

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA
(*Pisonia grandis* R.Br) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENAN
DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG**



Oleh:

**Serliandi
20144103A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA
(*Pisonia grandis* R.Br) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENAN
DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG**



Oleh:

**Serliandi
20144103A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

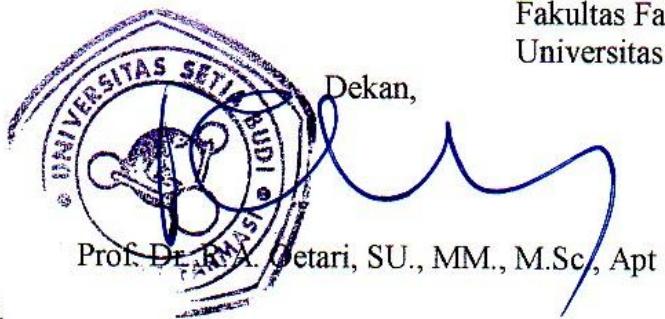
AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA (*Pisonia grandis* R.Br) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG

Oleh :

Serliandi
20144103A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 29 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Pembimbing,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "M.P.R." or a similar variation.

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

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

Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt
2. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Bukanlah suatu aib jika kamu gagal dalam suatu usaha,
yang merupakan aib adalah jika kamu tidak bangkit dari
kegagalan itu
(Ali bin Abu Thalib)*

Kupersembahkan skripsi ini kepada :

Sujud serta syukur kepada Allah SWT.

Atas segala karuniaNya sehingga saya selalu sehat, semangat dan diberikan kemudahan untuk menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad SAW, manusia terbaik yang selalu menjadi sumber inspirasi saya untuk selalu menjadi lebih baik disegala aspek kehidupan.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi

Ibunda dan Ayahanda tercinta

Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu dan Ayah tercinta yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tidak mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Ayah bahagia karna kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih. Untuk Ibu dan Ayah yang selalu membuatku termotivasi dan selalu menyirami kasih sayang, selalu mendoakan, selalu menasehatiku menjadi lebih baik.

PERNYATAAN

Saya menyatakan skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi lain dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain. Kecuali yang secara tertulis diacu didalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiblakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis ataupun hukum.

Surakarta, Juli 2018



Serliandi

KATA PENGANTAR

Assalamu alaikum. Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat, karunia, rahmat, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam tetap tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW beserta pengikutnya. Skripsi ini berjudul **“AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA (*Pisonia grandis* R.Br) YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG”** yang disusun demi memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Universitas Setia Budi, Surakarta. Saya harapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat umum dan bagi ilmu pengetahuan bidang obat tradisional khususnya.

Keberhasilan penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari doa dan dukungan berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa berterimakasih yang tulus kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu., M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan dukungan, dorongan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bantuan, nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Kedua orang tuaku tercinta (Supriadi dan Nuraini) yang telah memberikan dukungan moril maupun materi serta do'a yang tiada henti untuk kesuksesan saya.

7. Sahabat-sahabatku Rika, Dian, Jeng-jeng, Kombeng, Maah, Septy, Tari, Pitry, dan Henny.
8. Teman seperjuangan skripsi ku Rika, Oya', Sopan Sopian , Firdaus, Njay, dan Satria
9. Teman-teman angkatan 2014 Universitas Setia Budi. Khususnya teman-teman FKK 1.
10. Semua pihak yang telah membantu berjalannya skripsi saya. Terimakasih telah ikhlas membantu saya.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Kol Banda	5
1. Sistematika	5
2. Nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Kandungan kimia	6
4.1 Flavonoid	6
4.2 Saponin	7
4.3 Tanin	7
4.4 Steroid/Terpenoid	7
5. Kegunaan Tanaman	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian Simplisia	8
2. Pengumpulan simplisia	9
3. Pencucian dan Pengeringan Simplisia	9

4.	Penyimpanan simplisia	9
C.	Ekstrak.....	10
1.	Pengertian ekstrak	10
2.	Merasasi.....	10
3.	Pelarut.....	10
D.	Inflamasi	11
1.	Definisi Inflamasi	11
2.	Klasifikasi inflamasi.....	12
2.1	Inflamasi akut.....	12
2.2	Respon imun.	12
2.3	Inflamasi kronis.....	12
3.	Mekanisme inflamasi	12
4.	Mediator-mediator inflamasi	14
4.1	<i>Rubor</i> (kemerahan).....	14
4.2	<i>Tumor</i> (pembengkakan).....	15
4.3	<i>Kalor</i> (panas).	15
4.4	<i>Dolor</i> (nyeri).	15
4.5	<i>Functiolaesa</i> (hilangnya fungsi).	15
E.	Obat-obat Antiinflamasi	15
1.	Kortikosteroid	16
2.	AINS (Anti Inflamasi Non Steroid)	16
2.1	Natrium Diklofenak.....	17
2.2	Selekoksib.	17
F.	Metode Uji	18
1.	Metode edema kaki tikus	18
2.	Metode pembentukan eritema	18
3.	Metode iritasi dengan panas	18
4.	Metode pembentukan kantong granuloma.....	19
G.	Karagenan.....	19
H.	Pemeriksaan Keamanan Lambung	20
1.	Histologi Lambung.....	20
2.	Kerusakan pada lambung.....	21
3.	Pemeriksaan makroskopis lambung	23
4.	Pengamatan mikroskopis histopatologi lambung	23
4.1	Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan bouin.....	23
4.2	Tahap dehidrasi.	24
4.3	Tahap <i>embedding</i> dan pembuatan blok paraffin.	24
4.4	Tahap deparafinasi dan rehidrasi.	24
4.5	Tahap pembacaan sampel.	24
I.	Hewan Percobaan.....	24
1.	Sistematika tikus putih	25
2.	Karakteristik.....	25
3.	Jenis kelamin.....	25
4.	Pengambilan dan pemegangan.....	26
5.	Perlakuan dan penyuntikan.....	26
J.	Landasan Teori.....	26

K. Hipotesis	28
BAB III METODE PENELITIAN	29
A. Populasi dan Sampel	29
1. Populasi	29
2. Sampel	29
B. Variabel Penelitian	29
1. Identifikasi variabel utama	29
C. Klasifikasi variabel utama	29
D. Definisi Operasional Variabel Utama	30
E. Alat dan Bahan.....	31
1. Alat	31
2. Bahan.....	31
F. Hewan Uji.....	31
G. Jalannya Penelitian.....	32
1. Determinasi tanaman kol banda	32
2. Pengambilan sampel daun kol banda	32
3. Pembuatan ekstrak etanol daun kol banda.....	32
4. Penetapan kadar air	33
5. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kol banda.....	33
5.1 Flavonoid.....	33
5.2 Steroid.....	33
5.3 Tanin.....	33
5.4 Saponin.....	33
6. Uji bebas alkohol ekstrak daun kol banda	34
7. Pembuatan larutan	34
7.1 Suspensi CMC-Na 0,5 %	34
7.2 Larutan lambda karagenan 1%	34
7.3 Pembuatan suspensi natrium diklofenak 1%	34
7.4 Pembuatan suspensi selekoksib 1%	34
7.5 Suspensi metilprednisolon	35
7.6 Suspensi ekstrak daun kol banda.	35
8. Penentuan Dosis	35
8.1 Dosis natrium diklofenak.....	35
8.2 Dosis selekoksib.....	35
8.3 Dosis sediaan uji.	36
9. Pengujian aktivitas antiinflamasi	36
10. Pengujian keamanan lambung	37
11. Perlakuan hewan uji pasca bedah.....	38
12. Pemeriksaan histopatologi	38
12.1 Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan bouin....	38
12.2 Tahap dehidrasi	38
12.3 Tahap <i>embedding</i> dan Pembuatan blok paraffin.....	38
12.4 Tahap deparafinasi dan rehidrasi.	39
12.5 Tahap pembacaan sampel.	39

H. Analisis Data.....	39
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
A. Tanaman Kol Banda (<i>Pisonia grandis</i> R.Br)	42
1. Hasil determinasi tanaman kol banda.....	42
2. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk ...	42
3. Hasil pembuatan serbuk daun kol banda	42
4. Hasil penetapan kadar air.....	43
5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kol banda	43
6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun kol banda	44
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia.....	44
8. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda.....	45
B. Uji Keamanan Lambung Pada Tikus	50
1. Pemeriksaan lambung makroskopis	51
2. Pemeriksaan mikroskopis	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	57
A. Kesimpulan.....	57
B. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	67

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kol banda (<i>Pisonia grandis</i> R.Br)	5
Gambar 2. Mekanisme inflamasi.....	13
Gambar 3. Pembagian daerah anatomi lambung.....	21
Gambar 4. Penyebab dan pertahanan kerusakan mukosa lambung.....	22
Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun kol banda	32
Gambar 6. Skema kerja uji antiinflamasi ekstrak daun kol banda	40
Gambar 7. Skema uji antiinflamasi	40
Gambar 8. Skema pengamatan iritasi lambung tikus secara makroskopis dan histopatologi	41
Gambar 9. Rata-rata penurunan volume udem pada telapak kaki tikus	46
Gambar 10. Gambar pemeriksaan makroskopis lambung tikus kelompok kontrol negatif (A), Natrium diklofenak (B), Selekoksib (C), Metilprednisolon (D), Ekstrak 400 mg/ kg BB (D)	51
Gambar 11. Histologi mukosa lambung kelompok negatif (A), kelompok positif natrium diklofenak (B), selekoksib (C), metilprednisolon (D), Ekstrak etanol daun kol banda dosis 400 mg/ kg BB (perbesaran 1000x).	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria dan skor kerusakan pada lambung tikus	23
Tabel 2. Perlakuan uji antiinflamasi	36
Tabel 3. Kriteria dan skor kerusakan pada lambung tikus	38
Tabel 4. Hasil pengeringan daun kol banda	42
Tabel 5. Hasil rendemen serbuk daun kol banda	43
Tabel 6. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kol banda	43
Tabel 7. Rendemen ekstrak etanol daun kol banda	44
Tabel 8. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun kol banda	44
Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kol banda	44
Tabel 10. Hasil perhitungan rata-rata volume udem pada telapak kaki tikus	45
Tabel 11. Rata-rata AUC _{total} dan rata-rata DAI (%)	49
Tabel 12. Hasil skoring keparahan tukak lambung	53
Tabel 13. Rata-rata jumlah skoring histopatologi lambung tikus	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman.....	67
Lampiran 2. Surat hewan uji	69
Lampiran 3. Hasil etikal klirens	70
Lampiran 4. Surat keterangan pembuatan dan pembacaan preparat	71
Lampiran 5. Hasil kegiatan penelitian	72
Lampiran 6. Hasil identifikasi serbuk daun kol banda.....	75
Lampiran 7. Identifikasi ekstrak etanol daun kol banda	76
Lampiran 8. Pengukuran kadar air.....	77
Lampiran 9. Perhitungan rendemen daun kol banda	78
Lampiran 10. Perhitungan dosis uji antiinflamasi	79
Lampiran 11. Sebelum dikurang T0	83
Lampiran 12. Sesudah dikurang T0.....	85
Lampiran 13. Perhitungan AUC.....	88
Lampiran 14. Perhitungan % DAI.....	101
Lampiran 15. Foto makroskopis lambung tikus	103
Lampiran 16. Foto hasil histopatologi lambung tikus	106
Lampiran 17. Hasil statistik AUC total.....	109
Lampiran 18. Hasil statistik % DAI.....	111
Lampiran 19. Hasil skoring keparahan tukak lambung	111
Lampiran 20. Hasil makroskopis uji statistik lambung	112

Lampiran 21. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan kerusakan sel pada mukosa lambung	115
Lampiran 22. Uji statistik histologi lambung	115

INTISARI

SERLIANDI., 2018, AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA (*Pisonia grandis* R.Br) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Inflamasi merupakan suatu respon protektif tubuh terhadap cedera, ditandai dengan adanya warna merah, panas serta nyeri akibat edema. Pengobatan inflamasi dapat dilakukan menggunakan obat golongan steroid maupun non steroid. Salah satu efek samping obat non steroid dapat menyebabkan gangguan hingga kerusakan gastrointestinal. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antiinflamasi daun kol banda dan keamanannya pada saluran cerna.

