 5,5 kg yang telah dicuci dan ditiriskan kemudian dikeringkan dengan oven yang bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah terjadinya perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu, dan untuk menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri. Persentase berat daun kering terhadap daun basah adalah 25,45 %b/b. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18 halaman 94.

Tabel 1. Rendemen daun kering terhadap daun basah

Bobot daun basah (g)	Bobot simplisia kering (g)	Rendemen (% b/b)
5500	1400	25,45

3. Hasil pembuatan serbuk daun sembukan

Hasil pengeringan daun sembukan diperoleh sebanyak 1,4 kg kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan mesh 60 dan diperoleh serbuk seberat 1,2 kg. Persentase berat serbuk terhadap daun kering adalah 85,71 %b/b. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18 halaman 94.

Tabel 2. Rendemen serbuk terhadap daun kering

Bobot simplisia kering (g)	Bobot serbuk simplisia (g)	Rendemen (% b/b)
1400	1200	85,71

Bobot simplisia kering yaitu 1400 gram setelah melalui proses penggilingan dan pengayakan menghasilkan serbuk seberat 1200 gram atau mengalami penurunan bobot sebesar 14,29%. Hal ini karena pada saat proses pembuatan serbuk terdapat serbuk yang menempel pada alat *toothed disc mill* maupun pada ayakan, serta bagian daun yang kasar seperti tulang daun yang tidak ikut terayak.

4. Hasil penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air serbuk dilakukan dengan alat destilasi *Sterling-Bidwell*. Persentase kadar air yang diperoleh adalah 8,99 %v/b. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18 halaman 95.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk

Replikasi	Bobot serbuk (g)	Volume air (mL)	Kadar air (% v/b)
1	30,005	2,7	9,00
2	15,035	1,5	9,98
3	15,020	1,2	7,99
Rata-rata \pm SD			8,99 \pm 0,99

Kadar air serbuk daun sembukan memenuhi syarat yaitu kadar air tidak melebihi 10%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan perubahan kimia zat aktif dan kerja enzim serta lebih mudah ditumbuhi jamur yang berakibat pada penurunan mutu serbuk (Gunawan & Mulyani 2004).

B. Ekstraksi

1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sembukan

Pembuatan ekstrak etanol daun sembukan menggunakan metode maserasi. Serbuk kering simplisia sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam bejana, ditambah 5L pelarut etanol 70%. Direndam selama 5 hari sambil sekali-sekali diaduk. Maserat dipisahkan dengan penyaringan. Proses penyarian diulangi sebanyak satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat diuapkan dengan *vaccum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental kemudian dipekatkan di dalam oven. Hasil ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 107,0 gram dan persentase rendemen sebesar 21,40%. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18 halaman 95.

Tabel 4. Rendemen ekstrak terhadap serbuk kering

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
500	107,0	21,40

2. Hasil penetapan kadar air ekstrak

Ditimbang sejumlah ekstrak, dimasukkan ke dalam labu kering. Dimasukkan \pm 100 mL toluen jenuh air ke dalam labu, pasang rangkaian alat destilasi *Sterling-Bidwell*. Labu dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. Persentase kadar air yang diperoleh adalah 9,89% v/b. Hasil dapat dilihat pada lampiran 18 halaman 95.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak

Replikasi	Bobot ekstrak (g)	Volume air (mL)	Kadar air (% v/b)
1	5,151	0,5	9,71
2	10,030	1,1	10,97
3	10,007	0,9	8,99
Rata-rata \pm SD			9,89 \pm 1,00

Kadar air ekstrak daun sembukan memenuhi syarat yaitu kadar air tidak melebihi 10%.

3. Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun sembukan

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun sembukan. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel 6. Foto hasil dapat dilihat pada lampiran 4 halaman 84.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia

Kandungan kimia	Hasil Pengujian
Minyak atsiri	+
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Steroid	+
Saponin	+

Keterangan:

+ = mengandung senyawa

- = tidak mengandung senyawa

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia ekstrak tersebut, daun sembukan positif mengandung minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin. Penelitian yang dilakukan oleh Ekawati *et al.* (2017) menunjukkan bahwa daun sembukan mengandung senyawa minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan steroid. Sahoo (2016) meneliti dan menemukan kandungan senyawa saponin pada daun sembukan.

C. Uji Aktivitas Antiinflamasi

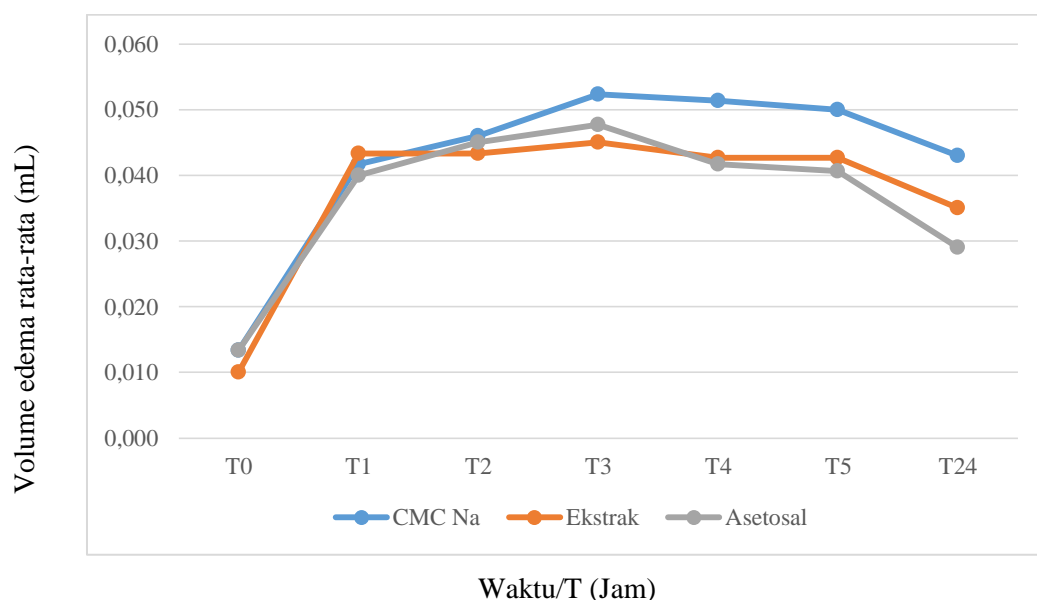
Pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukan dan asetosal dilakukan terhadap hewan uji tikus putih jantan galur wistar dengan berat badan 180-210 gram. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukan dan asetosal. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode edema kaki tikus yang diinduksi karagenan 0,5% sebanyak 0,1 mL. Pada uji aktivitas antiinflamasi menggunakan 9 ekor tikus yang dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok I (kontrol negatif), IV (kontrol positif), dan VII (ekstrak), tiap kelompok terdiri dari 3 ekor. Sebelum tikus diinduksi dengan

karagenan, volume kaki tikus diukur menggunakan alat pletismometer sebagai volume awal (T0). Volume kaki tikus diamati pada jam ke-1 (T1) hingga jam ke-5 (T5) dengan interval waktu 1 jam, kemudian pada jam ke-24 (T24).

Hasil pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukin dan asetosal dengan kontrol negatif suspensi CMC Na 0,5% diperoleh data volume kaki tikus rata-rata dari setiap kelompok perlakuan yang dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata volume edema

Waktu	Kelompok		
	CMC Na (k-)	Asetosal (k+)	Ekstrak
T0	0,013 ± 0,006	0,013 ± 0,006	0,010 ± 0,000
T1	0,042 ± 0,003	0,040 ± 0,000	0,043 ± 0,006
T2	0,046 ± 0,002	0,045 ± 0,000	0,043 ± 0,006
T3	0,052 ± 0,003	0,048 ± 0,003	0,045 ± 0,005
T4	0,051 ± 0,001	0,042 ± 0,003	0,043 ± 0,005
T5	0,050 ± 0,000	0,041 ± 0,001	0,043 ± 0,005
T24	0,043 ± 0,003	0,029 ± 0,001	0,035 ± 0,001



Gambar 13. Grafik rata-rata volume edema

Berdasarkan grafik di atas pada masing-masing kelompok menunjukkan peningkatan volume telapak kaki pada jam ke-1 setelah induksi karagenan. Hal ini

sesuai dengan penelitian Sukmawati *et al.* (2015) bahwa karagenan dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 jam sampai 2,5 jam setelah diinduksi dan fase ketiga pada 3 jam setelah diinduksi terjadi pelepasan prostaglandin lalu volume edema maksimal dan bertahan sampai 5 jam setelah diinduksi.

Pada jam ke-1 kelompok kontrol negatif memiliki volume edema lebih besar dari kelompok kontrol positif dan terus mengalami peningkatan sampai jam ke-3, hal ini karena kelompok kontrol negatif berfungsi sebagai *excipient* yang digunakan dalam berbagai formulasi farmasi (Rowe 2009) sehingga tidak memiliki aktivitas antiinflamasi. Pada jam ke-4 dan ke-5 volume edema mengalami sedikit penurunan dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam karena fagositosis di tempat jejas dan reparasi jaringan yang terjadi saat substansi yang membahayakan dan yang rusak telah dapat dihilangkan melalui proses respon imun terhadap inflamasi (Sudiono 2014).

Pada jam ke-1 kelompok kontrol positif memiliki volume edema paling kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok ekstrak. Hal ini karena asetosal mempunyai tiga efek farmakologi utama di antaranya adalah sebagai antiinflamasi (Mycek *et al.* 2001).

Pada jam ke-1, kelompok ekstrak memiliki volume edema lebih besar dari kelompok kontrol positif, hal ini karena kontrol positif sebagai obat kimia sintetis telah terbukti secara klinis sebagai antiinflamasi ((Mycek *et al.* 2001). Volume edema konstan pada jam ke-2 dan meningkat pada jam ke-3, namun mengalami penurunan pada jam ke-4 dan volume konstan sampai jam ke-5 berangsur-angsur berkurang pada jam ke-24. Hal ini menunjukkan adanya hambatan edema dari aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukan.

Berdasarkan data grafik di atas, menunjukkan bahwa pada T5 ke T24, asetosal mempunyai kurva edema paling rendah dibandingkan dengan kontrol negatif dan ekstrak. Dapat dikatakan bahwa asetosal mampu menghambat edema lebih baik dari CMC Na dan ekstrak. Dari data hasil pengukuran volume edema diperoleh data AUC. Dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rata-rata AUC dan persentase volume edema

Kelompok perlakuan	Rata-rata AUC \pm SD	Rata-rata % volume edema \pm SD
Kontrol negatif (CMC Na)	0,185 \pm 0,011	373,30 \pm 42,74
Kontrol positif (Asetosal)	0,144 \pm 0,006	214,12 \pm 49,94
Ekstrak daun sembukan	0,157 \pm 0,018	223,10 \pm 27,11

Tabel 9. Persentase inhibisi radang (DAI)

Kelompok	DAI (%)
Asetosal (K+)	74,36
Ekstrak	67,32

Pada tabel 9 menunjukkan harga AUC dan persentase DAI dari masing-masing kelompok perlakuan. Data tersebut digunakan untuk menghitung persentase daya antiinflamasi (DAI). Daya anti inflamasi digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan masing-masing zat uji dalam menghambat edema pada kaki tikus akibat induksi karagenan. Semakin kecil nilai AUC maka DAI semakin baik.

Berdasarkan data pada tabel di atas, menunjukkan bahwa persentase DAI kelompok kontrol positif lebih tinggi dari kelompok ekstrak, hal ini karena secara klinis asetosal telah terbukti sebagai antiinflamasi. Persentase DAI untuk ekstrak daun sembukan mendekati persentase DAI asetosal, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi yang hampir setara dengan asetosal.

Penelitian yang dilakukan oleh Ekawati *et al.* (2017) menunjukkan daun sembukan mengandung metabolit sekunder seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan steroid. Aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukan diperkirakan karena adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid.

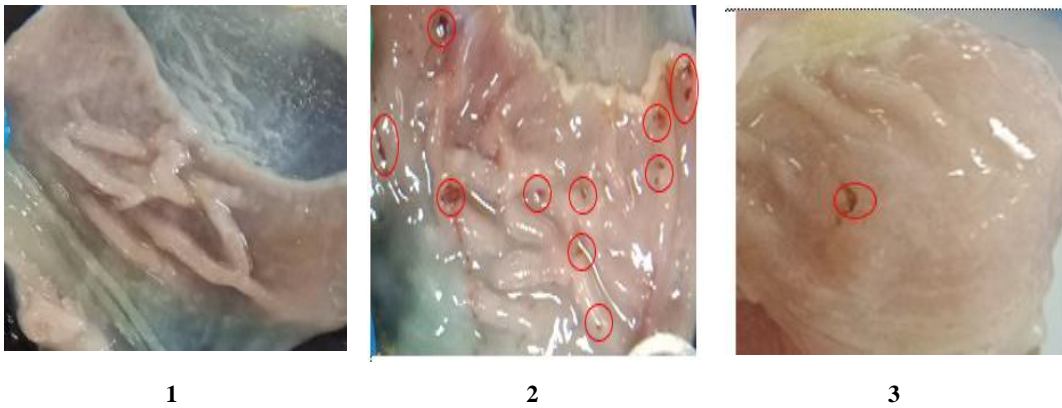
Alkaloid dapat mengurangi intensitas edema yang disebabkan oleh karagenan dengan menghambat permeabilitas pembuluh darah yang diinduksi oleh histamin. Flavonoid menghambat peningkatan permeabilitas pembuluh darah untuk mengurangi edema akut. Mekanisme aksi antiinflamasi flavonoid terdapat pada penghambatan enzim *lipoxigenase*. Saponin menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang kuat. Steroid menghambat peningkatan permeabilitas pembuluh darah pada tikus dan mengurangi edema yang diinduksi oleh karagenan (Perez 2001).

D. Pengamatan Histopatologi Organ Lambung

Pengamatan histopatologi ini dilakukan untuk mengetahui keamanan sediaan uji terhadap lambung. Prosedur pengujian meliputi beberapa tahap. Setelah tikus dipastikan mati, dilakukan laparotomi, lambung tikus diambil untuk diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pada pengamatan makroskopis, bagian lambung diamati dengan kaca pembesar untuk melihat ada tidaknya kerusakan lambung. Pembuatan sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan HE. Sampel lambung difiksasi dengan formalin 10% kemudian dilakukan pembuatan preparat histopatologi. Tahap akhir adalah membaca slide yang terdapat jaringan dengan mikroskop. Slide diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100X dan 400X. Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah Sydney Grading.