Daun kol banda diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian antiinflamasi dan keamanan pada saluran cerna masing-masing di bagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (CMC-Na 0,5%), kelompok kontrol positif (natrium diklofenak 4,5 mg/ kg BB, selekoksib 9 mg/kg BB, dan metilprednisolon 0,36 mg/kg BB), kelompok uji ekstrak etanol daun kol banda dosis 400 mg/kg BB. Uji antiinflamasi menggunakan metode *Rat hind paw oedema* yang diinduksi karagenan 1%, sedangkan pengujian keamanan lambung diamati secara makroskopis dan mikroskopis dengan menggunakan skoring keparahan tukak. Analisis data menggunakan uji *Sapiro-wilk* dan dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kol banda dosis 400 mg/kg BB dapat memberikan efek antiinflamasi yang sama dengan kelompok selekoksib dan metilprednisolon serta menunjukkan keamanan lambung yang sama dengan kelompok negatif.

Kata kunci : Daun kol banda, antiinflamasi, karagenan, keamanan pada lambung

ABSTRACT

SERLIANDI., 2018, ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BLEARY LEAVES ETHANOL EXTRACT (*Pisonia grandis* R.Br) IN CARAGENAN-INDUCED RATS AND SAFETY IN THE STOMACH, ESSAY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Inflammatory is a protective response of the body to injury, characterized by red, heat and pain due to oedema. Treatment of Inflammatory can be done use steroid and non steroid drugs. One of the side effects of non steroidal drugs can cause disorder to damage of gastrointestinal. The purpose of the research was to determine the anti-inflammation activity of banda cabbage leaf and its safety on the gastrointestinal tract.

The banda cabbage leaf was extracted by maceration method use ethanol 96% solvent. Tests of anti-inflammation and gastrointestinal were divided into five groups, that were group of negative control (CMC-Na 0.5%), groups of positive control (diclofenac sodium 4.5 mg/kg BW, celecoxib 9 mg/kg BW, and methylprednisolone 0.36 mg/kg BW)), group of test ethanol extract of banda cabbage leaf dose of 400 mg/kg BW. Anti- inflammatory test use Rat hind paw oedema method carrageenan 1%-induced, whereas gastrointestinal safety test observed macroscopically and microscopically use severity scores of ulcer. Data analysis use *Sapiro-wilk* test then continued with one way ANOVA test.

The results show that ethanol extract of banda cabbage leaf dose of 400 mg/kg BW could provide anti-inflammatory effect comparable with groups of celecoxib and methylprednisolone and show gastric safety equivalent with negative group.

Keywords : banda cabbage leaf, anti-inflammatory, carrageenan, safety on the stomach

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radang atau inflamasi secara farmakologi diartikan sebagai respon tubuh untuk melindungi dari zat iritan dan memberi tanda ketika tubuh diserang oleh organisme yang dapat merusak jaringan sehingga mengaktivasi sel untuk melakukan perbaikan jaringan (Mycek *et al.* 2001). Tanda-tanda pada proses inflamasi antara lain yaitu, kemerahan, bengkak, panas, nyeri, dan perubahan fungsi. Kemerahan pada respon inflamasi disebabkan karena pembuluh darah arteriol mengalami vasodilatasi sehingga terjadi aliran darah yang berlebihan pada daerah cedera. Timbulnya panas dan rasa nyeri karena adanya pelepasan mediator nyeri yang merangsang reseptor nyeri. Adanya pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah yang berlebih ke daerah interstisial menyebabkan terjadinya pembengkakan (edema) (Nugroho 2012).

Inflamasi terbagi menjadi dua yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronis. Inflamasi akut merupakan respon yang terjadi secara langsung terhadap kerusakan sel atau jaringan yang terjadi melibatkan sistem vaskuler lokal, sistem imun dan beberapa sel. Pengobatan inflamasi dapat dilakukan menggunakan obat golongan steroid maupun golongan Antiinflamasi Non Steroid (AINS). Namun keduanya memiliki efek samping yang merugikan, golongan steroid dapat menyebabkan penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atropi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intraocular. Adapun golongan AINS juga memiliki efek samping yaitu tukak lambung hingga perdarahan, gangguan ginjal dan anemia (Anonim 2005). Adanya efek samping yang dapat mengurangi keefektifan obat maka diperlukan alternatif pengobatan menggunakan tanaman obat berkhasiat yang diharapkan memiliki efektivitas yang lebih baik. Hal ini memacu pengembangan produk herbal sesuai dengan gerakan *back to nature* oleh WHO. Penggunaan obat tradisional diharapkan memiliki nilai keamanan yang lebih tinggi dari pengobatan modern (WHO 2003).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional untuk mengatasi nyeri adalah kol banda. Kol banda merupakan salah satu tanaman dari keluarga Nyctaginaceae yang tersebar di daerah tropis termasuk Indonesia. Secara empiris rebusan daun kol banda sering digunakan sebagai bahan herbal dalam penyembuhan penyakit seperti bisul, bengkak, penebalan kulit, mata ikan dan polyuria. Salah satu kandungan kimia yang terdapat dalam kol banda yaitu fenolik (Hembing 1994).

Pemanfaatan tanaman kol banda sebagai tanaman obat berkaitan dengan adanya kandungan kimia dalam bagian tanaman tersebut. Tanaman ini mengandung senyawa fenolik dan flavonoid secara keseluruhan (Saritha *et al.* 2014). Selain itu daun kol banda juga mengandung senyawa alkaloid, tanin, dan steroid (Jayakumari *et al.* 2014). Senyawa pada daun kol banda yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi adalah flavonoid, terpenoid dan steroid (Jayakumari *et al.* 2012)

Beberapa penelitian terhadap kol banda telah dilakukan untuk membuktikan efek farmakologi sebagai antiinflamasi. Hasil penelitian pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat daun kol banda dosis 500 mg/kg BB tikus menunjukkan hasil yang signifikan pada peradangan akut dan kronis (Jayakumari *et al.* 2012). Fraksi etil asetat secara signifikan mengurangi peradangan pada fase akut dan kronis. Penghambatan ini mungkin karena adanya senyawa flavonoid dengan mekanisme pengurangan pelepasan asam arakidonat dan menghambat enzim siklookksigenase dan 5-lipokksigenase (Yoshimoto 1983). Penelitian yang dilakukan oleh Radha *et al.* (2008) menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi ekstrak air dan alkohol daun kol banda dengan dosis 400 mg/kg BB tikus terhadap volume edem yang diinduksi karagenan. Ekstrak alkohol tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif yaitu natrium diklofenak. Studi toksisitas akut fraksi etil asetat menunjukkan ekstrak daun kol banda dosis 2000 mg/kg BB tikus tidak memiliki efek toksik pada hewan uji (Jayakumari *et al.* 2012). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% tanaman kol banda juga telah dievaluasi secara *in vivo* menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dalam menangkal radikal bebas pada metode DPPH (Matheos *et al.* 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.* (2014) menunjukkan adanya aktivitas sebagai antiinflamasi dari sediaan

topikal yang mengandung kloroform 5% ekstrak kol banda yang signifikan terhadap volume edema kaki tikus yang diinduksi karagenan.

Obat antiinflamasi yang ada di pasaran mempunyai mekanisme dan efek samping yang berbeda, pada penelitian ini akan dibandingkan profil keamanan pada lambung tikus dengan menggunakan 3 kontrol positif yaitu metilprednisolon, natrium diklofenak dan selekoksib yang perbedaannya didasarkan pada mekanisme kerjanya dimana metilprednisolon menghambat enzim fosfolipase A₂ sehingga asam arakidonat tidak terbentuk, natrium diklofenak menghambat COX-1 dan COX-2 dan selekoksib menghambat enzim COX-2. Salah satu efek samping yang ditimbulkan oleh NSAID yaitu dapat menyebabkan gangguan hingga kerusakan gastrointestinal, penelitian mengenai aktivitas antiinflamasi daun kol banda telah dilakukan tetapi adanya iritasi pada lambung belum diteliti lebih lanjut. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diteliti keamanan dari ekstrak daun kol banda terhadap lambung tikus secara makroskopis dan histologi sehingga akan diketahui dari perlakuan manakah yang paling aman. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan pada tikus jantan galur wistar dengan menggunakan metode induksi inflamasi karagenan dengan pengukuran volume udem.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun kol banda memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenan?

Kedua, bagaimanakah aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol daun kol banda jika dibandingkan dengan ketiga kelompok kontrol ?

Ketiga, apakah ekstrak etanol daun kol banda aman terhadap lambung tikus?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Pertama, mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda pada tikus yang diinduksi karagenan.

Kedua, mengetahui perbandingan aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda pada tikus yang diinduksi karagenan.

Ketiga, mengetahui efek iritasi ekstrak etanol daun kol banda terhadap lambung tikus.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memahami, mengetahui dan mengembangkan obat tradisional yang berkhasiat di Indonesia, dapat juga memberikan informasi kepada masyarakat luas dan dalam dunia kesehatan mengenai aktivitas dan efek samping farmakologi daun kol banda sebagai tanaman obat khususnya antiinflamasi serta dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut tentang senyawa-senyawa lain yang ada dalam daun kol banda.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kol Banda

1. Sistematika

Jika dilihat dari taksonominya, maka tanaman kol banda dapat diklasifikasikan ke dalam :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliopsida
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Nyctaginaceae
Genus	: Pisonia
Spesies	: <i>Pisonia grandis</i> R.Br., <i>Pisonia alba</i> Span, <i>Pisonia viscosa</i> Balf. fil.