1. Pengamatan makroskopis

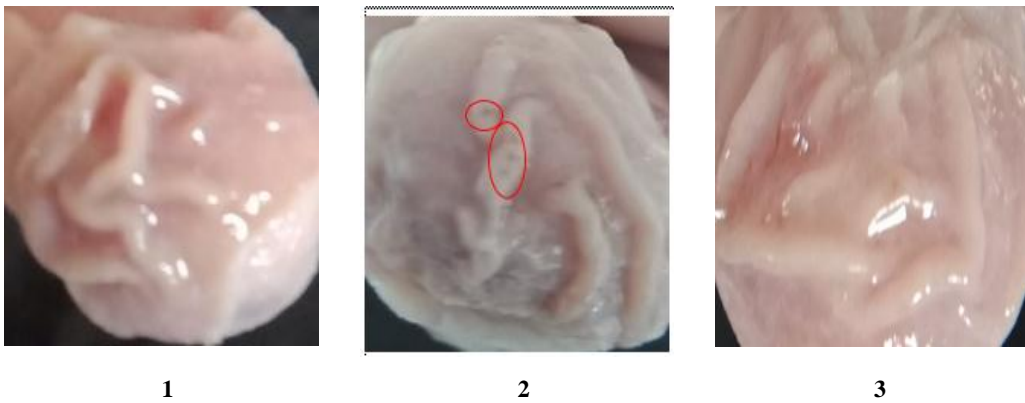
Berdasarkan hasil uji ekstrak daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi dan secara klinis asetosal terbukti sebagai antiinflamasi. Obat antiinflamasi umumnya memiliki efek samping terhadap lambung sehingga perlu diamati efek samping dari sediaan uji. Pengamatan makroskopis dapat dilihat pada gambar 14, 15, dan 16. Hasil dapat dilihat pada lampiran 7 halaman 86.



Gambar 14. Foto makroskopis lambung tikus lama induksi 10 hari

Keterangan gambar:

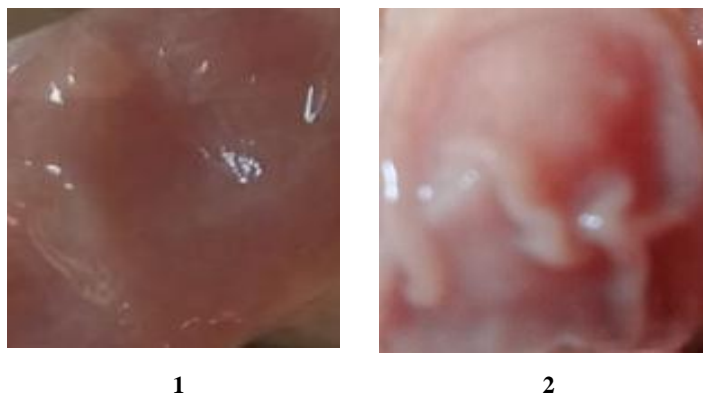
- 1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat kemerahan atau perdarahan.
- 2 = Kontrol (+) asetosol. Terdapat 10 bercak perdarahan.
- 3 = Ekstrak. Terdapat 1 bercak

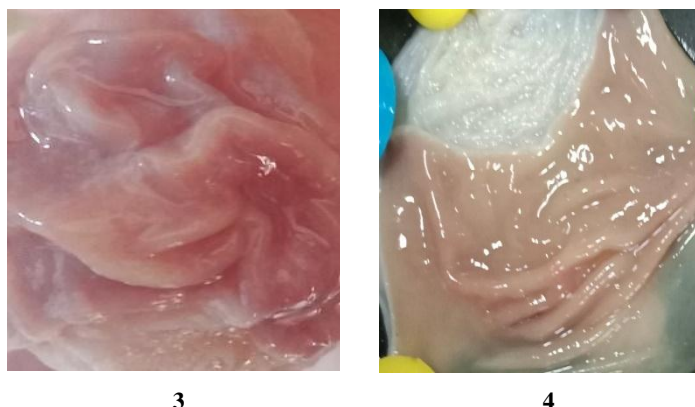


Gambar 15. Foto makroskopis lambung tikus lama pemberian 15 hari

Keterangan gambar:

- 1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat kemerahan atau perdarahan.
- 2 = Kontrol (+) asetosol. Terdapat 2 bercak perdarahan.
- 3 = Ekstrak. Tidak terdapat kemerahan atau perdarahan.





Gambar 16. Foto makroskopis lambung tikus lama induksi 20 hari

Keterangan gambar:

- 1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat kemerahan atau perdarahan.
 2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 2 bercak perdarahan.
 3 = Ekstrak. Tidak terdapat perdarahan.
 4 = Lambung normal. Tidak terdapat perdarahan.

Tabel 10. Skor lambung tikus kelompok uji 10 hari

Kelompok uji 10 hari	Tikus	Skor kemerahan (A)	Skor perdarahan (B)	Skor jumlah kerusakan (A+B)
K (-)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
K (+)	1	0	2	2
	2	0	1	1
	3	0	1	1
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	1,33 ± 0,58	1,33 ± 0,58
Ekstrak	1	0	1	1
	2	0	1	1
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0,67 ± 0,58	0,67 ± 0,58

Keterangan skor:

- 0 = Tidak terdapat tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
 1 = Terdapat 1 s/d 5 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
 2 = Terdapat 6 s/d 10 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
 3 = Terdapat 11 s/d 15 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.

Pada semua kelompok perlakuan tidak terdapat tanda kemerahan pada lambung (skor 0). Pada kelompok kontrol positif asetosal, dari ketiga tikus terdapat kerusakan dengan skor masing-masing berturut-turut 2, 1, dan 1, sehingga pada kelompok ini terdapat rata-rata jumlah kerusakan 1,33. Pada kelompok ekstrak, dari ketiga tikus terdapat dua tikus mengalami kerusakan dengan skor masing-masing 1, sehingga pada kelompok ini terdapat rata-rata jumlah kerusakan 0,67. Jumlah kerusakan lambung terbesar berupa perdarahan terdapat pada kelompok kontrol positif asetosal.

Tabel 11. Skor lambung tikus kelompok uji 15 hari

Kelompok uji 15 hari	Tikus	Skor kemerahan (A)	Skor perdarahan (B)	Skor Jumlah Kerusakan (A+B)
K (-)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
K (+)	1	0	0	0
	2	0	1	1
	3	0	1	1
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0,67 ± 0,58	0,67 ± 0,58
Ekstrak	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Keterangan skor:

- 0 = Tidak terdapat tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 1 = Terdapat 1 s/d 5 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 2 = Terdapat 6 s/d 10 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 3 = Terdapat 11 s/d 15 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.

Pada semua kelompok perlakuan tidak terdapat tanda kemerahan pada lambung (skor 0). Pada kelompok kontrol positif asetosal, dari ketiga tikus terdapat dua tikus mengalami kerusakan dengan skor masing-masing 1, sehingga pada kelompok ini terdapat rata-rata skor kerusakan 0,67. Pada kelompok kontrol negatif CMC Na dan kelompok ekstrak, tidak terdapat kerusakan sehingga pada kelompok ini terdapat rata-rata skor kerusakan adalah 0. Kerusakan lambung hanya terdapat pada kelompok kontrol positif asetosal berupa perdarahan.

Tabel 12. Skor lambung tikus Kelompok uji 20 hari

Kelompok uji 20 hari	Tikus	Skor kemerahan (A)	Skor perdarahan (B)	Skor jumlah kerusakan (A+B)
K (-)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
K (+)	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ekstrak	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	Rata-rata ± SD	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Keterangan skor:

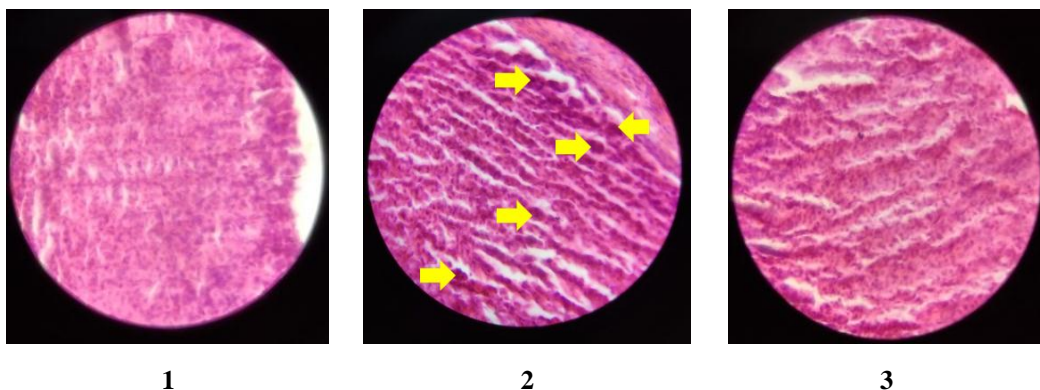
- 0 = Tidak terdapat tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 1 = Terdapat 1 s/d 5 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 2 = Terdapat 6 s/d 10 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.
- 3 = Terdapat 11 s/d 15 tanda kemerahan atau bercak perdarahan.

Pada semua kelompok perlakuan tidak terdapat tanda kemerahan maupun perdarahan pada lambung (skor 0). Sehingga pada semua kelompok rata-rata skor kerusakan adalah 0.

Berdasarkan gambar dan tabel di atas, pada pemberian sediaan uji selama 10, 15, dan 20 hari tidak terdapat warna kemerahan atau perdarahan pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan tidak ada kerusakan pada lambung yang disebabkan oleh Na CMC. Pada kontrol positif, pemberian sediaan uji selama 10 hari terdapat bercak perdarahan di beberapa bagian mukosa, sedangkan pada pemberian sediaan uji di hari ke-15 terdapat beberapa bercak gelap, namun tidak tampak kerusakan pada pemberian sediaan uji selama 20 hari. Pada mukosa lambung tikus yang diinduksi ekstrak daun sembung selama 10 hari, terdapat perdarahan. Namun tidak terdapat kerusakan pada induksi selama 15 dan 20 hari. Meskipun pada kelompok asetosal dan ekstrak tidak terdapat warna kemerahan atau perdarahan pada pemberian selama 20 hari (skor 0), namun terdapat kontraksi otot lambung sehingga terjadi perubahan fisik pada mukosa lambung yaitu tampak mengerut.

2. Pengamatan mikroskopis

Hasil pemeriksaan makroskopis kemudian didukung dengan pemeriksaan histologi jaringan. Pada pemeriksaan mukosa lambung akan diketahui terjadinya perubahan pada histologi lambung khususnya pada bagian korpus dan antrum. Pada bagian korpus dan antrum dapat dilihat adanya infiltrasi sel mononuklear yang merupakan karakteristik lesi inflamasi dimana sel-sel darah putih berkumpul di tempat cedera. Adanya lesi pada DNA yang gagal diperbaiki menyebabkan sel mengalami apoptosis pada bagian genetik yang mengalami kerusakan (Supriyadi 2008). Hasil pengamatan mikroskopis corpus dan antrum gaster dapat dilihat pada gambar 17 sampai 22.



Gambar 17. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 10 hari (perbesaran 400X)

Keterangan gambar:

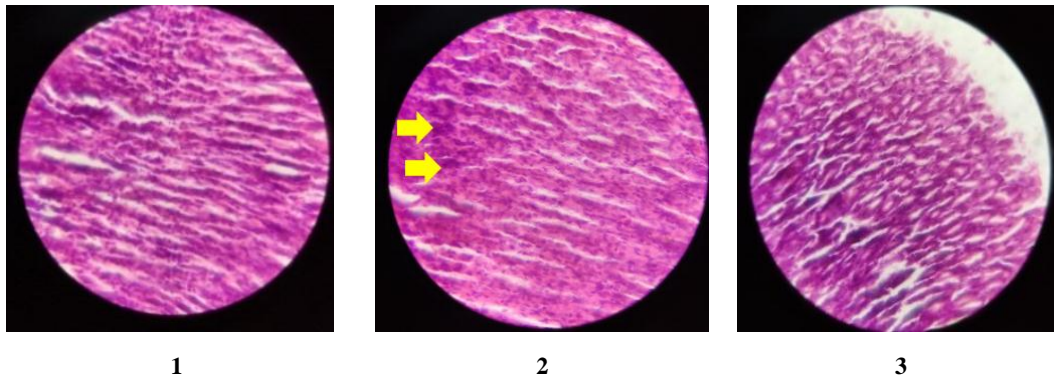
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 5 tanda infiltrasi mononuklear, tidak terdapat inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 18. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 15 hari (perbesaran 400X)

Keterangan gambar:

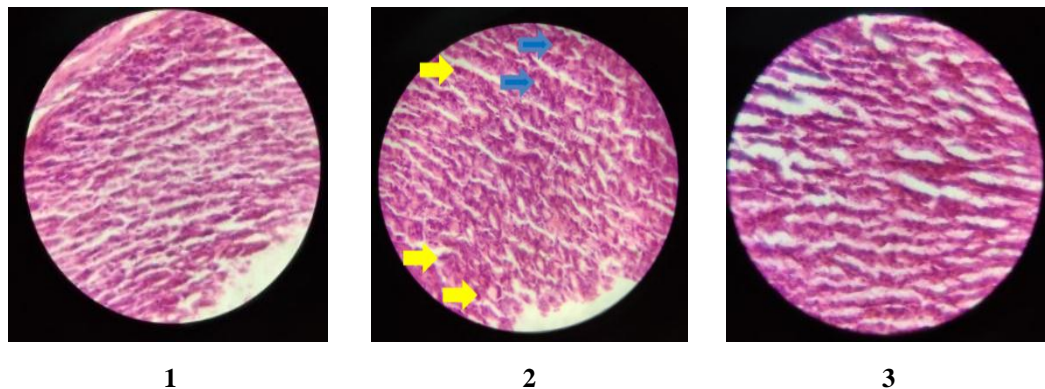
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 2 tanda infiltrasi mononuklear, tidak terdapat inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 19. Foto mikroskopis corpus gaster lama pemberian 20 hari (perbesaran 400X)

Keterangan gambar:

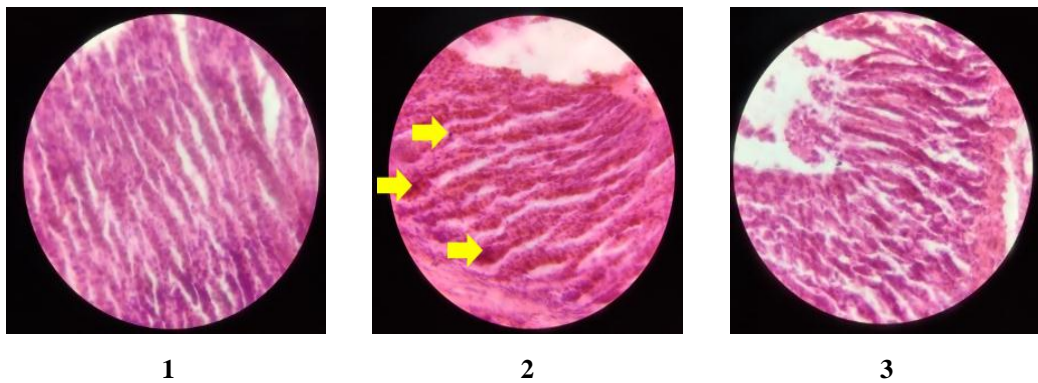
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 3 tanda infiltrasi mononuklear dan 2 tanda inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 20. Foto mikroskopis antrum gaster pemberian 10 hari (perbesaran 400X)

Keterangan gambar:

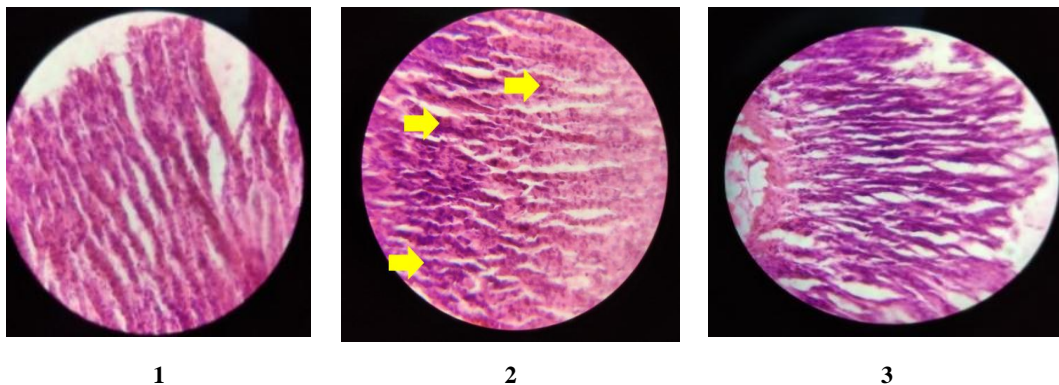
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 3 tanda infiltrasi mononuklear, tidak terdapat inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 21. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 15 hari (perbesaran 400X)

Keterangan gambar:

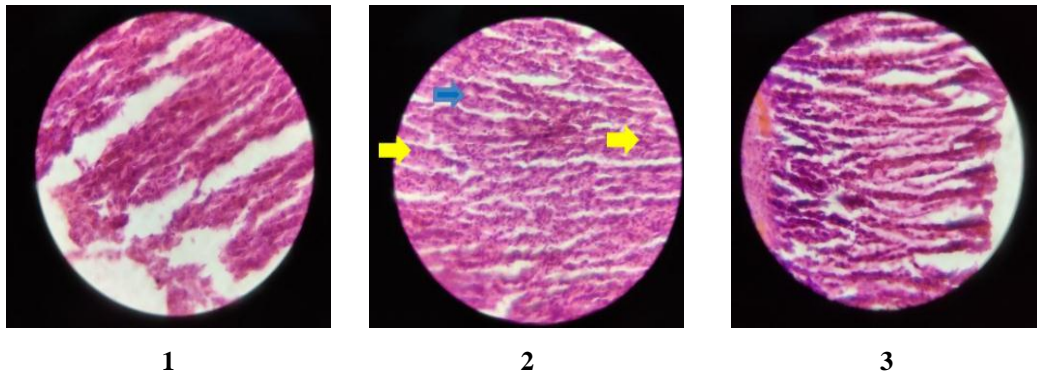
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 3 tanda infiltrasi mononuklear, tidak terdapat inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 22. Foto mikroskopis antrum gaster lama pemberian 20 hari (perbesaran 400X)
Keterangan gambar:

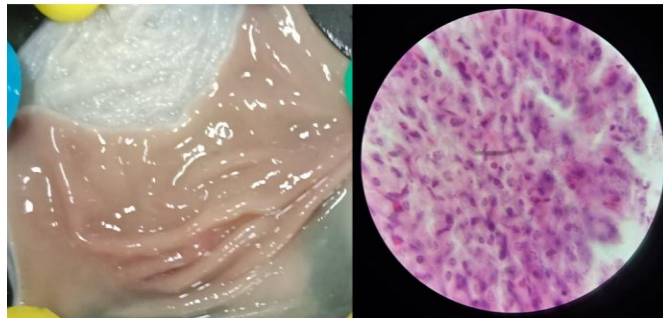
→ = Infiltrasi Mononuklear

→ = Inflamasi Folikel Limfoid

1 = Kontrol (-) CMC Na. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

2 = Kontrol (+) asetosal. Terdapat 2 tanda infiltrasi mononuclear dan 1 tanda inflamasi folikel limfoid.

3 = Ekstrak. Tidak terdapat infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.



Gambar 23. Foto makroskopis & mikroskopis lambung normal tikus (pembesaran 1000x).

Gambaran histologi lambung tikus normal menunjukkan lapisan mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa dalam keadaan normal tanpa adanya sel-sel radang dan edema mukosa. Hasil perhitungan kerusakan sel pada corpus dan antrum lambung berupa infiltrasi mononuklear dan inflamasi folikel limfoid dapat dilihat pada tabel 13.

Berdasarkan gambar di atas dan tabel di bawah ini, pada kelompok kontrol negatif dan kelompok ekstrak tidak terdapat kerusakan sel berupa infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid. Hal ini menunjukkan bahwa na CMC dan ekstrak daun sembukan tidak menyebabkan *distress epigastric*. Meskipun pada mukosa lambung tikus yang diberi ekstrak daun sembukan selama 10 hari

terdapat perdarahan namun pada pengamatan histologi tidak terdapat kerusakan sel, hal ini dapat terjadi karena dimungkinkan perdarahan yang terjadi bukan karena pengaruh dari ekstrak tetapi karena terkena gunting bedah pada saat melakukan laparotomi. Pada kelompok kontrol positif, terdapat kerusakan sel berupa infiltrasi mononuklear pada induksi selama 10 dan 15 hari, dan pada pemberian selama 20 hari kerusakan semakin parah ditunjukkan dengan adanya infiltrasi mononuklear dan inflamasi folikel limfoid. Hal ini menunjukkan bahwa asetosal memiliki efek samping merusak lambung. Kerusakan semakin parah dengan makin lamanya waktu pemberian. Sesuai dengan literatur, asetosal berpotensi menyebabkan kerusakan sel secara langsung. Asetosal bersifat asam sehingga pada pH lambung asetosal tidak dibebaskan, akibatnya mudah menembus sel mukosa dan mengalami ionisasi (menjadi bermuatan negatif) dan terperangkap, hal ini yang menyebabkan kerusakan sel pada lambung (Mycek *et al.* 2001).

Tabel 13. Rata-rata jumlah skoring histopatologi lambung tikus

IM	Skor penggunaan 10		Skor penggunaan 15		Skor penggunaan 20		Rata-rata ± SD
	hari (A)		hari (B)		hari (C)		
	Korpus	Antrum	Korpus	Antrum	Korpus	Antrum	
(-)	0	0	0	0	0	0	0 ± 0
(+)	2	1	1	1	1	1	1,16 ± 0,40
E	0	0	0	0	0	0	0 ± 0

IFL	Skor penggunaan 10		Skor penggunaan 15		Skor penggunaan 20		Rata-rata ± SD
	hari (A)		hari (B)		hari (C)		
	Korpus	Antrum	Korpus	Antrum	Korpus	Antrum	
(-)	0	0	0	0	0	0	0 ± 0
(+)	0	0	0	0	3	3	1 ± 1,154
E	0	0	0	0	0	0	0 ± 0

Keterangan:

IM = Infiltrasi Mononuklear

IFL = Inflamasi Folikel Limfoid

(-) = Kontrol negatif CMC Na

(+) = Kontrol positif asetosal

E = Ekstrak

Keterangan skor:

0 = Tidak terdapat tanda infiltrasi mononuklear atau inflamasi folikel limfoid.

1 = Terdapat 1 s/d 3 tanda infiltrasi mononuklear.

2 = Terdapat 4 s/d 6 tanda infiltrasi mononuklear.

3 = Terdapat 1 s/d 3 tanda inflamasi folikel limfoid.

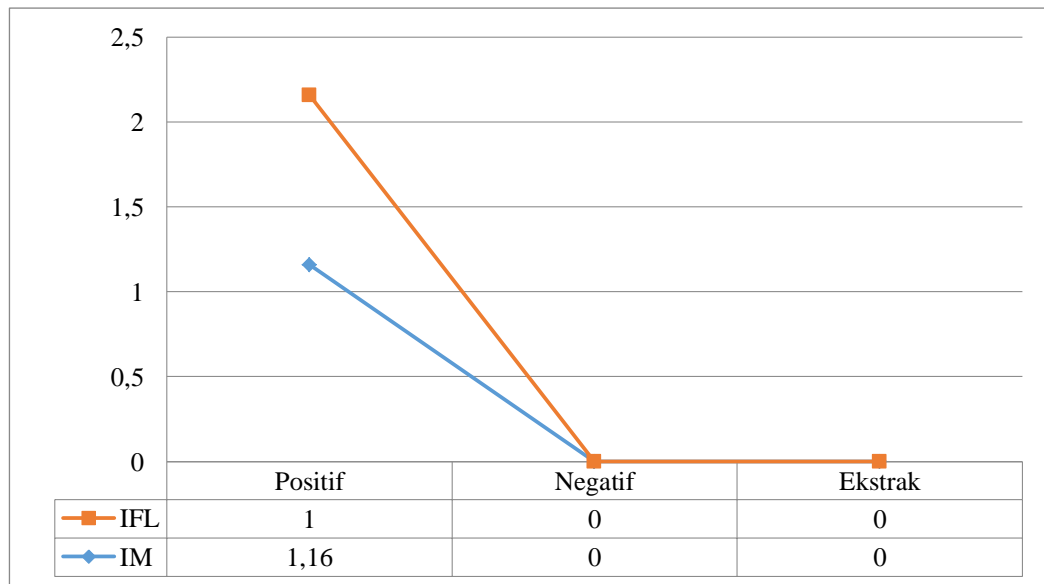
4 = Terdapat 4 s/d 6 tanda inflamasi folikel limfoid.

Keterangan bobot skor:

Bobot skor penggunaan 10 hari = 1

Bobot skor penggunaan 15 hari = 2

Bobot skor penggunaan 20 hari = 3



Gambar 24. Grafik rata-rata jumlah skoring histopatologi lambung

ANOVA

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.110	2	.055	1.000	.533
Within Groups	.000	0	.		
Total	.110	2			

Tidak ada perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai signifikansi sebesar $0,533 > 0,05$ artinya secara statistik skor AUC tidak berbeda dengan kelompok kontrol positif dan negatif.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun sembukan memiliki kandungan senyawa kimia alkaloid dan flavonoid yang bersifat

gastroprotektor. Mekanisme kerja alkaloid sebagai gastroprotektor melalui gugus amina pada struktur kimia alkaloid yang menyebabkan alkaloid tersebut bersifat alkali atau basa sehingga senyawa alkaloid dapat menurunkan tingkat keasaman dan menaikkan pH lambung (Fannyda 2014). Mekanisme kerja flavonoid sebagai gastroprotektor melalui kerja antiinflamasi dengan menekan pembentukan netrofil/sitokin dalam saluran cerna dan memicu perbaikan jaringan melalui ekspresi berbagai faktor pertumbuhan (Kim *et al.* 2004). Flavonoid dapat melindungi mukosa lambung dengan mekanisme antioksidan dan kemungkinan besar berguna dalam membantu terapi gastritis akut dan kronik (Zayachkivska *et al.* 2005).

E. Uji Hipotesis

1. Aktivitas antiinflamasi daun sembukan terhadap edema

Untuk dapat menguji aktivitas daun sembukan terlebih dahulu hasil melalui uji normalitas sebagai uji prasyarat analisis, hasil uji adalah sebagai berikut :

Tabel 14 . Hasil Uji Normalitas Data *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Hasil	Keterangan
Kontrol negatif	0,224	Normal
Kontrol positif	0,594	Normal
Ekstrak sembukan	0,382	Normal

Berdasarkan hasil uji di atas diperoleh bahwa pada kelompok kontrol negatif diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,224 ($>0,05$) sehingga data pada kelompok kontrol negatif dinyatakan normal, selanjutnya pada kelompok kontrol positif diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,594 ($>0,05$) data kontrol positif dinyatakan normal, dan pada kelompok ekstrak diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,382 ($>0,05$) data kelompok ekstrak dinyatakan normal maka uji statistik dapat dilakukan.

Tabel 15. Hasil Uji Anova

F	Signifikansi
4,170	0,003

Berdasarkan uji statistik diperoleh nilai F hitung sebesar 4,170 dengan signifikansi sebesar 0,003 ($<0,05$) sehingga ada perbedaan yang signifikan daya antiinflamasi antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok ekstrak.

Tabel 16. Hasil Uji Multiple Comparisons

Perbandingan antar Kelompok	<i>p value</i> (Signifikansi)
K- K+	0,001
K- Ekstrak	0,003
K+ Ekstrak	0,299

Selanjutnya uji secara terpisah diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa ada perbedaan daya antiinflamasi yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dengan nilai signifikansi 0,001 ($<0,05$), selanjutnya ada perbedaan daya antiinflamasi yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak dengan nilai signifikansi 0,003 ($<0,05$) dan tidak ada perbedaan daya antiinflamasi yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak dengan nilai signifikansi 0,299 ($>0,05$).

2. Pengaruh ekstrak daun sembukan terhadap organ lambung tikus

Untuk dapat menguji aktifitas daun sembukan terlebih dahulu hasil melalui uji normalitas sebagai uji prasyarat analisis, hasil uji adalah sebagai berikut :

Tabel 17. Hasil Uji Normalitas Data *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Signifikansi	Keterangan
Kontrol negatif	0,208	Normal
Kontrol positif	0,201	Normal
Ekstrak sembukan	0,201	Normal

Berdasarkan hasil uji di atas diperoleh bahwa pada kelompok kontrol negatif diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,248 ($>0,05$) sehingga data pada kelompok kontrol negatif dinyatakan normal, selanjutnya pada kelompok kontrol positif diperoleh nilai signifikansi 0,201 ($>0,05$) data kontrol positif dinyatakan normal, dan pada kelompok ekstrak diperoleh nilai signifikansi 0,201 ($>0,05$) data kelompok ekstrak dinyatakan normal maka uji statistik dapat dilakukan.

a. Pengaruh CMC terhadap organ lambung tikus

Pengamatan organ lambung tikus dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada hari ke-10, 15, dan hari ke-20 berikut adalah hasil uji statistik pengamatan lambung tikus pada kelompok kontrol negatif atau kelompok yang diberikan CMC :

F	Signifikansi
1,000	0,422

Hasil uji statistik yang terdapat pada tabel di atas diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,422 ($>0,05$) artinya tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian CMC terhadap kerusakan lambung tikus pada pengamatan hari ke-10, hari ke-15 maupun hari ke 20. Sehingga CMC aman terhadap organ lambung tikus putih karena CMC tidak menyebabkan kerusakan pada lambung.

b. Pengaruh asetosal terhadap organ lambung tikus

Setelah pemberian asetosal pengamatan juga dilakukan sebanyak tiga kali pada hari ke-10, 15, dan 20 berikut adalah hasil uji statistik, lambung tikus setelah diberi asetosal :

F	Signifikansi
6,000	0,037

Berdasarkan hasil uji statistik yang terdapat pada tabel di atas diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,037 ($<0,05$) artinya terdapat pengaruh yang signifikan pemberian asetosal terhadap kerusakan lambung tikus pada pengamatan hari ke-

10, hari ke-15 maupun hari ke-20. Terdapat kerusakan sel berupa infiltrasi mononuklear pada induksi selama 10 dan 15 hari, dan pada induksi selama 20 hari kerusakan semakin parah ditunjukkan dengan adanya infiltrasi mononuklear dan inflamasi folikel limfoid. Hal ini menunjukkan bahwa asetosal memiliki efek samping merusak lambung.

c. Pengaruh ekstrak daun sembukan terhadap organ lambung tikus

Berikut ini adalah hasil uji statistik pengaruh ekstrak sembukan terhadap lambung tikus :

Tabel 20. Hasil Uji Anova Kelompok Ekstrak

F	Signifikansi
4,000	0,079

Berdasarkan hasil uji statistik yang telah dilakukan diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,079 ($>0,05$) artinya tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun sembukan terhadap *distress epigastric* tikus pada pengamatan hari ke-10, hari ke-15 maupun hari ke-20. Sehingga ekstrak daun sembukan sebagai obat tradisional aman terhadap organ lambung tikus putih. Meskipun pada mukosa lambung tikus yang diberi ekstrak daun sembukan selama 10 hari terdapat perdarahan namun pada pengamatan histologi tidak terdapat kerusakan sel, hal ini dapat terjadi karena dimungkinkan perdarahan yang terjadi bukan karena pengaruh dari ekstrak tetapi karena terkena gunting bedah pada saat melakukan laparotomi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun sembukan pada tikus dengan metode induksi karagenan dan uji keamanannya pada lambung dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak daun sembukan pada dosis 250 mg/kg BB mempunyai aktivitas antiinflamasi dan uji statistik menunjukkan signifikansi 0,003 ($<0,05$) yang menunjukkan ekstrak daun sembukan memiliki aktivitas antiinflamasi.

Kedua, ekstrak daun sembukan pada dosis 250 mg/kg BB aman digunakan sampai dengan 20 hari. Hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,079 ($>0,05$) artinya tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun sembukan terhadap *distress epigastric*.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan senyawa dari daun sembukan yang memiliki aktivitas antiinflamasi.

Kedua, perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan dan batasan dosis dari penggunaan daun sembukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkadir W, Polontalo FR. 2011. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*). *Jurnal Health dan Sport* 3: 349-362.
- Abriyanto AE, Sabikis, Sudarso. 2012. Aktivitas anti fungi ekstrak etanol daun sembukin (*Paederia foetida* L) terhadap *Candida albicans*. *Pharmacy* 9 (3): 1-10.
- Bawulele AT, Loho L, Lintong P. 2016. Pengaruh cabe rawit terhadap gambaran histopatologik lambung tikus wistar yang diinduksi aspirin. *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 4(2).
- [BKIPM] Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan. 2017. *Petunjuk Teknis Surveilan Penyakit Tilapia Lake Virus*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan, Republik Indonesia. 2014. *Pedoman Uji Klinik Obat Herbal*. Jakarta: BPOM RI.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan, Republik Indonesia. 2014. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Pusat Informasi Obat Nasional. Jakarta: BPOM RI.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan, Republik Indonesia. 2015. PIO Nas (Pusat Informasi Obat Nasional). <http://pionas.pom.go.id/ioni/bab-6-sistem-endokrin/63-kortikosteroid/632-glukokortikoid> [2 April 2018].
- Caglar E, Baysal B, Dobrucal A. 2014. The changing pattern of upper gastrointestinal disorders by endoscopy: data of the last 40 years. *Hindawi Publishing Corporation Diagnostic and Therapeutic Endoscopy*: 1-5. <https://www.hindawi.com/journals/dte/2014/262638/>. [11 Apr 2018].
- Camilleri M, Linden DR. 2016. Measurement of gastrointestinal and colonic motor functions in humans and animals. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 2(4): 412-428. [https://www.cmghjournal.org/article/S2352-345X\(16\)30032-7/pdf](https://www.cmghjournal.org/article/S2352-345X(16)30032-7/pdf). [11 Apr 2018].
- Chandra M. 2014. Efek gastroprotektif air perasan daun pisang (*Musa paradisiaca* L.) pada tikus wistar jantan yang diinduksi aspirin [Skripsi]. Bandung: Universitas Kristen Maranatha.

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Dirjen POM.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Dirjen POM.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 1993. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia, dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. 2011. *Pedoman Pengendalian Tikus*. Jakarta: Depkes RI.
- De S, Ravishankar B, Bhavsar GC. 1994. Investigation of the anti-inflammatory effects of *Paederia foetida*. *Journal of Ethnopharmacology* 43(1): 31-38.
- Ekawati MA, Suirta IW, Santi SR. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada daun sembukan (*Paederia foetida* L) serta uji aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia* 11 (1): 43-48.
- Endarini LH. 2016. *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Evans CW. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans*. 16th Ed. London: Saunders Elvesier.
- Fachrunisa D. 2016. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia serta uji efek antiinflamasi ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L) terhadap tikus putih jantan [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Fannyda R. 2014. Pengaruh ekstrak daun medang perawas (*Litsea odorifera val.*) terhadap tukak lambung *Mus musculus* dan karakterisasi gugus fungsi dengan spektroskopi FTIR [Skripsi]. Bengkulu: Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.

- Fauziyah N. 2008. Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca*, benth) pada tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fridiana D. 2012. Uji antiinflamasi ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* L) pada kaki tikus wistar jantan yang diinduksi karagen [Skripsi]. Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hariana A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haryanto, Sugeng. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall.
- Ikawati Z, Nugroho AE, Werdhinindah W. 2006. Efek ekstrak etanol daun *Erythrina fusca* Lour (cangkring) terhadap penekanan ekspresi enzim siklooksigenase-2 pada kultur sel raji. *Majalah Farmasi Indonesia* 17(2): 85-90.
- Inayati A. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle*, Linn) secara *in vivo* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah.
- Irianto K. 2005. *Struktur dan Fungsi Tubuh Manusia untuk Paramedis*. Bandung: Yrama Widya.
- Junqueira L.C., J.Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*, Edisi ke-5. penerjemah; Tambayang J. Terjemahan dari : *Basic Histology*. Jakarta: EGC.
- Katzung BG. 2001. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi ke-3. Jakarta: Salemba Medika.
- Kee JL, Hayes ER. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*, Penerjemah: Peter A. Jakarta: EGC.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan, Republik Indonesia. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I Suplemen II. Jakarta: Kemenkes RI.
- Khotimah SN, Muhtadi A. 2016. Beberapa tumbuhan yang mengandung senyawa aktif antiinflamasi. *Farmaka* 4 Supl 1: 1693–1424.

- Kim *et al.* 2004. Cytoprotective effects of *Glycyrrhizae radix* extract and its active component liquiritigenin against cadmium-induced toxicity (effects on bad translocation and cytochrome c-mediated PARP cleavage). *Toxicology Elsevier*. 197: 239-251.
- Kokate CK. 2001. *Pharmacognosy*. Edisi ke-16. Mumbai (IN): Niali Prakasham.
- Koki AT, Masferrer JL. 2002. *Celecoxib: A Specific COX-2 Inhibitor with Anti Cancer Properties*. *Cancer Control* 9(2): 28-35.
- Lee *et al.* 2012. Anti-inflammatory effect of triterpene saponins isolated from blue cohosh (*Caulophyllum thalictroides*). *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Lenny S. 2006. Senyawa terpenoida dan steroida [Karya Ilmiah]. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Moore BC, Simmons DL. 2000. *Cox-2 Inhibition, Apoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. *Curr Med Chem* 7: 1131-1144.
- Moghimpour, Handali. 2014. Saponin: properties, methods of evaluation and applications. *Annual Research & Review in Biology* 5(3): 207-220.
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). Balai Penelitian Veteriner, Bogor. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*: 156-163.
- Mustaba R, Winaya IO, Ketutberata I. 2012. Studi histopatologi lambung pada tikus putih yang diberi madu sebagai pencegah ulkus lambung yang diinduksi aspirin. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(4) : 471-482.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. 2001. *Farmakologi : Ulasan Bergambar*, Ed ke-2. penerjemah; Azwar Agoes. editor. Huriawati Hartanto. Terjemahan dari : *Lippincott's Illustrated Reviews : Pharmacology*. Jakarta: Widya Medika.
- Nanlohy VJ, Kairupan C, Loho L. 2013. Gambaran histopatologik lambung tikus wistar yang diberikan buah pepaya sebelum induksi aspirin. *Jurnal e-Biomedik (eBM)* 1: 972-976.
- [NCBI] National Center for Biotechnology Information. *PubChem BioAssay*. U.S: National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound?term=gama+sitosterol&cmd=DetailsSearch> [8 April 2018].
- Olson, James. 2003. *Belajar Mudah Farmakologi*. Jakarta: EGC.

- Pearce E. 2008. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*, Cetakan ke-31. penerjemah; Handoyo, Sri Y. editor. Mohamad Kartono. Terjemahan dari : *Anatomy & Physiology for Nurses*. Jakarta: Penerbit Gramedia Pustaka Utama.
- Perera P, Ringbom T, Huss U, Vasage M, Bohlin L. 2001. *Search for Natural Product which Affect Cyclooxygenase-2 in Tringali C.* (Ed) Bioactive Compounds from Natural Sources. *Isolation, Characterisation, and Biological Properties*: 434-465. London: Taylor and Francis.
- Perez GRM. 2001. Anti-inflammatory activity of compounds isolated from plants. *Review Article TheScientificWorld* 1: 713-784.
- Permatasari DE. 2012. Efek antiinflamasi kombinasi ekstrak air daun salam (*Eugenia polyantha* Wight.) dengan tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada tikus [Makalah]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pratama RS, Fridayanti A, Ibrahim A. 2015. Efektivitas antiinflamasi fraksi air ekstrak daun sembukan (*Paederia foetida* L.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Sains dan Kesehatan* 1(1): 29-33.
- Price SA, Wilson LM. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Edisi ke-6. penerjemah; Pendit, Brahm U, Hartanto H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Purnamasari E. 2013. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol lumut hati *Mastigophora diclados* (Bird. ex Web.) Nees secara *in vivo*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Puspitasari DA. 2008. Gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian asam asetil salisilat [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Raina. 2011. *Ensiklopedi Tumbuhan Berhasiat Obat*. Jakarta: Salemba Medika.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Ed ke-6. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association
- Sa'adah H, Nurhasnawati H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2): 149-153.
- Sabar R. 2007. *Pengantar Metodologi Penelitian*. Kudus: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muria Kudus.

- Sahoo M, Bhatnagar S. 2016. A comparative analysis of phytochemical and antioxidant profile of *Paedaria foetida*.L wild and cultivated varieties. *World Journal of Pharmaceutical Research* 5(1): 1329-1337.
- Saifudin A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Santoso J. 2017. Efektivitas infusa rimpang kunyit (*Curcuma domestica* val.) sebagai gastroprotektor pada tikus dengan model tukak lambung. *Jurnal Permata Indonesia* 8(1): 34-44.
- Setyo ARA. 2016. Uji aktivitas antiinflamasi isolat alkaloid lada (*Piper nigrum* L.) pada tikus galur wistar: studi *in vivo* dan *in silico* [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*, Ed ke-2. penerjemah; Pendit, Brahm U. editor. Santoso, Beatricia I. Terjemahan dari: *Human Physiology: From Cells to Systems*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Simaremare ES. 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy* 11(1): 98-107.
- Soemarie YB. 2016. Uji aktivitas antiinflamasi kuersetin kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 1(2): 163-172.
- Stevani H. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Stringer JL. 2009. *Konsep Dasar Farmakologi. Panduan Untuk Mahasiswa*. Ed ke-3. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran EGC.
- Sudiono J. 2014. *Sistem Kekebalan Tubuh*. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran EGC.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Farmakologi*. Edisi IV. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Bandung: CV Afabeta.
- Sukaina I. 2013. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) terhadap udem pada telapak kaki tikus putih jantan yang

diinduksi karagenan [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.

Sukandar *et al.* 2013. *Iso Farmakoterapi*. Buku 1. Cetakan ke-3. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan..

Sukmawati, Yuliet, Hardani R. 2015. Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun pisang ambon (*Musa paradisiaca* L.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi karagenan. *Galenika Journal of Pharmacy* 1(2): 126 – 132.

Supriyadi. 2008. Evaluasi apoptosis sel odontoblas akibat paparan radiasi ionisasi. *Indonesian Journal of Dentistry* 15(1): 71-76.

Tjay TH, Raharja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi V. Jakarta: Gramedia.

Utami ET, Kuncoro RA, Hutami IR, Sari FT, Handajani J. 2011. Efek antiinflamasi ekstrak daun sembukan (*Paederia scandens*) pada tikus wistar. *Majalah Obat Tradisional*. 16(2): 95-100.

Utami P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia.

Utami SA. 2016. Uji efek antiinflamasi topikal ekstrak *Milk Thistle*[®] pada jumlah neutrofil dan ekspresi cox-2 mencit betina terinduksi karagenin [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Vogel HG. 2002. *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*. New York: Springer-Verley Berlin. Deidelberg.

Zayachkivska *et al.* 2005. Gastroprotective effects of flavonoid in plant extracts. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 56(1): 219-231.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman semburan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutarni 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 142b/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Dwi Endang Febriyanti
NIM : 21154521A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Paederia foetida* L.
Synonym : *Paederia scandens* (Lour.) Merr.
Familia : Rubiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-
404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419a 162. Rubiaceae
1a-2b-4c-10b-13b-14b-15b-16b-17b-18b-19b-20b-21a-22a-23b-24b-25b 59. Paederia
1a Paederia foetida L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : perdu menahun, memanjat, panjang 1.5-7 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang menjalar, berkayu, berbentuk segi empat ketika muda tetapi berbentuk bulat ketika dewasa, mempunyai percabangan monopodial, percabangan memanjang dan mendatar, permukaan berambut hingga gundul ketika muda dan berambut halus ketika dewasa, batang muda berwarna ungu atau coklat kemerahan, batang dewasa coklat kekuningan mengkilat hingga abu-abu. Daun : tunggal, berseling berhadapan, bulat telur lebar atau ellips memanjang hingga lanset memanjang, hingga bulat telur memanjang, panjang 2-21 cm, lebar 0.7-9 cm pangkal daun membulat atau berlekuk seperti jantung, tepi daun rata, ujung daun runcing hingga meruncing, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut hingga gundul, rambut berwarna putih hingga kuning emas kecoklatan, permukaan atas daun berwarna hijau tua, permukaan bawah daun hijau muda; daun penumpu terletak di antara 2 tangkai daun, bulat telur atau segitiga, tepinya rata, permukaan berambut hingga gundul, panjang 1.5-5 mm, lebar 2-3 mm; tangkai daun bulat, panjang 0.5-6(-9) cm, permukaan berambut hingga gundul. Bunga : bunga majemuk tipe malai, di ketiak daun atau di ujung cabang, panjangnya sangat bervariasi, dari yang bercabang banyak dan melebar hingga 1 m hingga yang sangat tereduksi hingga 10 cm, bunga berkelamin dua (biseksual), bagian-bagian bunga 5, ungu kotor atau putih keunguan; panjang tangkai bunga 2-30 mm; daun pelindung bunga (braktea) kecil dan memanjang; kelopak bunga seperti lonceng, bercuping 5, cuping kelopak berbentuk segitiga, panjang hingga 1 mm, lebar 0.6 mm, permukaan gundul, hijau hingga hijau kekuningan; mahkota bunga seperti genta atau silindris, panjang 5-17 mm, lebar 2-5 mm, bercuping 5, bentuk cuping mahkota memanjang hingga segitiga, panjang 1-3 mm, lebar 1.5-3 mm, bagian tepinya bergelombang, putih keunguan di bagian dalam dan putih di bagian luar, kerongkongan tabung mahkota ungu, bagian dalamnya berambut sangat rapat; benang sari 5, melekat pada bagian tabung mahkota, panjang kepala sari 2-2.5 mm; kepala putik bercuping 2, berbentuk seperti benang, panjang kepala putik dan tangkai putik 4-15 mm, bakal buah tenggelam, beruang 2, bakal biji 2. Buah : buah drupa, bulat atau ellips, panjang 9 mm, diameter 4-6 mm, kulit buah tipis dan kering, masih ada sisa kelopak bunga, mengkilat, coklat muda atau coklat kekuningan hingga coklat kemerahan. Biji : 2 per buah, kecil, panjang 3 mm, lebar 0.5 mm, coklat hingga hitam.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 30 Juli 2018
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



Lampiran 2. Surat kelaikan etik (*Ethical Clearance Letter*)



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
Health Research Ethics Committee
FAKULTAS KEDOKTERAN
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Faculty of Medicine Universitas Muhammadiyah Surakarta
 Komplek kampus 4 UMS Gonilan Kartasura, Telp.(0271)716844, Fax:(0271)724883 Surakarta 57102, email:kepk@ums.ac.id

ETHICAL CLEARANCE LETTER

Surat Kelaikan Etik
 No. 1363/A.1/KEPK-FKUMS/VIII/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UMS, setelah menelaah rancangan penelitian yang diusulkan menyatakan bahwa:
Health Research Ethics Committee Faculty of medicine of Universitas Muhammadiyah Surakarta, after reviewing the research design, state that:

Penelitian dengan judul:
The research proposal with topic:

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN SEMBUKAN (*Paederia scandens* (Lour) Merr) DAN PENGARUH WAKTU PENGGUNAAN TERHADAP KEAMANAN PADA LAMBUNG

Peneliti:
The researcher:


Nama/ Name : Dwi Endang Febriyanti

Alamat/ Address : Jl. Praon RW 07 RT 07 Nusukan Surakarta

Institusi/ Institution : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Telah memenuhi deklarasi Helsinki 1975 dan Pedoman nasional etik penelitian kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004
Has met the declaration of Helsinki 1975 and national health research ethics Department of Health of the Republic of Indonesia in 2004

dan dinyatakan lolos etik
and ethically approve

Surakarta,
 Ketua/Chairman,

 Prof. Dr. dr. EM. Sutrisna, M.Kes.