Gambar 1. Tanaman kol banda (*Pisonia grandis* R.Br)
(Koleksi pribadi)

2. Nama daerah

Nama lain dari kol banda adalah cabbage tree dan lettuce (Inggris), kol banda (Melayu), kol bandang (Sunda dan Jawa), buring dan kayu bulan

(Minahasa). Tanaman ini juga dikenal dengan nama hale di Flores, motong di (pulau Sohor) sayur bulan (Timor), aifuiro (Seram), hate bula di (Halmahera), Hate bulan di (Ternate) dan kendu di Buford an Papua (Suhono dan Tim LIPI, 2010).

3. Morfologi tanaman

Kol banda merupakan tumbuhan daerah tropis yang diperkirakan berasal dari Asia dan Papua, merupakan tumbuhan perdu atau pohon kecil tahunan dengan tinggi mencapai 5-7 meter. Kol banda tumbuh di lahan terbuka dengan sinar matahari penuh sepanjang hari dan media tanah yang memiliki cukup kandungan air (Suhono dan Tim LIPI 2010).

Tanaman kol banda memiliki batang bulat berkayu dan bercabang. Daun kol banda merupakan daun tunggal yang berbentuk bulat telur, bertangkai, dan memiliki pangkal membulat, ujung meruncing, dan tepi rata. Pertulangan daun berwarna kuning muda atau kuning bercak hijau ini menyirip dengan panjang 10-25 cm dan lebar 5-12 cm. Kol banda memiliki sistem perakaran tunggang dan bunga majemuk menggarpu berbentuk tabung yang berwarna putih (Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI 2001; Suhono dan Tim LIPI 2010).

4. Kandungan kimia

Pemanfaatan tanaman kol banda sebagai obat berkaitan dengan adanya kandungan kimia dalam tanaman tersebut. Tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, glikosida dan steroid yaitu, octacosanol, beta sitosterol, alpha spinosterol dan dulcitol. Glikosida flavonoid 4-o-metil-5'-o-asetil myricetin-3-o-gluco 2 to1 rhamnoside (Jayakumari *et al.* 2012). Daun kol banda mengandung senyawa fenolik dan flavonoid secara keseluruhan (Saritha *et al.* 2014). Akar dan daun kol banda mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan polifenol (Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI 2001). Selain itu, daun kol banda juga mengandung senyawa alkaloid, tanin, dan steroid (Matheos *et al.* 2014; Jayakumari *et al.* 2014). Analisis fitokimia menunjukkan adanya vitamin A, vitamin C, vitamin E, tiamin, riboflavin, asam nikotinat (vitamin B3), prekursor vitamin A, protein, lemak, β -karoten dan selenium.

4.1 Flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai obat. Pigmen atau zat warna

yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan seperti zat warna merah, ungu, biru, kuning dan hijau tergolong senyawa flavonoid. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menetralkan, meredam radikal bebas dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel (Hernani & Raharjo 2005). Flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi (Hapsari 2010).

Kuersetin merupakan senyawa yang aktif dari flavonoid. Senyawa Kuersetin menunjukkan aktivitas signifikan sebagai antiinflamasi karena menghambat secara langsung beberapa proses awal dari inflamasi, misalnya menghambat pembuatan dan pelepasan histamin dan mediator inflamasi lainnya. Kuersetin juga dapat menghambat sikloksigenase yang berperan dalam metabolisme asam arakidonat, sehingga dapat menurunkan agregasi platelet (Sitompul 2003).

4.2 Saponin. Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin, tersebar luas di antara tanaman tinggi. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan & Mulyani 2004). Saponin dapat mempercepat pembentukan jaringan ikat kolagen dengan cara merangsang TGF- β untuk mensekresi kolagen.

4.3 Tanin. Tanin merupakan kandungan kimia yang bersifat fenol. Tanin terhidrolisis warna coklat kuning, higroskopis dan larut dalam air membentuk larutan koloidal. Tanin larut dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzene dan kloroform. Tanin dalam tumbuhan bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Kadar tanin yang tinggi mempunyai arti pertahanan bagi tumbuhan dalam membantu mengusir hewan pemangsa. Senyawa flavonoid, steroid dan tanin dalam bentuk bebas dan kompleks tanin-protein berkhasiat sebagai antiinflamasi (Simon & Kerry 2000).

4.4 Steroid/Terpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa berkerangka karbon dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik yaitu skualena. Triterpenoid dibagi menjadi empat golongan

senyawa yaitu triterpene, steroid dan glikosida jantung. Sterol adalah triterpene yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentana penhidrofenantrena. Terpenoid terdapat dalam senyawa tumbuhan, memiliki struktur siklik dan satu gugus fungsi atau lebih (hidroksil, karbonil dan lain lain). Umumnya terpenoid larut lemak dan berada di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Penggolongan senyawa terpenoid, berdasarkan kemudahannya dalam menguap dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: mudah menguap (monoterpene dan seskuiterpen sebagai minyak atsiri), sulit menguap (diterpenoid) dan tidak menguap (triterpenoid dan steroid) (Direja 2007).

5. Kegunaan Tanaman

Tanaman kol banda memiliki potensi farmakologis yang sangat besar, mengunyah dua daun tanaman dapat mengurangi kadar gula dalam tubuh dan akarnya dianggap sebagai obat pencahar. Daun kol banda memiliki aroma lemah sama seperti aroma daun pada umumnya dan rasa tawar agak sepat yang diperkirakan berasal dari kandungan fitokimia dalam daun.

Secara tradisional daun kol banda dapat digunakan untuk mengobati asma, bisul, bengkak, penebalan kulit, mata ikan, sering kencing dan daun muda dimakan sebagai lalab mentah (Buku Pintar Tanaman Obat 2008). Sedangkan di India daun kol banda digunakan sebagai antidiabetes, antiinflamasi, penyembuhan luka, analgesik dan diuretik (Radha *et al.* 2008).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kol banda dan senyawa aktifnya memiliki aktivitas farmakologi yaitu sebagai antioksidan (Matheos *et al.* 2014), anxiolytik (Rahman *et al.* 2011), analgetik, antiinflamasi dan diuretik (Anbalagan *et al.* 2002), aktivitas penyembuhan luka (Prabu *et al.* 2008), antipiretik dan antiarthritis (Elumalai *et al.* 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau

zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Depkes RI 2000).

2. Pengumpulan simplisia

Kadar senyawa aktif dalam mutu simplisia berbeda-beda, tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (Suharmiati & Maryani 2003).

3. Pencucian dan Pengeringan Simplisia

Bahan tanaman yang sudah dikumpulkan dilakukan pencucian pada air yang mengalir. Pencucian berguna untuk membersihkan tanaman dari kotoran yang melekat baik tanah, bakteri, maupun jamur.

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Suhu pengeringan pada umumnya antara 40-60°C dan hasil yang baik dari proses pengeringan adalah simplisia yang mengandung kadar air kurang dari 10%. Waktu pengeringan juga bervariasi, tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan seperti rimpang, daun, kayu atau pun bunga. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari), kelembapan udara, aliran udara dan tebal bahan (tidak saling menumpuk). Pengeringan bahan dapat dilakukan secara tradisional menggunakan sinar matahari atau secara modern dengan menggunakan suatu alat pengering seperti oven, rak pengering, *blower* ataupun dengan *fresh dryer* (Ballitro 2008).

4. Penyimpanan simplisia

Tujuan penyimpanan adalah untuk melindungi agar simplisia tidak rusak atau berubah mutunya karena beberapa faktor, baik dari dalam maupun dari luar. Jika perlu dilakukan penyimpanan, sebaiknya simplisia disimpan di tempat yang kering, tidak lembab, dan terhindar dari sinar matahari langsung (Suharmiati & Maryani 2003).

C. Ekstrak

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, perkolasai atau penyeduhan dengan air yang mendidih. Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat simplisia terdapat dalam bentuk kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan agar zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Dwicandra *et al.* 2006).

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi yang mempengaruhi mutu ekstrak dari bahan asal (tumbuhan obat) diantaranya jenis tumbuhan, lokasi tumbuhan, waktu panen, penyimpanan, bahan tumbuhan dan bagian yang digunakan. Faktor kimia yang mempengaruhi mutu ekstrak dari bahan asal (tumbuhan obat) secara khusus dipandang dari kandungan kimianya yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal seperti jenis senyawa aktif, komposisi kualitatif senyawa aktif, dan kadar total rata-rata senyawa aktif. Faktor eksternal seperti metode ekstrak, perbandingan ukuran alat ekstrak, pelarut yang digunakan. Kandungan logam berat dan kekerasan bahan (Depkes 2000).

2. Maserasi

Maserasi salah satu metode ekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai. 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 diluar sel, maka larutan yang terpekat akan di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Keuntungan dari maserasi adalah menggunakan peralatan dan prosedur yang digunakan sederhana, murah, tidak menggunakan pemanasan sehingga sesuai untuk zat yang tidak tahan pemanasan (Istiqomah. 2013).

3. Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung

pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi (Ncube *et al.* 2008). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu rendah dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat (Tiwari *et al.* 2011).

Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian adalah etanol 96%. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol di atas 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedang kerugiannya adalah bahwa etanol mahal harganya. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam tanin, dan saponin. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel dan memperbaiki stabilitas pelarut (Depkes 1987).

Proses penyarian ini digunakan pelarut etanol karena mampu mengekstraksi senyawa polar maupun nonpolar, tidak toksik, tidak ditumbuhkan mikroba, serta mudah diuapkan. Keuntungan lainnya adalah menghambat kerja enzim serta dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotornya sebagian kecil larut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1994).

D. Inflamasi

1. Definisi Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap adanya infeksi, iritasi atau zat asing, sebagai upaya mekanisme pertahanan tubuh. Pada reaksi inflamasi akan terjadi pelepasan histamin, bradikinin, prostaglandin, ekstravasasi cairan, migrasi sel, kerusakan jaringan dan perbaikannya yang ditujukan sebagai upaya pertahanan tubuh dan biasanya respon ini terjadi pada beberapa kondisi penyakit yang serius, seperti penyakit kardiovaskular, gangguan inflamasi dan autoimun, kondisi neurodegenerative dan infeksi (Chippada *et al.* 2011).

Inflamasi dimulai saat sel mast berdegranulasi dan melepaskan bahan-bahan kimianya seperti histamin, serotonin, dan bahan kimia lainnya. Histamin yang merupakan mediator kimia utama inflamasi juga dilepaskan oleh basofil dan

trombosit. Akibat pelepasan histamin ini adalah vasodilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan aliran darah dan terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler pada awal inflamasi (Corwin 2008).

2. Klasifikasi inflamasi

Inflamasi secara umum dibagi menjadi 3 fase, yakni : inflamasi akut, respon imun, dan inflamasi kronis.

2.1 Inflamasi akut. Inflamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan, hal tersebut terjadi melalui media rilisnya autacoid serta pada umumnya didahului oleh pembentukan respon imun (Katzung 2002). Fase ini ditandai dengan adanya vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler (Vogel 2002). Inflamasi ini ditandai dengan kemerahan dan panas yang terlihat jelas pada jaringan luar. Hal ini akibat pecahnya sel mast sehingga melepaskan mediator-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. Inflamasi akut akan hilang setelah satu atau dua hari karena mempunyai waktu yang pendek. Sebagai contoh inflamasi akut ini adalah inflamasi akibat gigitan serangga, akibat luka dan lainnya (Guyton 1995; Underwood 1999).

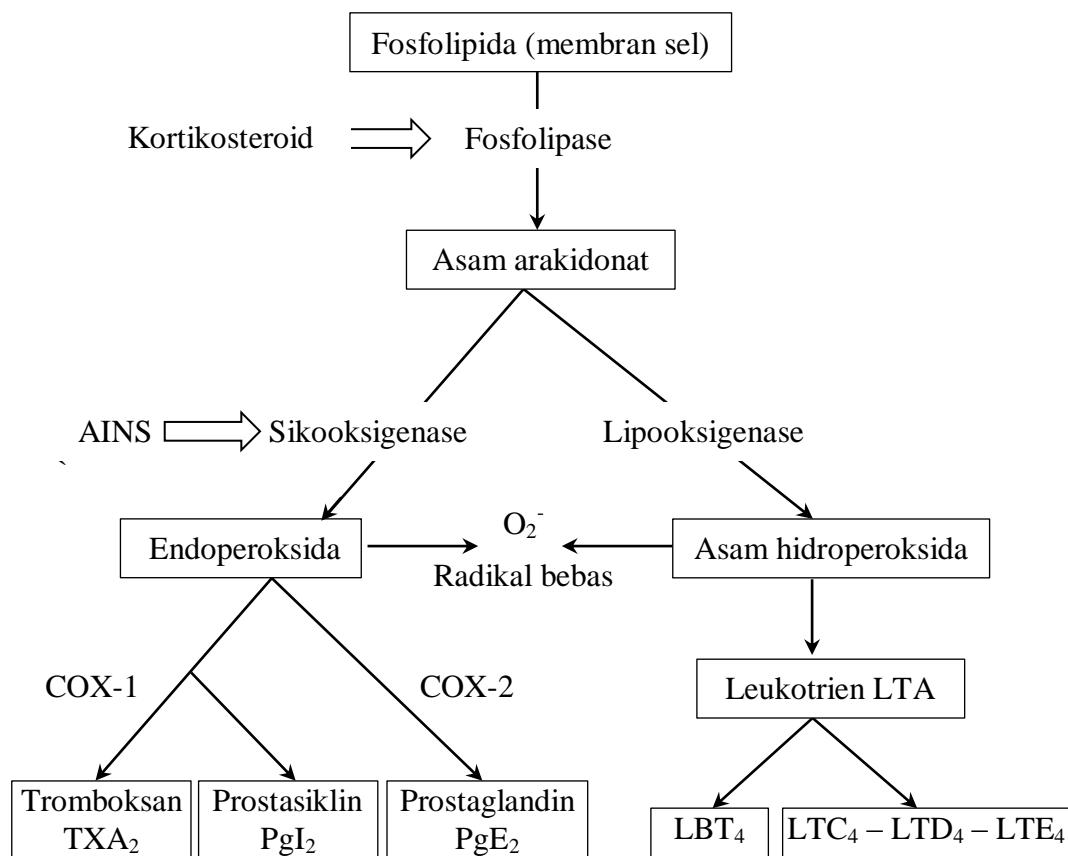
2.2 Respon imun. Respon imun ditandai dengan infiltrasi leukosit dan sel fagosit. Respon imun terjadi bila sel yang mempunyai kemampuan imunologi diaktivasi untuk menimbulkan respon terhadap organisme asing atau zat antigenik yang dilepaskan selama respon peradangan akut atau kronis (Vogel 2002).

2.3 Inflamasi kronis. Inflamasi kronis melibatkan pelepasan sejumlah mediator yang tidak menonjol pada respon akut. Beberapa diantaranya yaitu interleukin 1, 2, dan 3; TNF-alfa 2 ; dan interferon. Pada fase ini terjadi degenerasi jaringan dan fibrosis. Sebagai contoh inflamasi kronis adalah inflamasi akibat tuberkolosis dan rematoid arthritis (Guyton 1995; Underwood 1999).

3. Mekanisme inflamasi

Mekanisme terjadinya radang sangat dipengaruhi oleh senyawa dan mediator yang dihasilkan oleh asam arakidonat. Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis maka enzim

fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida yang terdapat di membran sel tersebut menjadi asam arakidonat (Tjay & Rahardja 2002).



Gambar 2. Mekanisme inflamasi (Tan & Rahardja 2002)

Enzim sikloksigenase mengubah fosfolipida yang terdapat dalam membran sel tersebut menjadi senyawa prostaglandin dan tromboksan. Enzim sikloksigenase (COX) yang terlibat dalam reaksi ini ada 2 tipe, yaitu COX-1 dan COX-2 (Nandave *et al.* 2006). COX-1 terdapat di kebanyakan jaringan antara lain di pelat-plat darah, ginjal, dan seluruh cerna (Tjay & Rahardja 2002). COX-1 bersifat konstitutif (selalu ada) dan terlibat dalam homeostasis. COX-2 dalam keadaan normal tidak terdapat di jaringan tapi diinduksi dalam sel-sel yang meradang (Rang *et al.* 2003).

Lipooksigenase ialah enzim yang mengubah asam arakidonat menjadi senyawa leukotrien. Leukotrien mempunyai efek kemotaktik yang kuat pada

eosinofil, neutrofil, dan makrofag dan mendorong terjadinya bronkokonstriksi dan perubahan permeabilitas vaskuler. Kinin dan histamin juga dikeluarkan di tempat kerusakan jaringan, sebagai unsur komplemen dan produk leukosit dan platelet lain. Stimulasi membran neutrofil menghasilkan *oxyangen free radicals*. Anion superoksid dibentuk oleh reduksi oksigen molekuler yang dapat memacu produksi molekul lain yang reaktif, seperti hidrogen peroksid dan hidroksil radikal. Interaksi substansi-substansi ini dengan asam arakidonat menyebabkan munculnya substansi kemotaktik, oleh karena itu memperlama proses inflamasi (Wibowo & Gofir 2001).

4. Mediator-mediator inflamasi

Inflamasi dimulai saat sel mast berdegranulasi dan melepaskan bahan-bahan kimianya seperti histamin, serotonin, dan bahan kimia lainnya. Histamin yang merupakan mediator kimia utama inflamasi juga dilepaskan oleh basofil dan trombosit. Akibat pelepasan histamin ini adalah vasodilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan aliran darah dan terjadi peningkatan permeabilitas kapiler pada awal inflamasi. Mediator lain yang dilepaskan selama respon inflamasi yaitu faktor kemotaktik, neutrofil dan eosinofil dilepaskan oleh leukosit (neutrofil dan eosinofil) yang dapat menarik sel-sel ke daerah cedera. Selain itu, juga dilepaskan prostaglandin terutama seri E. Saat membran mengalami kerusakan, fosfolipid akan dirubah menjadi asam arakidonat yang dikatalis oleh fosfolipase A₂. Asam arakidonat ini selanjutnya akan dimetabolisme oleh siklooksigenase sehingga menjadi sintesis prostaglandin. Mediator inflamasi yang lain sitokin, yaitu zat-zat yang dikeluarkan oleh leukosit. Sitokin bekerja seperti hormon dengan merangsang sel-sel lain pada sistem imun untuk berproliferasi (Corwin 2008). Tanda umum yang terjadi pada proses inflamasi yaitu *rubor* (kemerahan), *tumor* (pembengkakan), *kalor* (panas setempat yang berlebihan), *dolor* (rasa nyeri), dan *functiolaesa* (gangguan fungsi/kehilangan fungsi jaringan yang terkena).

4.1 Rubor (kemerahan). Kemerahan terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi yang terjadi karena darah terkumpul di daerah jaringan yang

cedera akibat dari pelepasan meditor kimia tubuh (kinin, prostaglandin, histamin). Ketika reaksi radang timbul maka pembuluh darah melebar (vasodilatasi pembuluh darah) sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam jaringan yang cedera (Price & Wilson 2005).

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

4.3 *Kalor* (panas). Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan pada reaksi inflamasi akut, sebenarnya panas merupakan reaksi inflamasi yang hanya terjadi pada permukaan tubuh, yang secara normal lebih dingin dari 37°C yang merupakan suhu inti tubuh. Peningkatan suhu tubuh hanya tampak pada bagian perifer atau tepi tubuh, seperti pada kulit. Daerah inflamasi di kulit menjadi lebih hangat dari sekelilingnya karena lebih banyak darah dialirkan dari dalam tubuh ke permukaan daerah yang terkena dibandingkan dengan ke daerah yang lebih normal (Price & Wilson 2005).

4.4 *Dolor* (nyeri). Nyeri disebabkan oleh pembengkakan dan pelepasan mediator-mediator kimia seperti bradikinin, prostaglandin, histamin atau zat kimia bioaktif lainnya diketahui juga dapat mengakibatkan rasa sakit karena dapat merangsang syaraf. Peregangan akibat edema menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa nyeri (Wilman & Sulista 2007).

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

E. Obat-obat Antiinflamasi

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

1. Kortikosteroid

Gejala inflamasi dapat dicegah atau ditekan dengan kortikosteroid. Kortikosteroid bekerja menghambat aktivitas fosfolipase, sehingga menghambat pelepasan asam arakidonat yang diperlukan untuk mengaktivasi jalur enzim berikutnya. Penghambatan ini menyebabkan sintesis prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, maupun leukotrien terganggu. Kortikosteroid juga dapat mengurangi gejala inflamasi dengan efek vasokonstriksi, menurunkan permeabilitas kapiler dengan mengurangi jumlah histamin yang dilepaskan oleh basofil, menghambat fagositosis leukosit dan makrofag jaringan (Katzung 2010). Kortikosteroid yang biasa digunakan diantaranya prednison, metilprednisolon, betametason dan deksametason. Penggunaan kortikosteroid sebagai antiinflamasi hanya bersifat paliatif sehingga hanya gejalanya yang dihambat sedangkan penyebab penyakitnya tetap ada (Katzung 2010).

1.1 Metilprednisolon. Metilprednisolon adalah obat golongan kortikosteroid. Manfaatnya antara lain mengatasi radang (antiinflamasi), menekan sistem imun dalam proses alergi, mengatur metabolisme protein dan karbohidrat, mempengaruhi kadar natrium dalam tubuh, dan lain-lain. Cara kerja obat tersebut sebagai agen antiinflamasi dan imunosupresan adalah dengan cara induksi limfositopenia dan menghambat diferensiasi dan proliferasi limfosit. Obat ini akan mengganggu komunikasi intraseluler antara leukosit dengan produksi limfokin (IL-1, II-2 dan TNF) sehingga fungsi makrofag akan terganggu (Novia 2015). Namun obat ini juga memiliki efek samping yang membahayakan tubuh jika digunakan dalam jangka waktu lama seperti atrofi otot, osteoporosis, moon face, buffalo hump, lemak ekstremitas berkurang, gangguan reabsorbsi Na^+ serta sekresi K^+ dan H^+ di ginjal, gangguan absorbsi Ca^{2+} di usus, dan gangguan neuropsikiatri (Sudir 2007).