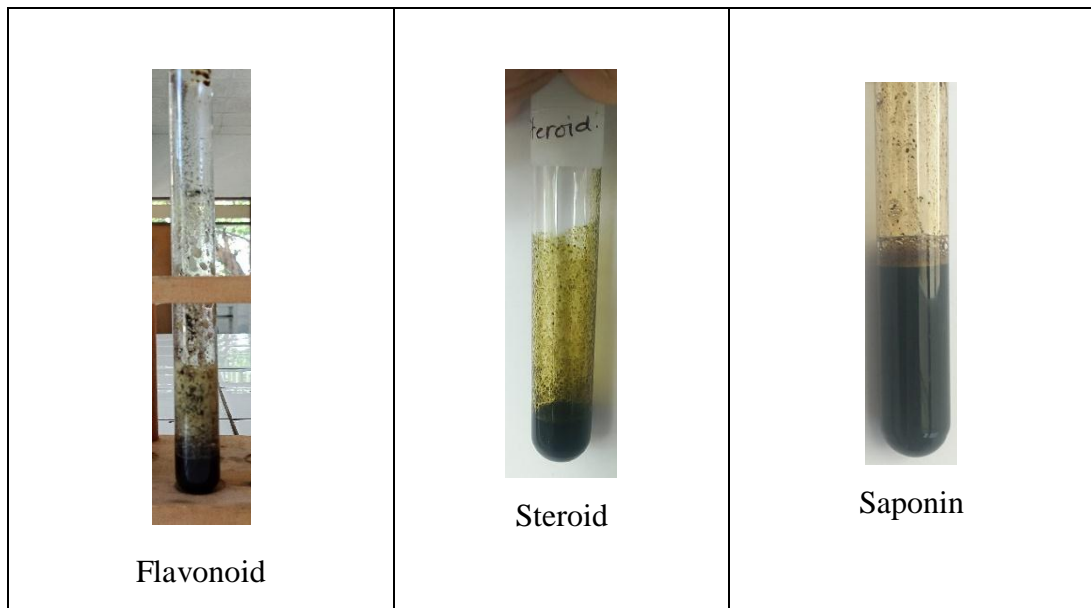


Lampiran 3. Foto tanaman sembukan, daun sembukan, serbuk daun sembukan, dan ekstrak daun sembukan.

 <p data-bbox="443 734 707 768">Tanaman sembukan</p>	 <p data-bbox="1015 734 1227 768">Daun sembukan</p>
 <p data-bbox="427 1227 727 1261">Serbuk daun sembukan</p>	 <p data-bbox="967 1227 1278 1261">Ekstrak daun sembukan</p>

Lampiran 4. Foto identifikasi senyawa

 <p data-bbox="491 1787 671 1821">Minyak atsiri</p>	 <p data-bbox="1059 1771 1174 1805">Alkaloid</p>
--	---



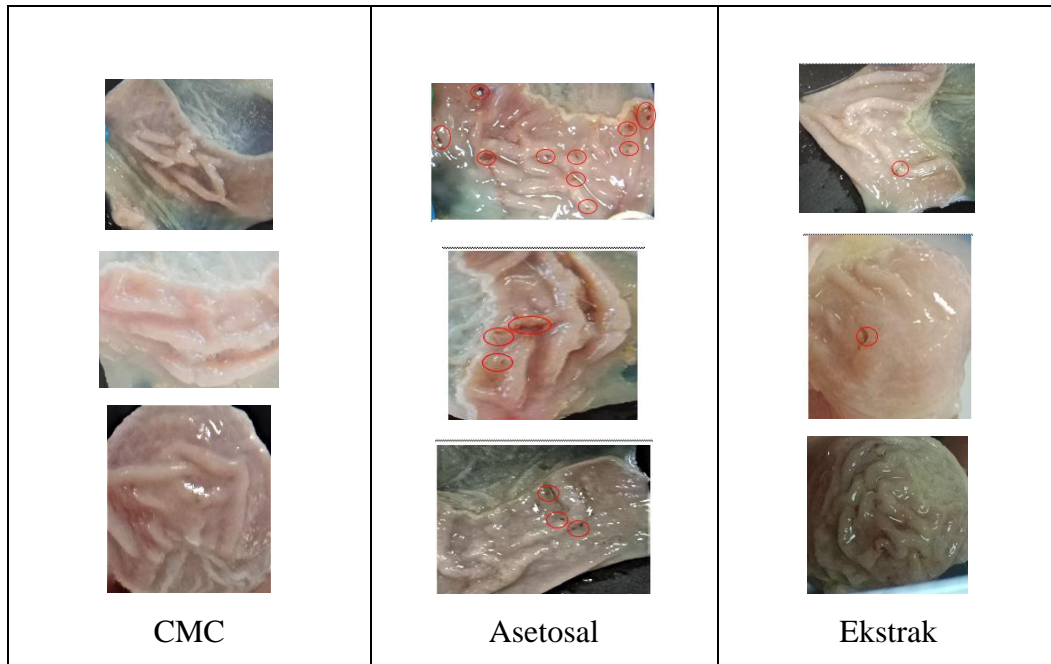
Lampiran 5. Foto larutan stok



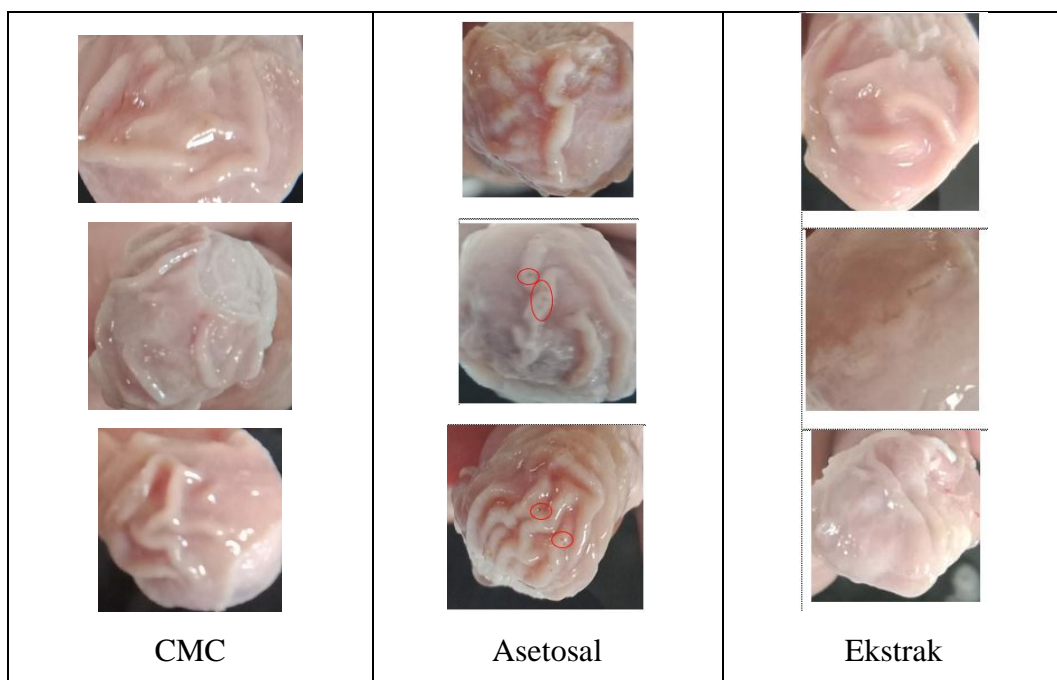
Lampiran 6. Foto uji antiinflamasi



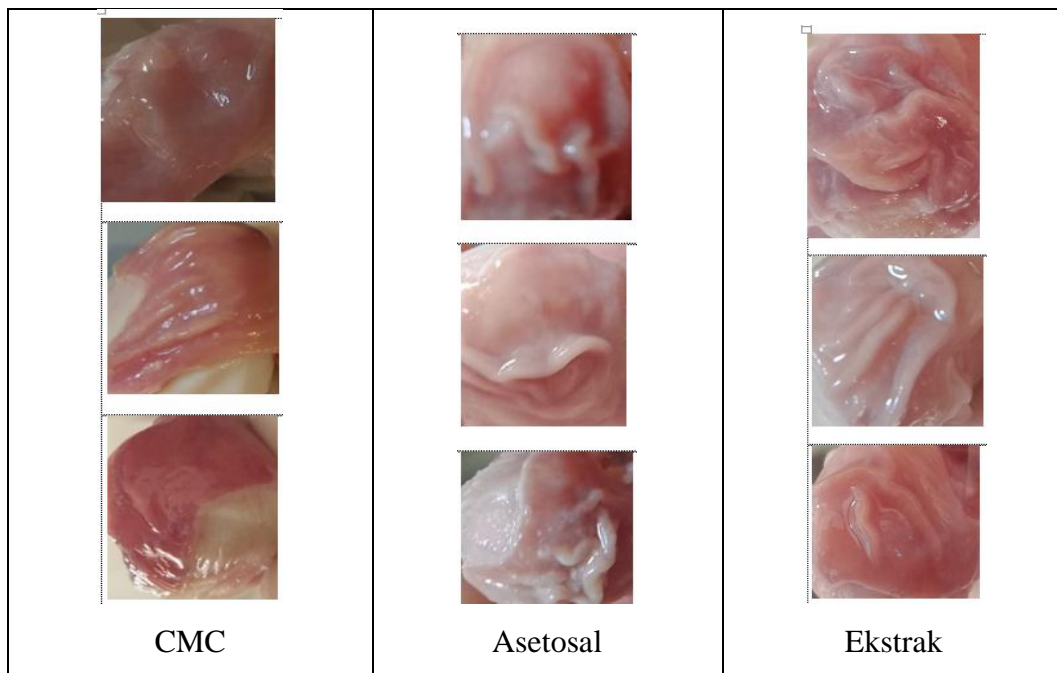
Lampiran 7. Foto makroskopis organ lambung lama induksi 10 hari



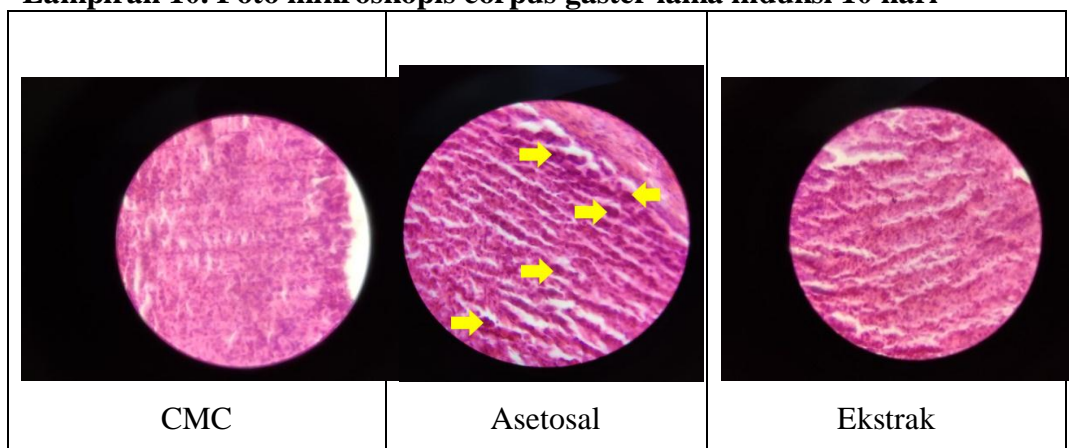
Lampiran 8. Foto makroskopis organ lambung lama induksi 15 hari



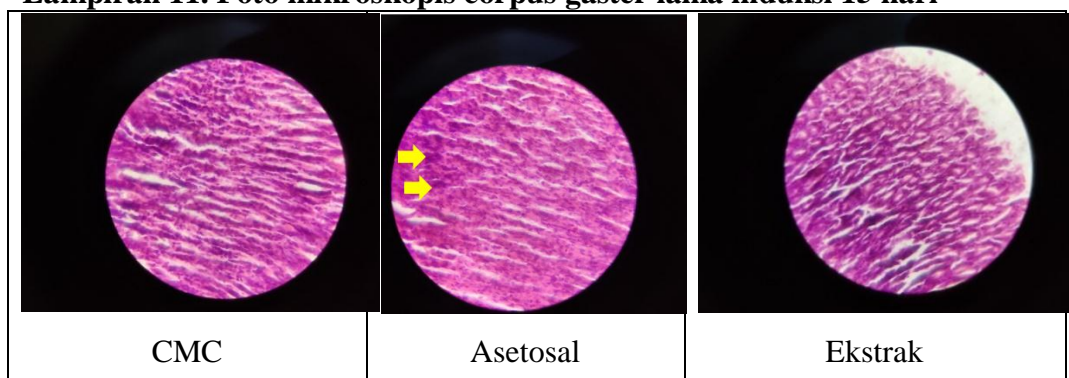
Lampiran 9. Foto makroskopis organ lambung lama induksi 20 hari



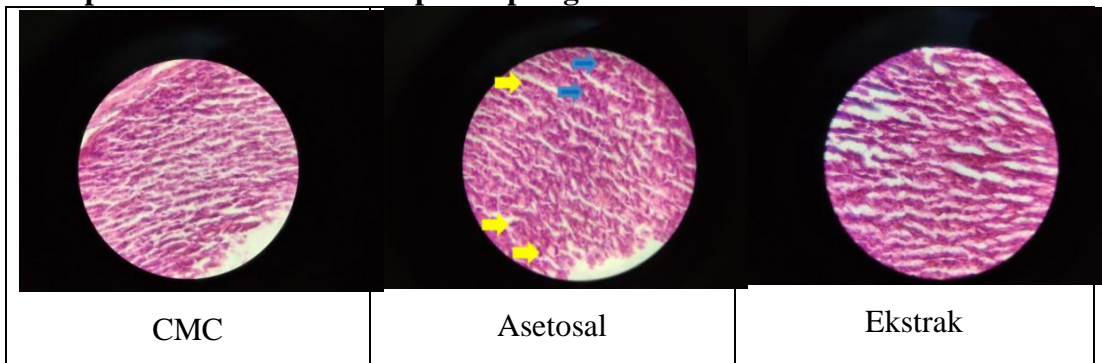
Lampiran 10. Foto mikroskopis corpus gaster lama induksi 10 hari