2. AINS (Anti Inflamasi Non Steroid)

Obat golongan AINS berkhasiat sebagai analgetik, antipiretik serta antiinflamasi. Obat tersebut merupakan suatu kelompok senyawa yang heterogen, yang sering tidak berkaitan secara kimiawi (kebanyakan merupakan asam organik), namun memiliki banyak persamaan dalam efek terapi maupun efek samping berdasarkan mekanisme kerja menghambat biosintesis prostaglandin.

AINS menghambat COX sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan yang berperan dalam menimbulkan reaksi peradangan akan terganggu. Tetapi AINS tidak menghambat biosintesis leukotrien yang diketahui berperan dalam proses inflamasi. COX terdapat dalam dua bentuk, yaitu COX-1 dan COX-2. Bila COX-1 dihambat oleh AINS maka timbul efek samping pada organ dan jaringan tersebut. Sedangkan jika aktivitas COX-2 dihambat oleh AINS maka inflamasi akan berkurang (Gilman *et al.* 2007).

Obat-obat yang termasuk dalam golongan obat AINS antara lain: aspirin, ibuprofen, naproksen, indometasin, sulindak, fenilbutazon, piroksikam, asam mefenamat dan natrium diklofenak (Mycek *et al.* 2001). Berdasarkan mekanismenya terhadap penghambatan COX, AINS dikelompokkan menjadi dua kelompok. Kelompok AINS selektif penghambat COX-2 seperti selekoksib, refekoksib dan etorikoksib serta kelompok AINS penghambat non-selektif seperti aspirin, indometasin, naproksen dan natrium diklofenak. AINS selektif penghambat COX-2 terbukti kurang menyebabkan gangguan saluram cerna disbanding AINS non-selektif tetapi tidak terbukti lebih efektif dari AINS non-selektif (Gilman *et al.* 2007).

2.1 Natrium Diklofenak. Diklofenak adalah derivat fenil asetat yang memiliki aktivitas analgesik, antipiretik serta antiinflamasi. Mekanisme kerja obat ini adalah menghambat siklookksigenase yang relatif nonselektif dan kuat, juga mengurangi bioavailabilitas asam arakidonat (Katzung 2002). Diklofenak merupakan inhibitor siklookksigenase dan potensinya jauh lebih besar dengan efek samping iritasi terhadap saluran cerna yang lebih rendah, jika dibandingkan dengan indometasin, naproksen atau senyawa lain (Goodman dan Gilman 2008). Diklofenak juga dapat digunakan untuk pengobatan dalam jangka waktu lama seperti pada artritis rheumatoid dan osteoarthritis. Diklofenak bertumpuk pada cairan synovial. Ekskresi obat ini dan metabolitnya bersama dengan urin. Toksisitas yang ditimbulkan adalah masalah saluran pencernaan dan kadar enzim hepar meningkat (Mycek *et al.* 2001).

2.2 Selekoksib. Selekoksib merupakan derivat benzoilsulfonamida merupakan antiinflamasi nonsteroid yang mempunyai aktivitas antiinflamasi,

analgesik dan antipiretik. Mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat sintesa prostaglandin, terutama melalui penghambatan siklookksigenase-2 (COX-2). Pada dosis biasa COX-1 tidak dihambat, maka PgI₂ dengan daya protektifnya atas mukosa lambung-usus tetap dibentuk. Sehingga tidak menyebabkan efek buruk terhadap lambung dan usus (Tjay & Rahardja 2007). Seleksib sama efektifnya dengan OAINS lain dalam terapi artritis reumatid dan osteoarthritis, dan pada uji coba seleksib menyebabkan lebih sedikit ulkus endoskopik daripada kebanyakan OAINS lainnya.

F. Metode Uji

Metode pengujian inflamasi akut secara *in vivo* diantaranya :

1. Metode edema kaki tikus

Metode ini berdasarkan pengukuran volume dari edema buatan. Volume edema diukur sebelum dan sesudah pemberian zat yang diuji. Beberapa iritan yang dipakai sebagai penginduksi edema antara lain formalin, kaolin, ragi, dekstran, telur (albumin), dan polisakarida sulfat seperti karagenan. Kareganan merupakan bahan iritan yang paling sesuai dan memiliki kepekaan yang tinggi (Vogel 2002).

2. Metode pembentukan eritema

Metode ini berdasarkan pengamatan secara visual terhadap eritema pada kulit hewan yang telah dicukur bulunya. Hewan percobaan dihilangkan bulu menggunakan suspensi barium sulfat. Dua puluh menit kemudian dibersihkan menggunakan air panas. Hari berikutnya senyawa uji disuspensikan dan setengah dosisnya diberikan 30 menit sebelum pemaparan UV. Setengah dosisnya lagi diberikan setelah 2 menit berjalan pemaparan UV. Eritema dibentuk akibat iritasi sinar UV selama 20 detik, sehingga terjadi vasodilatasi yang diikuti dengan meningkatkan permabilitas pembuluh darah dan leukositosis lokal. Dua jam kemudian eritema yang terbentuk diamati (Vogel 2002).

3. Metode iritasi dengan panas

Metode ini berdasarkan pengukuran luas radang dan berat edema yang terbentuk setelah diiritasi dengan panas. Mula-mula hewan diberikan zat warna

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

4. Metode pembentukan kantong granuloma

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

G. Karagenan

Karagenan merupakan ekstrak kering ganggang laut merah (*Rhodopyceae*) yang diperoleh dari spesies (*Chondrus crispus*). Ekstrak berwarna kuning kecoklatan sampai putih, sedikit berbau dan memberikan rasa berlendir pada lidah. Komposisi karagenan mengandung senyawa derivate mukopolisakarida yaitu poligalaktosa sulfat. Karagenan juga merupakan suatu zat asing (antigen) yang bila masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator radang seperti histamin sehingga menimbulkan radang karena antibodi tubuh bereaksi terhadap antigen tersebut untuk melawan pengaruhnya. Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentukan gelnya karagenan dibagi menjadi tiga jenis, yaitu kappa karagenan, iota karagenan, dan lambda karagenan. Karagenan diberi nama berdasarkan persentase kandungan ester sulfatnya, yaitu kappa karagenan mengandung 25-30%, iota karagenan 28-35%, dan lambda karagenan 32-39%. Larut sempurna dalam air panas yang bersifat kental, susu dan dalam larutan gula

sehingga sering digunakan sebagai pengental dan penstabil pada berbagai makanan dan minuman (Lumbanraja 2009).

Karagenan sebagai penginduksi radang memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan dan memberikan respon yang lebih cepat terhadap obat inflamasi dibandingkan senyawa iritan lainnya. Tipe karagenan lambda dibandingkan dengan jenis karagenan yang lain, lambda memiliki kelebihan paling cepat menginduksi terjadinya inflamasi dan membentuk gel yang baik dan tidak keras, karagenan dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 jam hingga 2,5 jam setelah diinduksi dan fase terakhir pada 3 jam setelah induksi terjadi pelepasan prostaglandin, pembentukan edema yang diinduksi oleh karagenan akan berkembang dengan cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi (Morris 2003).

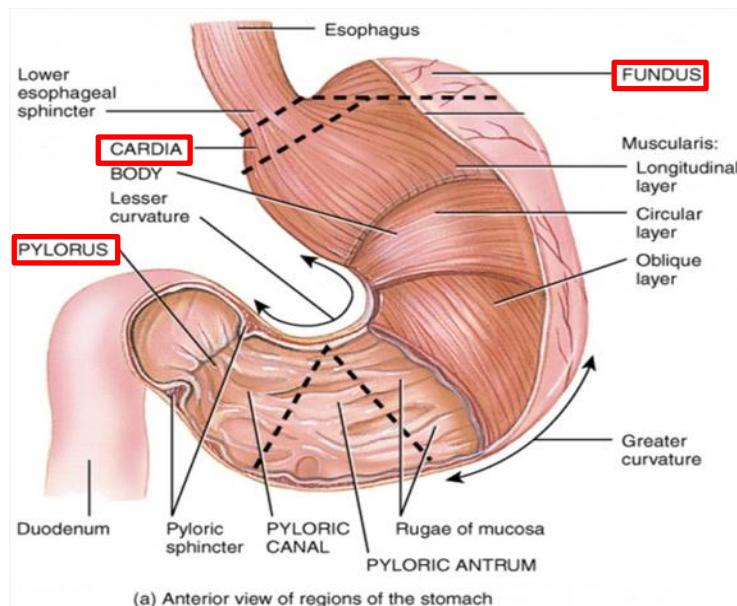
H. Pemeriksaan Keamanan Lambung

AINS yang memiliki mekanisme kerja menghambat sikloksigenase akan memiliki efek samping yaitu penghambatan pada enzim sikloksigenase yang memblok pembentukan prostasiklin yang memiliki aktivitas sebagai pelindung mukosa lambung. Gangguan gastrointestinal yang paling sering terjadi yaitu yang berkaitan dengan penggunaan AINS secara oral. Tidak hanya traktus gastrointestinal yang disebabkan oleh berkurangnya sitoprotektif prostaglandin dan penghambat prostasiklin, namun juga dapat menyebabkan mual, muntah, nyeri lambung, gangguan gastrointestinal atas, ulerasi dan perdarahan (Tjay & Rahardja 2007; Vogel 2002). Pemeriksaan keamanan pada mukosa lambung hewan uji tikus dilakukan untuk mengetahui iritasi atau kerusakan pada mukosa lambung dari pemberian obat secara oral.

1. Histologi Lambung

Lambung adalah organ endokrin-eksokrin campuran yang mencerna makanan dan mensekresi hormon. Lambung adalah bagian dari saluran pencernaan yang melebar. Fungsi utama lambung adalah menambahkan cairan asam pada makanan yang masuk, mengubahnya melalui aktivitas otot menjadi massa kental (khimus) dan melanjutkan proses pencernaan yang dimulai dari

dalam rongga mulut dengan menghasilkan enzim proteolitik pepsin (Junquiera 2007).



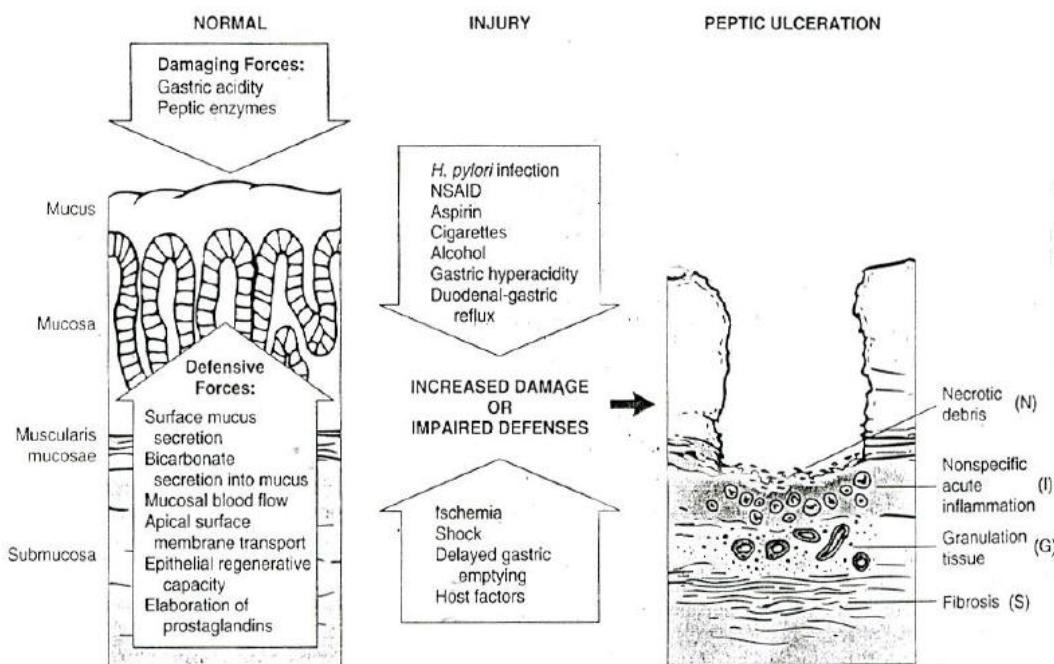
Gambar 3. Pembagian daerah anatomi lambung (Tortora & Derrickson 2009)

Pada pemeriksaan mikroskopis uji keamanan lambung dapat dibedakan dalam empat daerah yaitu kardia, fundus, korpus dan pilori. Bagian fundus dan korpus memiliki struktur mikroskopis yang hampir sama sehingga secara histologi hanya akan diperiksa 3 daerah. Bagian pertama adalah kardia yang berebentuk sabuk melingkar sempit selebar 1,5-3 cm diantara esofagus dan lambung. Bagian lambung berikutnya adalah fundus dan korpus yang terdapat sel-sel utama mukosa (*chief cells*) yang bertugas mensekresi prekursor enzim pepsinogen. Dan bagian yang terakhir adalah pilorus yang mengeluarkan mukus dan cukup banyak lisozim. Diantara sel-sel mukosa di dalam pilorus ini tersebar sel G (gastrin) yang melepaskan gastrin untuk merangsang pengeluaran asam oleh sel parietal dari kelenjar lambung, di lokasi ini terdapat pula sel-sel mukus yang mensekresi lender (Junquiera 2007; Tjay & Rahardja 2007).

2. Kerusakan pada lambung

Mukosa lambung memiliki ketahanan yang sering disebut sitoproteksi untuk mempertahankan integritas mukosa lambung dari bahan berbahaya secara endogen (asam klorida, pepsin dan garam empedu) ataupun secara eksogen (obat,

alkohol atau bakteri). Sistem pertahanan tersebut yaitu mukus dan bikarbonat yang melapisi permukaan mukosa dengan tebal 2-3 kali tinggi epitel permukaan dan melindungi mukosa dari asam dan pepsin, empedu, salisilat dan NSAID lain. Daya regenerasi sel yang merupakan kemampuan penyembuhan luka atau proliferasi sel. Aliran darah mukosa yang menyuplai oksigen dan nutrisi untuk ketahanan mukosa dan pertahanan dari prostaglandin yang dihasilkan oleh mukosa lambung dan duodenum. Prostaglandin berperan untuk meningkatkan sekresi mukus dan bikarbonat, stabilitas membran sel dan meningkatkan aliran darah (Robbins 2007). Pada gambar 4 ditunjukkan beberapa penyebab dan sistem pertahanan pada mukosa lambung yang mengalami gangguan ataupun kerusakan. Pada gambar paling kiri menunjukkan gambaran mukosa lambung dalam keadaan normal. Zat-zat yang dapat menyebabkan iritasi, luka atau kerusakan yaitu NSAID, aspirin, infeksi bakteri *H. pylori*, alkohol dan sebagainya. Pada gambar kanan merupakan gambaran mukosa lambung yang telah mengalami kerusakan.



Gambar 4. Penyebab dan pertahanan kerusakan mukosa lambung (Robbins 2007)

2.1 Gastritis akut. Gastritis akut merupakan peradangan mukosa lambung yang disebabkan oleh iritan lokal seperti NSAID, kafein alkohol dan endotoksin bakteri. Bahan-bahan tersebut melekat pada epitel lambung dan menghancurkan lapisan mukosa pelindung, membuat daerah epitel gundul dan

kadang disertai perdarahan masuk ke mukosa lambung (Robbins 2007; Wilson & Price 2006)

2.2 Gastritis kronik. Gastritis kronik adalah peradangan mukosa yang akhirnya menyebabkan atrofi mukosa dan metaplasia epitel. Dinding lambung menjadi tipis dan mukosa mempunyai permukaan yang rata (Robbins 2007; Wilson & Price 2006).

2.3 Ulkus gaster. Ulkus gaster adalah efek pada mukosa lambung yang meluas melalui mukosa muskularis hingga submukosa lambung atau lebih dalam (Wilson & Price 2006).

3. Pemeriksaan makroskopis lambung

Pemeriksaan dilakukan pada hewan uji tikus yang dipuaskan terlebih dahulu selama 12 jam namun tetap diberikan minum secukupnya kemudian tikus akan dikorbankan pada waktu yang telah ditentukan. Lambung akan diambil, dibersikan dengan air mengalir secara perlahan dan diperiksa adanya kerusakan atau ulkus yang terjadi. Kerusakan lambung dihitung secara makroskopis dan diberi skor pada tabel 1.

Tabel 1. Kriteria dan skor kerusakan pada lambung tikus

Macam kerusakan	Skor
Lambung Normal	0,0
Kemerahan	0,5
Berbintik	1,0
Pendarahan	1,5
Ulkus >3 atau <5	2,0
Ulkus > 5	3,0

Sumber : Kalra *et al.* (2009)

4. Pengamatan mikroskopis histopatologi lambung

Pengambilan lambung tikus dilakukan pada hari ke-6 yang kemudian dilakukan pemeriksaan secara histologi dengan tahapan sebagai berikut :

4.1 Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan bouin. Fiksasi bertujuan untuk mencegah otolisis oleh enzim dan bakteri, melindungi bentuk fisik dari organ, dan mempersiapkan untuk proses pembuatan sediaan histologi sehingga dapat diamati jaringan pada organ lambung dengan struktur yang mendekati struktur ketika jaringan tersebut hidup.

4.2 Tahap dehidrasi. Proses berikutnya adalah proses dehidrasi menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, 95% dan 100%. Kemudian dilakukan penjernihan dengan xylol dengan tujuan untuk menggantikan tempat alkohol dalam jaringan yang mengalami proses dehidrasi menjelang proses infiltrasi paraffin.

4.3 Tahap *embedding* dan pembuatan blok paraffin. *Embedding* bertujuan untuk memperkeras jaringan sehingga dapat dipotong dengan tipis. Pembuatan blok parafin bertujuan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan, sehingga jika dipotong dengan mikrotom dapat dihasilkan irisan yang tipis.

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

4.5 Tahap pembacaan sampel. Tahap ini merupakan tahap akhir dari uji histopatologi lambung. Pembacaan sampel bertujuan untuk mengamati letak kerusakan sel-sel epitel dan chief sel permukaan pada jaringan mukosa lambung dan menginterpretasikan parameter perubahan histologi jaringan mukosa lambung pada preparat uji. Pada penelitian ini pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya terhadap sediaan histologi untuk melakukan perhitungan sel-sel normal dan sel-sel yang mengalami kerusakan. Parameter yang diukur dan dianalisis adalah bentuk sel epitel kolumner selapis dan sumsum sel kelenjar mukosa dan perhitungan jumlah sel rusak pada setiap 100 sel yang dihitung pada satu lapang pandang (Mustaba 2012).

I. Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram. Tikus putih dan manusia mempunyai fisiologi dan anatomi yang hampir sama, sedangkan kebanyakan proses biokimia dan biofisik juga mirip berdasarkan fungsi fisiologiknya. (Koeman 1987).

Bahkan kemiripannya tidak hanya terbatas pada struktur genomnya saja, tetapi sampai tingkat sekuens DNA (Wart 2004). Tikus putih juga relatif bersih, mudah ditangani, dan perawatannya tidak mahal. Tikus putih juga cukup tahan terhadap infeksi yang umum dan cukup memuaskan untuk penelitian yang membutuhkan tindakan bedah.

1. Sistematika tikus putih

Tikus putih dalam sistematika hewan percobaan diklasifikasikan sebagai berikut (Sugianto 1995) :

Filum	:	Chordata
Subfilum	:	Vertebrata
Kelas	:	Mamalia
Subkelas	:	Placentalia
Ordo	:	Rodentia
Familia	:	Muridae
Genus	:	Rattus
Spesies	:	<i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik

Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya. Terdapat dua sifat yang membedakan tikus putih dan hewan percobaan yang lain, yaitu bahwa tikus putih tidak dapat muntah karena struktur anatominya yang tidak lazim di tempat esophagus bermuara ke dalam lambung dan tikus putih tidak mempunyai kandung empedu. Tikus laboratorium jantan jarang berkelahi seperti mencit jantan, tikus putih lebih menguntungkan daripada mencit (Smith 1988).

3. Jenis kelamin

Kecepatan metabolisme obat pada tikus berkelamin jantan lebih cepat dibandingkan tikus betina, pada tikus betina secara berkala akan mengalami perubahan kondisi dalam tubuhnya seperti masa kehamilan, menyusui dan menstruasi (Subarnas *et al.* 2008).

4. Pengambilan dan pemegangan

Tikus ditempatkan dikandang dengan cara membuka kandang. Mengangkat tikus dengan tangan kanan, dan meletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan dipunggung tikus. Kepala tikus diletakkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking di sekitar perut tikus sehingga kaki depan kiri dan kanan tlerslip diantara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan cara menjepit kulit pada tengkuknya (Harmita & Maksum 2005).

5. Perlakuan dan penyuntikan

Perlakuan oral. Spuit diisi dengan bahan perlakuan kemudian tikus dipegang pada bagian tengkuk dan ekor dijepit dengan jari manis dengan jari kelingking. Ujung kanul dimasukkan dan bahan perlakuan disuntikkan perlahan atau bahan perlakuan juga dapat disemprotkan antara gigi dan pipi bagian dalam, biarkan mencit dan tikus menelan sendiri (Permatasari 2012).