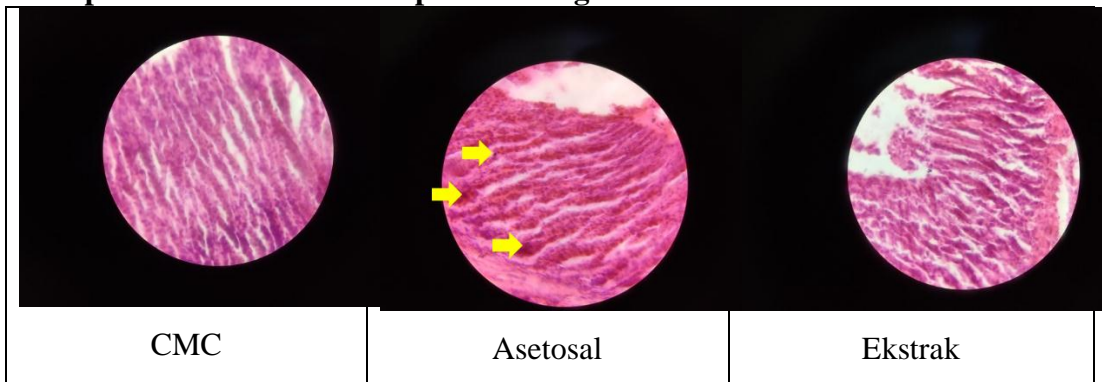
Lampiran 11. Foto mikroskopis corpus gaster lama induksi 15 hari



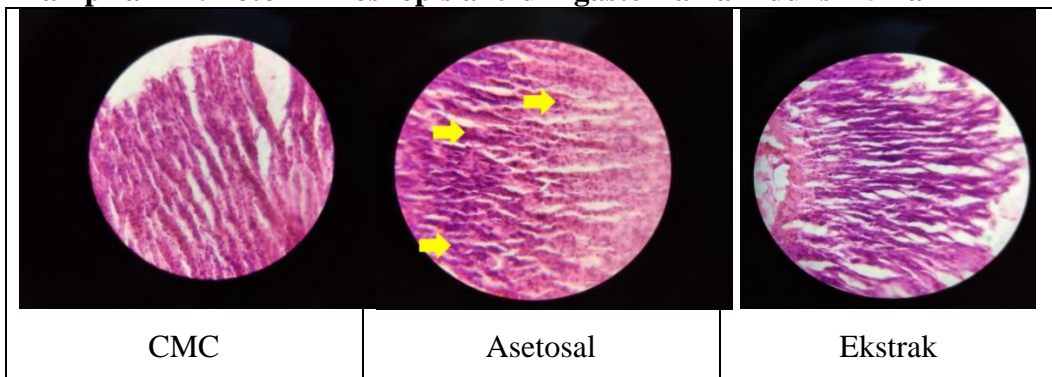
Lampiran 12. Foto mikroskopis corpus gaster lama induksi 20 hari



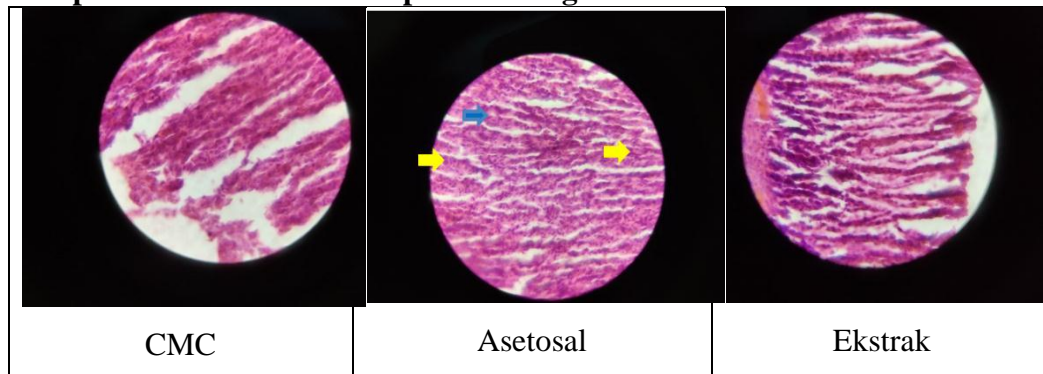
Lampiran 13. Foto mikroskopis antrum gaster lama induksi 10 hari




Lampiran 14. Foto mikroskopis antrum gaster lama induksi 15 hari



Lampiran 15. Foto mikroskopis antrum gaster lama induksi 20 hari



Keterangan:
 = Infiltrasi mononuklear

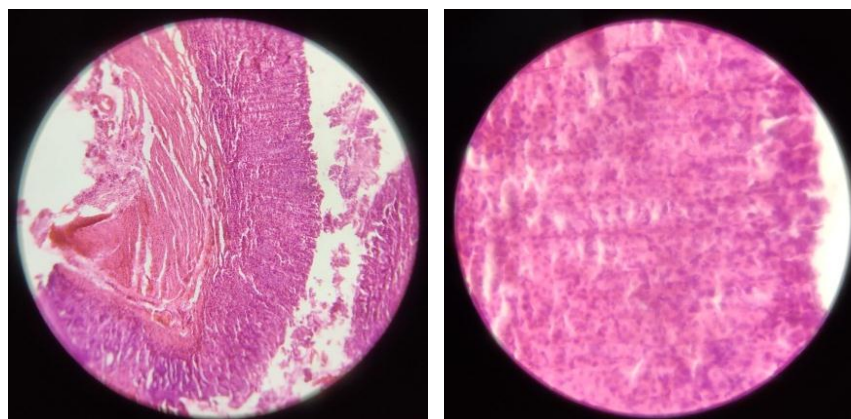
 = Folikel Limfoid

Lampiran 16. Hasil pengamatan histologis organ lambung

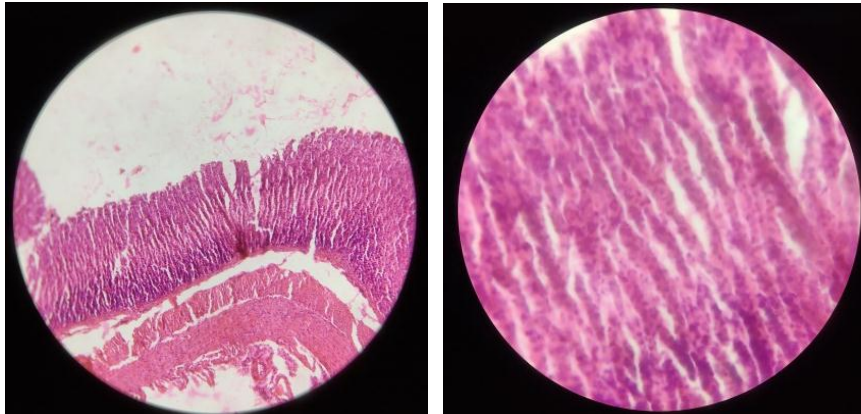
CMC

Preparat	Grading		
	Corpus	Antrum	Grading Akhir
CMC 1 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 1 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 1 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 2 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 2 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 2 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 3 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 3 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
CMC 3 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0

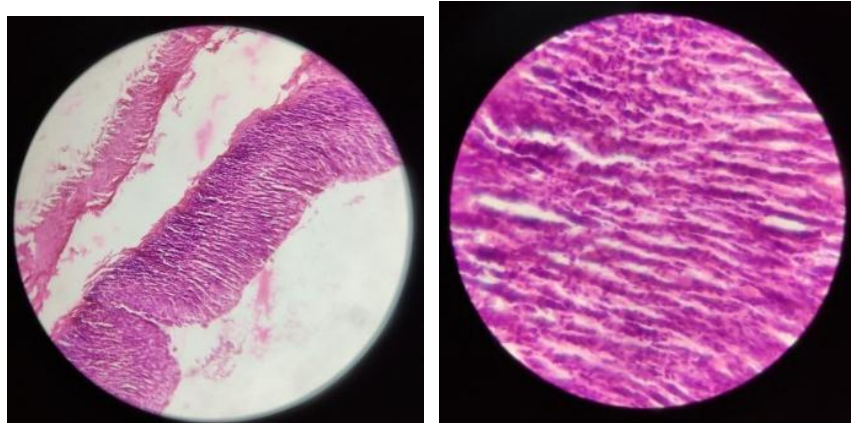
Pengamatan Preparat



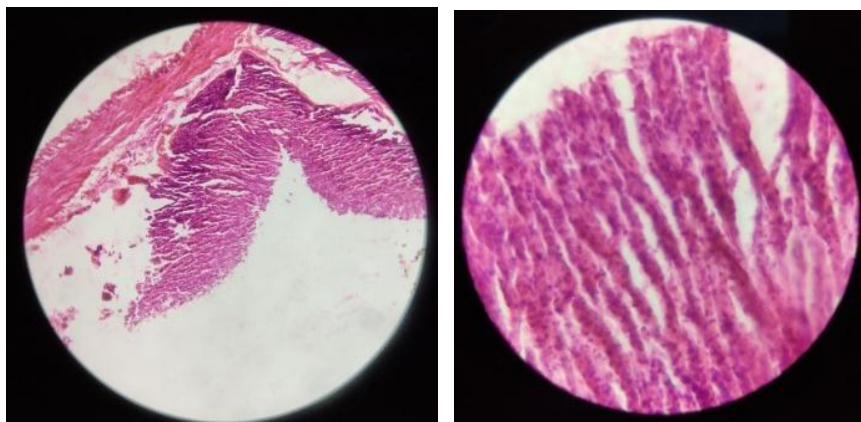
CMC 1 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



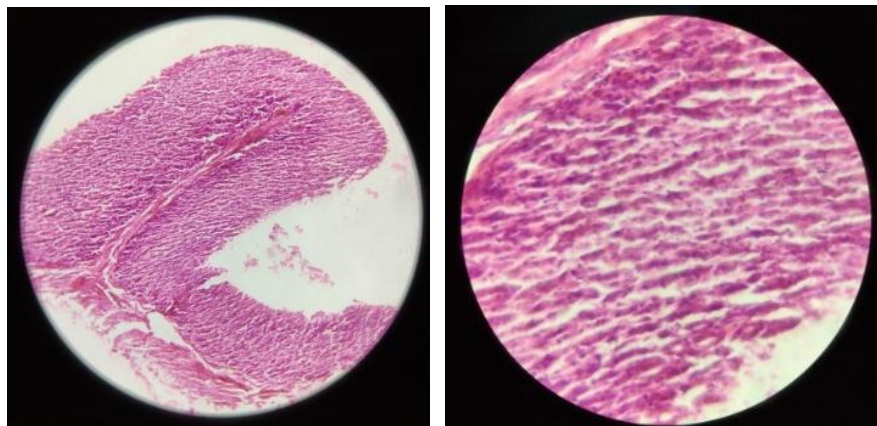
CMC 1 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



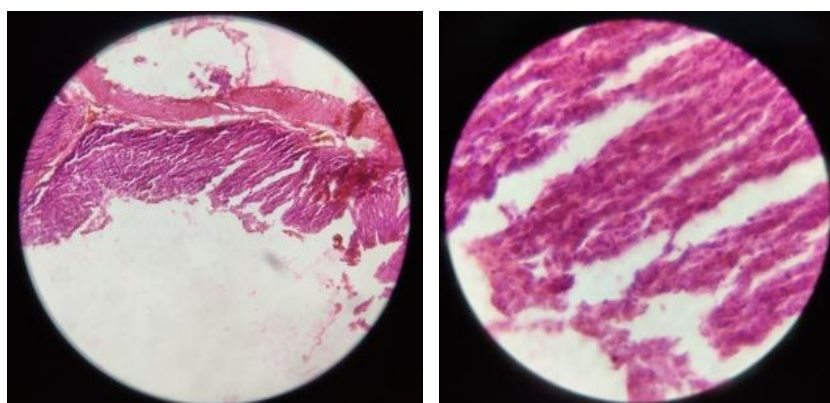
CMC 2 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



CMC 2 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



CMC 3 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x

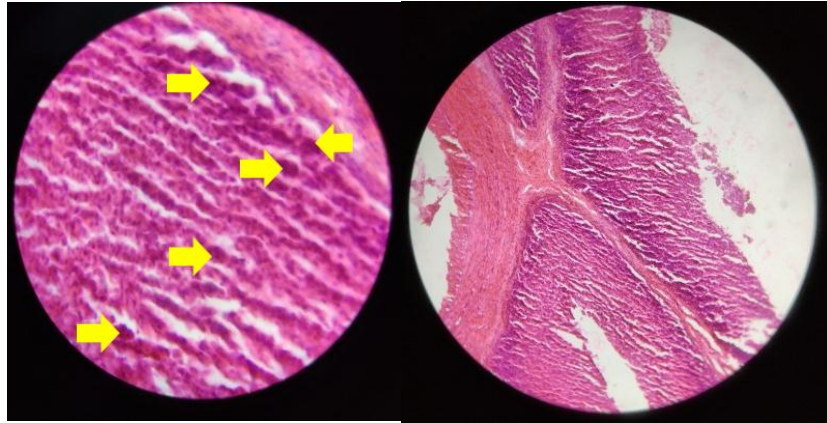


CMC 3 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 40

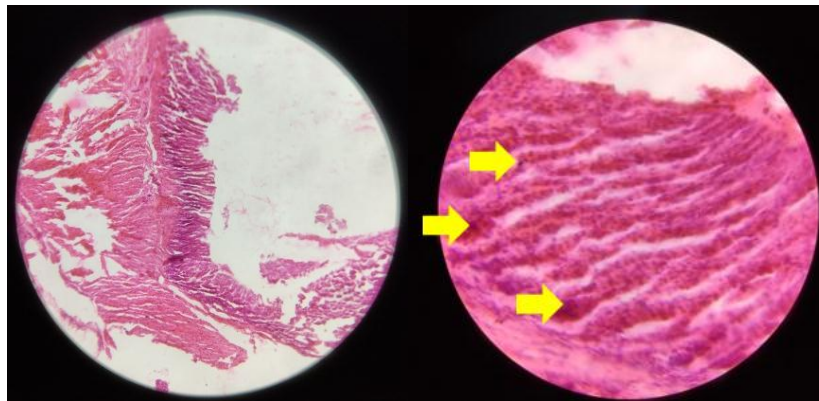
ASETOSAL

Preparat	Grading		
	Corpus	Antrum	Grading Akhir
Asetosal 1 - 1	Grade 2	Grade 1	Grade II
Asetosal 1 - 2	Grade 2	Grade 2	Grade III
Asetosal 1 - 3	Grade 2	Grade 1	Grade II
Asetosal 2 - 1	Grade 2	Grade 2	Grade III
Asetosal 2 - 2	Grade 2	Grade 2	Grade III
Asetosal 2 - 3	Grade 2	Grade 1	Grade II
Asetosal 3 - 1	Grade 3	Grade 3	Grade IV
Asetosal 3 - 2	Grade 2	Grade 3	Grade III
Asetosal 3 - 3	Grade 3	Grade 3	Grade IV