J. Landasan Teori

Daun kol banda (*Pisonia grandis* R.Br) merupakan tumbuhan hias yang cukup terkenal di Indonesia karena keberadaanya yang melimpah. Tanaman ini mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, polifenol dan steroid (Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI 2001, Jayakumari *et al.* 2014, dan Saritha *et al.* 2014). Beberapa penelitian menunjukkan flavonoid, steroid dan saponin merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Flavonoid dapat menghambat jalur 5-lipooksigenase dan jalur COX-2 yang memproduksi mediator nyeri (Paval 2009). Flavonoid juga dapat melindungi mukosa lambung dengan mekanisme antioksidan dan kemungkinan besar berguna dalam membantu terapi gastritis akut dan kronik (Zayachkivska 2005). Antioksidan dapat membantu melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif sekaligus meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap penyakit. Stres oksidatif sendiri berperan dalam patogenesis berbagai penyakit termasuk kerusakan lambung (Trivedi & Rawal 2001).

Selain flavonoid, saponin mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid dan dapat menurunkan fosfolipase A₂ yang menyebabkan menurunnya hidrolisis membran fosfolipid (De Oliveira *et al.* 2001). Saponin juga memiliki efek proteksi lambung dengan kerjanya yang dapat mencegah beberapa reaksi imun nonspesifik. Tanin mengandung zat astringen yang bekerja lokal dengan mengendapkan protein darah sehingga perdarahan dapat dihentikan. Selain itu tanin juga dapat digunakan sebagai vasokonstriktor. Dengan adanya vasokonstriktor maka dapat mengurangi pendarahan dan kerusakan mukosa lambung (Gan 2007). Senyawa steroid secara umum bekerja melalui penghambatan enzim fosfolipase melalui jalur asam arakidonat serta menghambat produksi faktor inflamasi yang penting seperti interleukin, sitokin dan agen kemotaksis, sehingga terjadi penurunan sekresi dari enzim lipolitik dan proteolitik (Grover *et al.* 2007).

Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96%. Pemakaian etanol karena dapat melarutkan senyawa polar dan non polar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman (Anonim 2000). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel dan memperbaiki stabilitas pelarut (Depkes 1987). Zat kimia yang digunakan untuk menginduksi agar terbentuk edema adalah karagenan 1%. Karagenan sebagai penginduksi radang memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat inflamasi dibandingkan senyawa iritan lainnya (Morris 2003).

Dosis ekstrak daun kol banda pada uji efek antiinflamasi dan saluran cerna digunakan dari penelitian Radha *et al.* (2012) dengan dosis efektif 400 mg/kg BB tikus. Dosis ini digunakan untuk orientasi dosis. Kontrol positif yang digunakan adalah obat golongan steroid (metilprednisolon), non steroid (natrium diklofenak dan selekoksib). Metilprednisolon menghambat enzim fosfolipase A₂ sehingga asam arakidonat tidak terbentuk. Natrium diklofenak merupakan obat AINS yang bersifat tidak selektif dan selekoksib bersifat selektif. Penggunaan natrium diklofenak pada uji antiinflamasi karena mekanisme kerjanya melalui penghambatan enzim COX-1 dan COX-2. Enzim ini berperan dalam

mengkatalisis reaksi pembentukan prostaglandin (PGE2) dan tromboksan dari asam arakidonat yang merupakan mediator utama inflamasi. Sedangkan mekanisme kerja selekoksib menghambat enzim COX-2 sehingga mediator radang prostaglandin tidak terbentuk.

Keamanan ekstrak daun kol banda pada saluran cerna diamati secara makroskopik dan histologi dengan menggunakan skoring keparahan tukak. Lambung yang telah mengalami tukak diambil gambarnya dan dihitung jumlah tukak yang kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol.

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol daun kol banda dapat memberikan aktivitas antiinflamasi pada tikus jantan yang diinduksi karagenan.

Kedua, ekstrak etanol daun kol banda memiliki aktivitas antiinflamasi setara dengan kelompok kontrol.

Ketiga, ekstrak etanol daun kol banda aman terhadap lambung tikus putih

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi ialah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun dari tanaman kol banda yang diperoleh dari daerah Ketelan, Banjarsari, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel ialah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kol banda yang diambil secara acak dengan kondisi daun berwarna hijau tua yang masih segar dan bersih dari kotoran yang diperoleh dari daerah Ketelan, Banjarsari, Surakarta, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak daun kol banda. Variabel utama kedua adalah penurunan volume edema pada tikus putih jantan galur wistar. Variabel utama ketiga adalah efek iritasi ekstrak etanol daun kol banda pada tikus putih jantan galur wistar.

C. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah teridentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan yang dilakukan. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah dosis sediaan uji yang mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi.

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda terhadap tikus putih jantan yang dinyatakan sebagai persentase penghambat edema dan keamanannya terhadap saluran cerna.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah tikus, galur, kualitas makanan tikus, proses pembuatan dan pemberian sediaan uji, metode uji, jalinan yang diamati pada saluran cerna yaitu lambung tikus, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, jenis kelamin, usia, dan kondisi laboratorium.

D. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun kol banda yang digunakan berasal dari tanaman kol banda yang diperoleh dari Ketelan, Banjarsari, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun kol banda yang didapat berasal dari daun kol banda yang dicuci bersih, dirajang menjadi potongan kecil, dikeringkan dengan oven sampai kering kemudian diblender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak daun kol banda yang didapat merupakan hasil ekstraksi dari serbuk daun kol banda menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% yang kemudian dipekatkan dengan evaporator.

Keempat, hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar dengan berat 180-200 gram dengan umur 2-3 bulan

Kelima, inflamasi adalah peradangan pada kaki tikus yang diinduksi dengan karagenan 1 mg/200 g BB tikus.

Keenam, efek antiinflamasi adalah besarnya volume kaki tikus yang diberi induksi karagenan dikurangi volume kaki tikus yang diberi ekstrak bahan uji yang diukur dengan pletismometer = $vt_2 - vt_1$

Ketujuh, persen daya antiinflamasi adalah besarnya daya hambat ekstrak daun kol banda terhadap edem pada kaki tikus putih jantan galur wistar = $\frac{AUCK - AUCP}{AUCK} \times 100\%$

Kedelapan, efek keamanan terhadap saluran cerna adalah kemampuan yang ditunjukkan dengan tidak adanya iritasi pada lambung setelah diberikan perlakuan pada tikus yang dilengkapi dengan gambaran makroskopis dan histopatologi lambung tikus.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jarum oral 3 (Terumo), alat pembuatan histologi jaringan, alat, *Sterling Bidwell* batang pengaduk, *chamber*, botol kaca ukuran 10 ml, corong, corong pisah, gelas ukur, gelas beker, inkubator, neraca elektrik (Shimadzu, tipe LS-6DT), pletismometer, timbangan tikus (Ohaus), mortir, stamper, labu takar, alat maserasi, alat bedah, sendok tanduk, spatula, oven, pipet mikro, pipet ukur, rak tabung reaksi, rotari evaporator, tabung reaksi, tabung sentrifugasi, spektrofotometer UV-VIS.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bahan uji berupa daun kol banda yang diperoleh dari ketelan, Banjarsari, Surakarta, Jawa Tengah. Daun kol banda di ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan air suling. Bahan penginduksi lamda karagenan (*Sigma Chemical*), bahan uji antiinflamasi yaitu tikus jantan galur wistar umur 2-3 bulan, natrium diklofenak, selekoksib, natrium CMC. Bahan untuk pemeriksaan lambung yaitu NaCl, larutan salin, larutan bouin, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol 100%, parafin, *hematoxylin*, *acid alkohol*, albumin, gliserol, eosin.

Identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak herba simplisia menggunakan bahan antara lain pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, aquadest, serbuk magnesium, HCL pekat, alkohol, dan asam asetat anhidrat serta asam sulfat pekat yang keduanya juga dipakai untuk uji bebas alkohol.

F. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 g sebanyak 25 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok.

G. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman kol banda

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini ialah memastikan kebenaran tanaman kol banda berkaitan dengan ciri-ciri morfologis pada tanaman kol banda. Tanaman kol banda terlebih dahulu dideterminasi di Laboratorium MIPA Biologi Fakultas Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

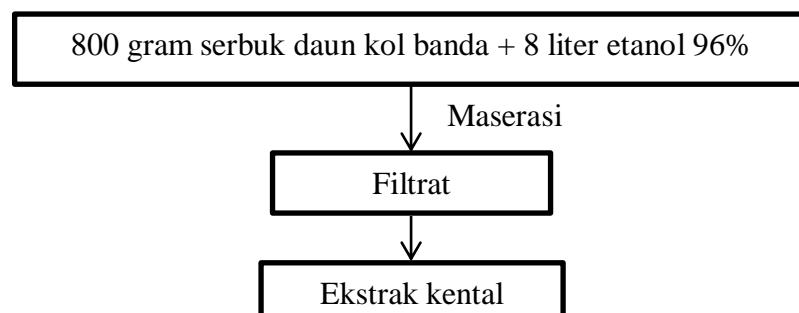
2. Pengambilan sampel daun kol banda

Daun kol banda yang digunakan dalam keadaan segar. Daun yang telah dipanen dilakukan penyortiran kemudian ditimbang sebanyak 15 kg lalu dicuci dengan air, kemudian dilakukan proses perajangan selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C – 55°C. Kemudian diayak dengan ayakan no 40, sehingga diperoleh serbuk yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen (Depkes 1985).

3. Pembuatan ekstrak etanol daun kol banda

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, dengan perbandingan 1:10. Ditimbang serbuk daun kol banda sebanyak 800 gram, kemudian dimasukkan kedalam botol coklat lalu ditambah etanol 96% sebanyak 8 L lalu ditutup. Botol tersebut kemudian disimpan dalam ruangan terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari sambil sesekali digojok. Setelah 5 hari maserat disaring dan diperas. Maserat dipindahkan kedalam suatu bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk yang terlindung dari cahaya hingga terbentuk endapan. Maserat yang didapat kemudian disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimal 50° C sampai bebas etanol dan sampai dihasilkan ekstrak kental. Rumus perhitungan persen rendamen ekstrak :

$$\text{Rendamen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100 \%$$



Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun kol banda

4. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air daun kol banda dilakukan dengan alat *Sterling-Bidwell*, serbuk ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell*, kemudian ditambahkan xylene sebanyak 125 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi. Selanjutnya dilihat volume tetesan dan dihitung kadarnya dalam satuan persen dengan rumus :

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

Keterangan :

V = volume air yang terdestilasi (ml)

W = jumlah serbuk dan ekstrak yang dambil (gram) (Apriyantono *et al.* 1989))

5. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kol banda

5.1 Flavonoid. Sebanyak 0,5 mg serbuk dan ekstrak daun kol banda ditambahkan 2 ml etanol 95% dimasukkan ke dalam tabung, ditambah 2 mg serbuk Mg dimasukkan ke dalam tabung, ditambah larutan alkohol : asam klorida (1 : 1) sebanyak 2 ml dan pelarut amil alkohol. Selanjutnya campuran dikocok kuar lalu dibiarkan memisah. Hasil positif jika terbentuk warna merah/kuning/jingga (Depkes 1995; Zaini 2016).