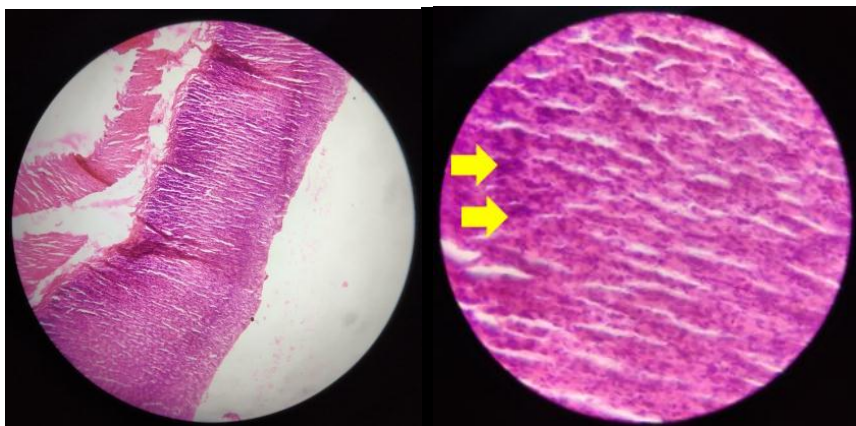
Pengamatan Preparat



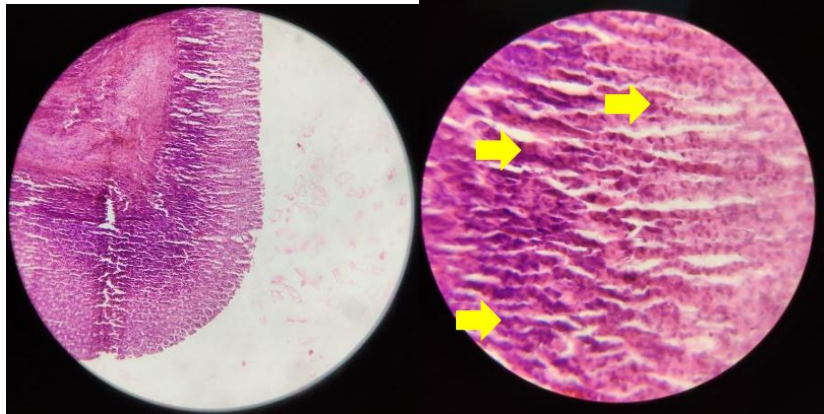
Asetosal 1 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



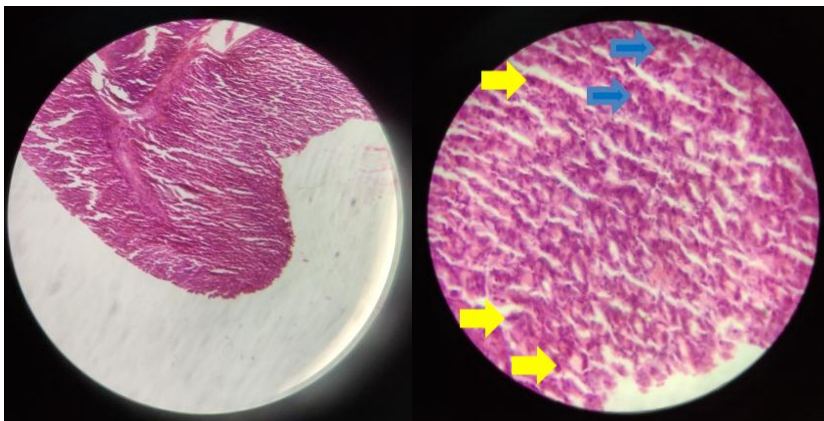
Asetosal 1 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



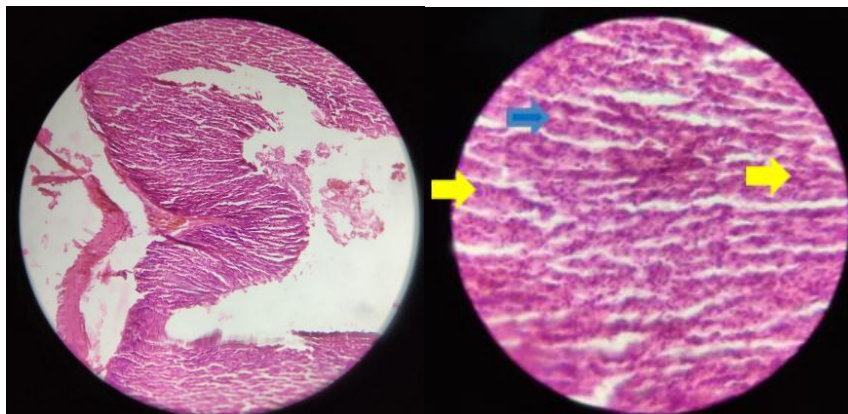
Asetosal 2 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Asetosal 2 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Asetosal 3 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Asetosal 3 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x

Keterangan :

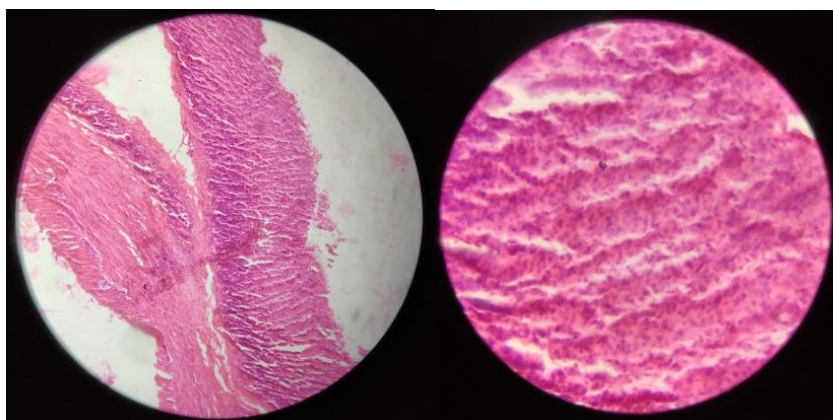
➡ Infiltrasi mononuklear

➡ Folikel Limfoid

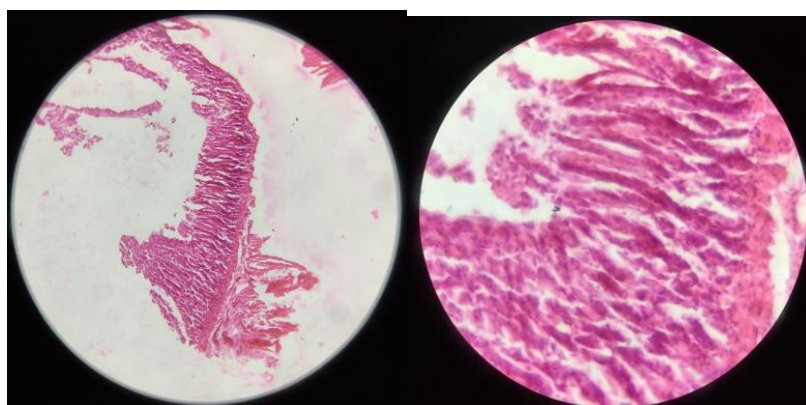
EKSTRAK

Preparat	Grading		
	Corpus	Antrum	Grading Akhir
Ekstrak 1 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 1 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 1 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 2 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 2 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 2 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 3 - 1	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 3 - 2	Grade 0	Grade 0	Grade 0
Ekstrak 3 - 3	Grade 0	Grade 0	Grade 0

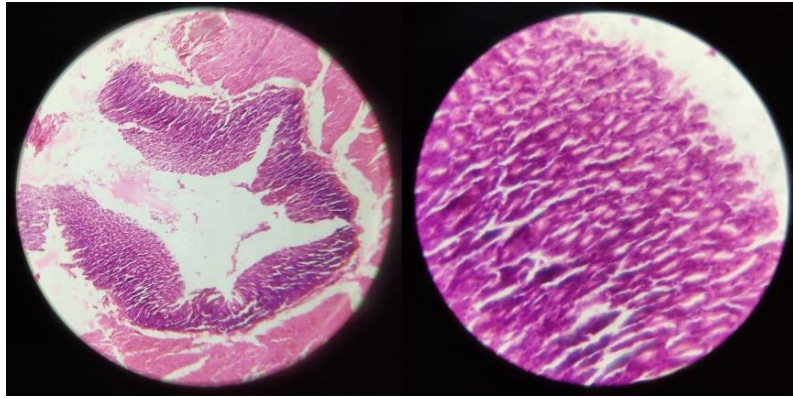
Pengamatan Preparat



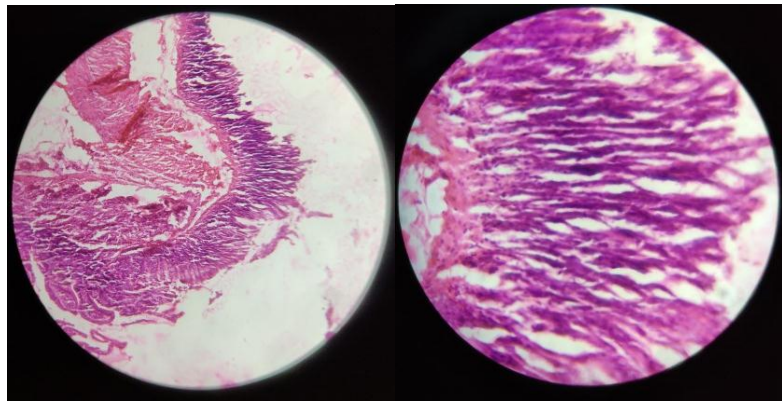
Ekstrak 1 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



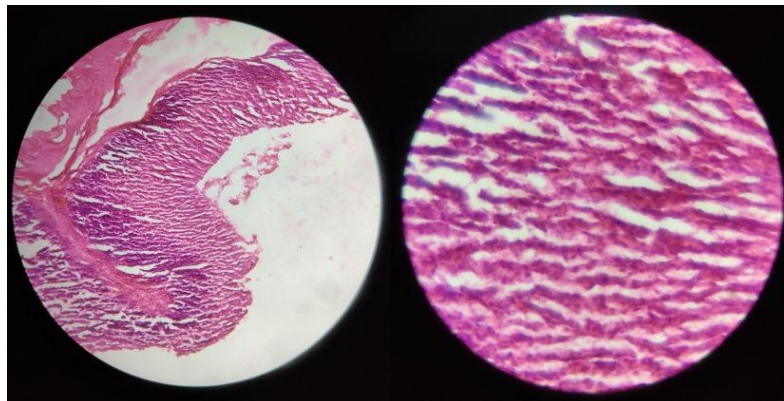
Ekstrak 1 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



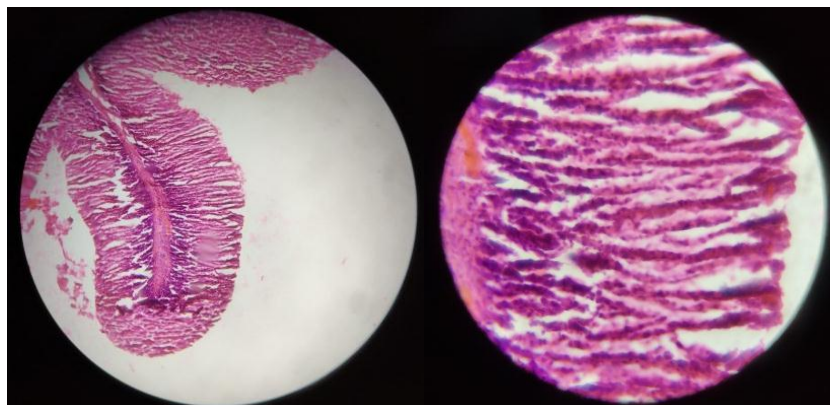
Ekstrak 2 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Ekstrak 2 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Ekstrak 3 – Corpus Gaster Perbesaran 100x dan 400x



Ekstrak 3 – Antrum Gaster Perbesaran 100x dan 400x

Lampiran 17. Derajat inflamasi pada Lambung (Sydney Grading)

		CORPUS			
		No Inflammation (G0)	Mild Inflammation (G1)	Moderate Inflammation (G2)	Severe Inflammation (G3)
A N T R U M	No Inflammation (G0)	GRADE 0	GRADE I	GRADE II	GRADE II
	Mild Inflammation (G1)	GRADE I	GRADE II	GRADE II	GRADE III
	Moderate Inflammation (G2)	GRADE II	GRADE II	GRADE III	GRADE IV
	Severe Inflammation (G3)	GRADE II	GRADE III	GRADE IV	GRADE IV

Keterangan :

Grade 0 (Tidak terdapat tanda inflamasi)

Grade 1 (Inflamasi Ringan)

Terdapat infiltrasi ringan sel mononuklear di dalam mukosa maupun lamina propia
Dapat ditemukan sel plasma di dalam lamina propia

Grade 2 (Inflamasi Sedang)

Terdapat infiltrasi sedang sel mononuklear di dalam mukosa maupun lamina propia
Terdapat inflamasi pada kriptis (kriptitis)

Grade 3 (Inflamasi Berat)

Terdapat infiltrasi berat sel mononuklear di dalam mukosa maupun lamina propia
Terdapat folikel limfoid
Terdapat atrofi pada kelenjar-kelenjar lambung

Lampiran 18. Perhitungan rendemen daun sembukan

1. Rendemen daun kering terhadap daun basah

Bobot daun basah (g)	Bobot simplisia kering (g)	Rendemen (% b/b)
5500	1400	25,45

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot daun kering (g)}}{\text{Bobot daun basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1400 \text{ g}}{5500 \text{ g}} \times 100\% = 25,45 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

2. Rendemen serbuk terhadap daun kering

Bobot simplisia kering (g)	Bobot serbuk simplisia (g)	Rendemen (% b/b)
1400	1200	85,71

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot serbuk (g)}}{\text{Bobot daun kering (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1200 \text{ g}}{1400 \text{ g}} \times 100\% = 85,71 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

3. Rendemen ekstrak terhadap serbuk kering

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
500	107,0	21,40

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak daun sembukan} &= \frac{\text{Bobot ekstrak (g)}}{\text{Bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{107,0 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% = 21,40\% \end{aligned}$$

4. Hasil penetapan kadar air serbuk

Replikasi	Bobot serbuk (g)	Volume air (mL)	Kadar air (% v/b)
1	30,005	2,7	9,00
2	15,035	1,5	9,98
3	15,020	1,2	7,99
Rata-rata ± SD			8,99 ± 0,99

Replikasi I:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot serbuk yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,7 \text{ mL}}{30,005 \text{ g}} \times 100\% = 9,00\% \end{aligned}$$

Replikasi II:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot serbuk yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5 \text{ mL}}{15,035 \text{ g}} \times 100\% = 9,98\% \end{aligned}$$

Replikasi III:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot serbuk yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,2 \text{ mL}}{15,020 \text{ g}} \times 100\% = 7,99\% \end{aligned}$$

5. Hasil penetapan kadar air ekstrak

Replikasi	Bobot ekstrak (g)	Volume air (mL)	Kadar air (% v/b)
1	5,151	0,5	9,71
2	10,030	1,1	10,97
3	10,007	0,9	8,99
Rata-rata ± SD			9,89 ± 1,00

Replikasi I:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot ekstrak yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{0,5 \text{ mL}}{5,151 \text{ g}} \times 100\% = 9,71\% \end{aligned}$$

Replikasi II:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot ekstrak yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,1 \text{ mL}}{10,030 \text{ g}} \times 100\% = 10,97\% \end{aligned}$$

Replikasi III:

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{\text{Volume air yang diperoleh (mL)}}{\text{Bobot ekstrak yang ditimbang (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9 \text{ mL}}{10,007 \text{ g}} \times 100\% = 8,99\% \end{aligned}$$

Lampiran 19. Perhitungan dosis dan penimbangan larutan stok

A. Uji Antiinflamasi

1. Karagenan 0,5%

Karagenan ditimbang sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam 10 mL NaCl 0,9%. Volume injeksi karagenan 0,5% sebanyak 0,1 mL secara subplantar.

2. Kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

CMC Na sebanyak 0,5 g disuspensikan ke dalam air suling sampai 100 mL. Volume pemberian sebanyak 1 mL/tikus.

3. Kontrol positif (Asetosal)

Asumsi dosis manusia per hari = 4.000 mg

Asumsi dosis manusia per satu kali = $\frac{4.000 \text{ mg}}{4} = 1.000 \text{ mg}$

Nilai konversi manusia ke tikus = 0,018/200 g BB

Perhitungan dosis untuk tikus:

$$1.000 \text{ mg} \times 0,018 = 18 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\frac{1.000 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18 \text{ mg} = 90 \text{ mg/kg BB tikus}$$

Perhitungan volume oral untuk 200 g BB tikus:

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 90 \text{ mg / kg BB} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 90 \text{ mg} \\ &= 18 \text{ mg} / 200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume oral (larutan stok 2%)

$$\begin{aligned} 2\% &= \frac{2000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{18 \text{ mg}}{2000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} \\ &= 0,9 \text{ mL} / 200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus:

- Tikus 1, BB 190 g
Volume oral = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 200 g
Volume oral = $\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 187 g
Volume oral = $\frac{187 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$

4. Ekstrak daun sembukan

Perhitungan volume oral untuk 200 g BB tikus:

$$\begin{aligned} \text{Dosis } 250 \text{ mg / kg BB} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 250 \text{ mg} \\ &= 50 \text{ mg} / 200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Volume oral (larutan stok 4 %)

$$4\% = \frac{4000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{50 \text{ mg}}{4000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 1,25 \text{ ml} / 200 \text{ g BB tikus}$$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus:

- Tikus 1, BB 210 g
Volume oral = $\frac{210 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,3 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 186 g
Volume oral = $\frac{186 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 190 g
Volume oral = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$

Lampiran 20. Hasil uji aktivitas antiinflamasi

CMC Na (kontrol negatif)								AUC
Replikasi	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T24	
1	0.010	0.040	0.048	0.055	0.052	0.050	0.045	0.188
2	0.010	0.045	0.045	0.050	0.050	0.050	0.040	0.179
3	0.010	0.040	0.045	0.052	0.052	0.050	0.045	0.188
Rata-rata	0.010	0.042	0.046	0.052	0.051	0.050	0.043	0.185
SD	0.000	0.003	0.002	0.003	0.001	0.000	0.003	-
Asetosal (kontrol positif)								AUC
Replikasi	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T24	
1	0.010	0.040	0.045	0.048	0.045	0.042	0.029	0.146
2	0.020	0.040	0.045	0.045	0.040	0.040	0.030	0.144
3	0.010	0.040	0.045	0.050	0.040	0.040	0.028	0.141
Rata-rata	0.013	0.040	0.045	0.048	0.042	0.041	0.029	0.144
SD	0.006	0.000	0.000	0.003	0.003	0.001	0.001	-
Ekstrak daun sembukan								AUC
Replikasi	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T24	
1	0.010	0.050	0.050	0.050	0.048	0.048	0.036	0.171
2	0.010	0.040	0.040	0.045	0.040	0.040	0.035	0.150
3	0.020	0.040	0.040	0.040	0.040	0.040	0.035	0.150
Rata-rata	0.013	0.043	0.043	0.045	0.043	0.043	0.035	0.157
SD	0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005	0.001	-

Perhitungan Persentase Volume Edema

$$\% \text{ VE} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100\%$$

VE = volume radang

V_t = volume kaki tikus pada waktu t

V_o = volume kaki tikus pada waktu nol

CMC Na (kontrol negatif):

$$\% V1 = \frac{0.042-0.010}{0.010} \times 100\% = 320\%$$

$$\% V2 = \frac{0.046-0.010}{0.010} \times 100\% = 360\%$$

$$\% V3 = \frac{0.052-0.010}{0.010} \times 100\% = 420\%$$

$$\% V4 = \frac{0.051-0.010}{0.010} \times 100\% = 410\%$$

$$\% V5 = \frac{0.050-0.010}{0.010} \times 100\% = 400\%$$

$$\% V24 = \frac{0.043-0.010}{0.010} \times 100\% = 330\%$$

Rata-rata persentase radang:

$$\frac{320+360+420+410+400+330}{6} = 373,3\%$$

Asetosal (kontrol positif):

$$\% V1 = \frac{0.040-0.013}{0.013} \times 100\% = 207,7\%$$

$$\% V2 = \frac{0.045-0.013}{0.013} \times 100\% = 246,2\%$$

$$\% V3 = \frac{0.048-0.013}{0.013} \times 100\% = 269,2\%$$

$$\% V4 = \frac{0.042-0.013}{0.013} \times 100\% = 223,1\%$$

$$\% V5 = \frac{0.041-0.013}{0.013} \times 100\% = 215,4\%$$

$$\% V24 = \frac{0.029-0.013}{0.013} \times 100\% = 123,1\%$$

Rata-rata persentase radang:

$$\frac{207,7+246,2+269,2+223,1+215,4+123,1}{6} = 214,1\%$$

Ekstrak:

$$\% V1 = \frac{0.043-0.013}{0.013} \times 100\% = 230,8\%$$

$$\% V2 = \frac{0.043-0.013}{0.013} \times 100\% = 230,8\%$$

$$\% V3 = \frac{0.045-0.013}{0.013} \times 100\% = 246,2\%$$

$$\% V4 = \frac{0.043-0.013}{0.013} \times 100\% = 230,8\%$$

$$\% V5 = \frac{0.043-0.013}{0.013} \times 100\% = 230,8\%$$

$$\% V24 = \frac{0.035-0.013}{0.013} \times 100\% = 169,2\%$$

Rata-rata persentase radang:

$$\frac{230,8+230,8+246,2+230,8+230,8+169,2}{6} = 223,1\%$$

Perhitungan Persentase Inhibisi Radang

$$\% \text{ inhibisi radang} = \frac{R-S}{S} \times 100\%$$

Vt = volume kaki tikus pada waktu t

Vo = volume kaki tikus pada waktu nol

R = radang kelompok kontrol negatif rata-rata

S = radang kelompok perlakuan rata-rata

$$\% \text{ inhibisi radang ekstrak} = \frac{373,3-223,1}{223,1} \times 100\% = 67,32\%$$

$$\% \text{ inhibisi radang asetosal} = \frac{373,3-214,1}{214,1} \times 100\% = 74,36\%$$

Data AUC

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

Kontrol negatif (CMC Na)**Replikasi 1**

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,040}{2} (1-0) = 0,025$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,048}{2} (2-1) = 0,044$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,048+0,055}{2} (3-2) = 0,052$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,055+0,052}{2} (4-3) = 0,054$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,055+0,050}{2} (5-4) = 0,051$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,050+0,045}{2} (24-5) = 0,903$$

Rata-rata AUC = 0,188

Replikasi 2

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,045}{2} (1-0) = 0,028$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,045+0,045}{2} (2-1) = 0,045$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,045+0,050}{2} (3-2) = 0,048$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,050+0,050}{2} (4-3) = 0,050$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,050+0,050}{2} (5-4) = 0,050$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,050+0,040}{2} (24-5) = 0,855$$

Rata-rata AUC = 0,179

Replikasi 3

$$AUC_0^1 = \frac{0,020+0,040}{2} (1-0) = 0,030$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,045}{2} (2-1) = 0,043$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,045+0,052}{2} (3-2) = 0,049$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,052+0,052}{2} (4-3) = 0,052$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,052+0,050}{2} (5-4) = 0,051$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,050+0,045}{2} (24-5) = 0,903$$

Rata-rata AUC = 0,188

Kontrol positif (Asetosal)

Replikasi 1

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,040}{2} (1-0) = 0,025$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,045}{2} (2-1) = 0,043$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,045+0,048}{2} (3-2) = 0,047$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,048+0,045}{2} (4-3) = 0,047$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,045+0,042}{2} (5-4) = 0,044$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,042+0,029}{2} (24-5) = 0,675$$

Rata-rata AUC = 0,146

Replikasi 2

$$AUC_0^1 = \frac{0,020+0,040}{2} (1-0) = 0,030$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,045}{2} (2-1) = 0,043$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,045+0,045}{2} (3-2) = 0,045$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,045+0,040}{2} (4-3) = 0,043$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,040+0,040}{2} (5-4) = 0,040$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,040+0,030}{2} (24-5) = 0,665$$

Rata-rata AUC = 0,144

Replikasi 3

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,040}{2} (1-0) = 0,025$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,045}{2} (2-1) = 0,043$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,045+0,050}{2} (3-2) = 0,048$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,050+0,040}{2} (4-3) = 0,045$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,040+0,040}{2} (5-4) = 0,040$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,040+0,028}{2} (24-5) = 0,646$$

Rata-rata AUC = 0,141

Ekstrak

Replikasi 1

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,050}{2} (1-0) = 0,030$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,050+0,050}{2} (2-1) = 0,050$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,050+0,050}{2} (3-2) = 0,050$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,050+0,048}{2} (4-3) = 0,049$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,048+0,048}{2} (5-4) = 0,048$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,048+0,036}{2} (24-5) = 0,798$$

Rata-rata AUC = 0,171

Ekstrak

Replikasi 2

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,040}{2} (1-0) = 0,025$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,040}{2} (2-1) = 0,040$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,040+0,045}{2} (3-2) = 0,043$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,045+0,040}{2} (4-3) = 0,043$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,040+0,040}{2} (5-4) = 0,040$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,040+0,035}{2} (24-5) = 0,713$$

Rata-rata AUC = 0,150

Ekstrak

Replikasi 3

$$AUC_0^1 = \frac{0,010+0,040}{2} (1-0) = 0,025$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,040+0,040}{2} (2-1) = 0,040$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,040+0,040}{2} (2-1) = 0,040$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,040+0,040}{2} (2-1) = 0,040$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,040+0,040}{2} (2-1) = 0,040$$

$$AUC_5^{24} = \frac{0,040+0,035}{2} (24-5) = 0,713$$

Rata-rata AUC = 0,150

B. Uji Histopatologi

1. Kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

CMC Na sebanyak 0,5 g disuspensikan ke dalam air suling sampai 100 mL.

Volume pemberian sebanyak 1 mL/tikus.

2. Kontrol positif (Asetosal)

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 10 hari:

- Tikus 1, BB 190 g
Volume oral = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$

- Tikus 2, BB 200 g
Volume oral = $\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 187 g
Volume oral = $\frac{187 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 15 hari:

- Tikus 1, BB 185 g
Volume oral = $\frac{185 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 180 g
Volume oral = $\frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 190 g
Volume oral = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 20 hari:

- Tikus 1, BB 195 g
Volume oral = $\frac{195 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 184 g
Volume oral = $\frac{184 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,8 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 205 g
Volume oral = $\frac{205 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mL} = 0,9 \text{ mL}$

3. Ekstrak daun sembukun

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 10 hari:

- Tikus 1, BB 210 g
Volume oral = $\frac{210 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,3 \text{ mL}$

- Tikus 2, BB 186 g
Volume oral = $\frac{186 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 190 g
Volume oral = $\frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 15 hari:

- Tikus 1, BB 200 g
Volume oral = $\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,3 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 198 g
Volume oral = $\frac{198 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 195 g
Volume oral = $\frac{195 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,2 \text{ mL}$

Volume pemberian untuk masing-masing tikus kelompok perlakuan 20 hari:

- Tikus 1, BB 180 g
Volume oral = $\frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,1 \text{ mL}$
- Tikus 2, BB 210 g
Volume oral = $\frac{210 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,3 \text{ mL}$
- Tikus 3, BB 200 g
Volume oral = $\frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,25 \text{ mL} = 1,3 \text{ mL}$

Lampiran 21. Hasil analisis statistik

1. Output Antiinflamasi

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Hasil_Uji	Kontrol_negatif	.324	7	.248	.522	7	.224
	Kontrol positif	.391	7	.205	.693	7	.594
	Ekstrak	.481	7	.200	.781	7	.382

ANOVA

Hasil Uji

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.017	2	.009	4.170	.003
Within Groups	.132	18	.007		
Total	.149	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil_Uji

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol_negatif	Kontrol positif	.00417	.00794	.001	-.0165	.0248
	Ekstrak	.00450	.00794	.003	-.0161	.0251
Kontrol positif	Kontrol_negatif	-.00417	.00794	1.000	-.0248	.0165
	Ekstrak	.00033	.00794	.299	-.0203	.0210
Ekstrak	Kontrol_negatif	-.00450	.00794	.001	-.0251	.0161
	Kontrol positif	-.00033	.00794	.299	-.0210	.0203

2. Output Lambung

ANOVA (Kontrol negatif)

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.222	2	.111	1.000	.422
Within Groups	.667	6	.111		
Total	.889	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil

Tukey HSD

(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Hari_10	Hari_15	.33333	.27217	.483	-.5017	1.1684
	Hari_20	.33333	.27217	.483	-.5017	1.1684
Hari_15	Hari_10	-.33333	.27217	.483	-1.1684	.5017
	Hari_20	.00000	.27217	1.000	-.8351	.8351
Hari_20	Hari_10	-.33333	.27217	.483	-1.1684	.5017
	Hari_15	.00000	.27217	1.000	-.8351	.8351

ANOVA (Kontrol Positif)

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.667	2	1.333	6.000	.037
Within Groups	1.333	6	.222		
Total	4.000	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil

Tukey HSD

(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Hari_10	Hari_15	.66667	.38490	.269	-.5143	1.8476
	Hari_20	1.33333*	.38490	.031	.1524	2.5143
Hari_15	Hari_10	-.66667	.38490	.269	-1.8476	.5143
	Hari_20	.66667	.38490	.269	-.5143	1.8476
Hari_20	Hari_10	-1.33333*	.38490	.031	-2.5143	-.1524
	Hari_15	-.66667	.38490	.269	-1.8476	.5143

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

ANOVA (Ekstrak)

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.889	2	.444	4.000	.079
Within Groups	.667	6	.111		
Total	1.556	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil

Tukey HSD

(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Hari_10	Hari_15	.66667	.27217	.109	-.1684	1.5017
	Hari_20	.66667	.27217	.109	-.1684	1.5017
Hari_15	Hari_10	-.66667	.27217	.109	-1.5017	.1684
	Hari_20	.00000	.27217	1.000	-.8351	.8351
hari_20	Hari_10	-.66667	.27217	.109	-1.5017	.1684
	Hari_15	.00000	.27217	1.000	-.8351	.8351