5.2 Steroid. Sebanyak 0,5 mg serbuk dan ekstrak daun kol banda ditambahkan 2 ml kloroform dan ditambahkan dengan *Lieberman-Bourchard* (5 ml asam asetat anhidrat ditambahkan H_2SO_4 5 ml dan etanol 5 ml). Hasil positif jika berwarna biru atau hijau (Zaini 2016).

5.3 Tanin. Sebanyak 0,5 mg serbuk dan ekstrak daun kol banda ditambah 5 ml air didihkan selama 15 menit, kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Jika tanin positif maka akan terbentuk warna hijau kehitaman (Widowati 2006 ; Zaini 2016).

5.4 Saponin. Sebanyak 0,5 mg serbuk dan ekstrak daun kol banda ditambah 5 ml aquadest panas dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dikocok vertikal selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil menunjukkan adanya saponin (Walidah 2014).

6. Uji bebas alkohol ekstrak daun kol banda

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun kol banda dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, bila tidak terdapat bau ester berarti pada ekstrak sudah tidak terdapat alkohol (Wahyuningsih 2010).

7. Pembuatan larutan

7.1 Suspensi CMC-Na 0,5 %. CMC-Na konsentrasi 0,5% adalah larutan yang digunakan sebagai kontrol negatif, dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC-Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap ditambah sedikit aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai mengembang kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan menggerusnya lalu menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

7.2 Larutan lambda karagenan 1%. Pembuatan larutan lambda karagenan dilakukan dengan cara menimbang 100 mg lambda karagenan, kemudian dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis (0,9%) hingga volume 10 ml, akan diperoleh larutan lambda karagenan 1% (b/v), sebelum disuntikkan larutan lambda karagenan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Blue 2014). Volume injeksi secara intraplanar pada telapak kaki setiap tikus sebanyak 0,1 ml sudah dapat menimbulkan udem yang dapat teramati secara jelas (Falodum *et al.* 2013).

7.3 Pembuatan suspensi natrium diklofenak 1%. Larutan stock ini dibuat dengan cara suspensi natrium diklofenak kedalam CMC-Na. Menimbang 500 mg CMC-Na kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap, ditambahkan aquadest secukupnya dan dipanaskan sampai mengembang. Dimasukkan ke dalam mortir sambil digerus hingga homogen. Menimbang 450 mg natrium diklofenak dimasukkan kedalam mortir yang berisi suspensi CMC-Na, gerus sambil menambahkan aquadest sampai volume 100 ml, hingga diperoleh konsentrasi 4,5 mg/ml.

7.4 Pembuatan suspensi selekoksib 1%. Suspensi selekoksib dibuat dengan cara menimbang 500 mg CMC-Na kemudian dimasukkan kedalam cawan penguap yang telah berisi air panas, kemudian tunggu hingga mengembang. Gerus

hingga homogen. Menimbang 900 mg natrium diklofenak dimasukkan ke dalam mortir yang berisi suspensi CMC-Na, gerus sambil menambahkan aquadest sampai volume 100 ml, hingga diperoleh konsentrasi 9 mg/ml.

7.5 Suspensi metilprednisolon. Suspensi metilprednisolon dibuat dengan cara menimbang 500 mg CMC-Na kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap yang telah berisi air panas, kemudian tunggu hingga mengembang. Gerus hingga homogen. Menimbang 36 mg metilprednisolon dimasukkan ke dalam mortir yang berisi suspensi CMC-Na, gerus sambil menambahkan aquadest sampai volume 100 ml, hingga diperoleh konsentrasi 0,36 mg/ml.

7.6 Suspensi ekstrak daun kol banda. Pembuatan sediaan uji ekstrak dilakukan dengan cara menimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan kedalam cawan penguap yang telah berisi air panas dan diaduk hingga mengembang. Ditimbang ekstrak daun kol banda 800 gram lalu digerus dalam mortir dengan tujuan untuk mengecilkan partikel setelah itu ditambahkan mucilago CMC-Na sampai volume 50 ml dan diaduk sampai homogen.

8. Penentuan Dosis

8.1 Dosis natrium diklofenak. Dosis natrium diklofenak dihitung dari dosis lazim. Faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis terapi natrium diklofenak untuk manusia 70 kg adalah 50 mg, dosis untuk tikus (sekitar 200 g) adalah 50 mg dikali 0,018 sehingga didapatkan 0,9 mg/200 g BB tikus (4,5 mg/kg BB tikus).

8.2 Dosis selekoksib. Dosis selekoksib dihitung dari dosis lazim. Faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis terapi selekoksib untuk manusia 70 kg adalah 100 mg, dosis untuk tikus (sekitar 200 g) adalah 100 mg dikali 0,018 sehingga didapatkan 1,8 mg/200 g BB tikus (9 mg/kg BB tikus).

8.3 Dosis metilprednisolon. Dosis metilprednisolon pada manusia ialah 4 mg. Faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis metilprednisolon 4 mg dikali 0,018 sehingga didapat 0,072 mg/ 200 g BB tikus (0,36 mg/kg BB tikus).

8.3 Dosis sediaan uji. Acuan dosis menggunakan jurnal Radha *et al.* (2008) jurnal tersebut menggunakan daun kol banda sebagai antiinflamasi pada tikus jantan yang diinduksi karagenan, dengan dosis 200 dan 400 mg/kg BB tikus.

9. Pengujian aktivitas antiinflamasi

Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar berumur 2-3 bulan dengan bobot 180-200 g. Kelompok percobaan dibagi menjadi 5 kelompok, hewan uji dipuaskan 12 jam sebelum pengujian, namun air minum tetap diberikan. Pertama tikus ditimbang kemudian di kelompokkan secara acak. Ada 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. Pada kaki kiri belakang diberi tanda pada mata kaki untuk diinduksi, kemudian diukur volumenya terlebih dahulu dengan cara memasukkan telapak kaki tikus ke dalam raksa hingga tanda batas. Setiap tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya.

Tabel 2. Perlakuan uji antiinflamasi

Kelompok	Perlakuan
I	Kontrol negatif (CMC-Na)
II	Kontrol positif (na diklofenak) dosis 4,5 mg/kg BB tikus
III	Kontrol positif (selekoksib) dosis 9 mg/kg BB tikus
IV	Kontrol positif (metilprednisolon) dosis 0,36 mg/kg BB tikus
V	Ekstrak dosis 400 mg/kg BB tikus

Satu jam kemudian diinduksi larutan lambda karagenan 1% pada telapak kaki kiri belakang dengan volume 0,1 ml. Volume telapak kaki diukur pada jam ke 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 setelah diinduksi lambda karagenan, telapak kaki tikus dimasukkan ke dalam alat pletismometer hingga tanda batas. Data yang diperoleh berupa volume edema sebelum dan sesudah induksi karagenan. Hasil data volume edema selanjutnya dibuat kurva hubungan volume edema terhadap waktu sehingga dapat diketahui nilai AUC dari masing-masing tikus. Dari data AUC dapat ditentukan persentase daya antiinflamasi (DAI) dari masing-masing kelompok perlakuan. Penentuan nilai AUC menggunakan rumus sebagai berikut :

Menghitung volume udem (Kakoti 2013) :

$$Vu = Vt - V_0$$

Keterangan :

- V_u = volume edema kaki tikus tiap waktu (t)
- V_t = volume edema kaki tikus setelah diradangkan dengan karagenan 1% pada waktu (t)
- V_0 = volume edema kaki tikus sebelum diradangkan dengan karagenan 1%

Setelah di peroleh volume edema, kemudian dibuat kurva perbandingan volume edema dan waktu. AUC (Area Under Curve) yaitu luas daerah rata-rata dibawah kurva yang merupakan hubungan antara volume edema rata-rata tiap satuan waktu dengan lama waktu perlakuan. Dengan rumus :

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

Keterangan :

- Vt_{n-1} = volume edema rata-rata pada t_{n-1}
- Vt_n = volume edema rata-rata pada t_n

Presentase daya antiinflamasi dapat di hitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Keterangan :

- AUC_k = AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kontrol negatif
- AUC_p = AUC kurva volume edema rata-rata terhadap waktu untuk kelompok perlakuan tiap individu

10. Pengujian keamanan lambung

Pengujian keamanan lambung dilakukan pada kelompok yang sama pada uji antiinflamasi, pemberian sediaan uji dilakukan secara terus menerus hingga hari ke-5 sebanyak 1 kali sehari secara peroral 1 ml. Pada hari ke-5, tikus-tikus tersebut dipuasakan selama 12 jam (diberi air seperlunya), dan pada hari ke-6 hewan uji dikorbankan dengan cara decapitation (perusakan otak lewat leher). Decapitation dilakukan dengan jalan memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang kemudian dilakukan pembedahan untuk diambil lambungnya. Pembedahan dilakukan dengan mengincisi peritoneum. Incisi dilakukan selebar

mungkin untuk memudahkan pengambilan organ. Lambung terletak dibawah sekat rongga badan sebelah kiri, lambung diambil dan dicuci dengan NaCl-fisiologis 0,9% kemudian dimasukkan kedalam larutan bouin. Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan bagian perut di balik dan diletakkan di atas jari telunjuk dan diamati ada atau tidaknya iritasi lambung.

Tabel 3. Kriteria dan skor kerusakan pada lambung tikus

Macam Kerusakan	Skor
Lambung Normal	0,0
Kemerahan	0,5
Berbintik	1,0
Pendarahan	1,5
Ulkus >3 atau <5	2,0
Ulkus > 5	3,0

Sumber : Kalra *et al.* (2009)

11. Perlakuan hewan uji pasca bedah

Pada akhir penelitian setelah hewan uji dibedah dan diambil organnya, selanjutnya jasad hewan uji dikubur dengan membuat lubang dengan kedalaman minimal setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan. Hewan uji dikubur di tempat yang telah disediakan di Universitas Setia Budi

12. Pemeriksaan histopatologi

12.1 Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan bouin. Pada proses ini organ lambung difiksasi dengan cairan bouin selama 3 jam, kemudian lambung dipindahkan kedalam larutan alkohol 70%.

12.2 Tahap dehidrasi. Proses berikutnya adalah proses dehidrasi menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% masing-masing selama 2 jam. Kemudian dilakukan penjernihan dengan xylol sebanyak 3 kali masing-masing selama 30 menit.

12.3 Tahap embedding dan Pembuatan blok paraffin. Jaringan dicetak dengan menggunakan parafin sehingga tercetak di dalam blok-blok parafin selanjutnya diinkubasi pada suhu 58° – 60°C. Blok-blok parafin kemudian disimpan dalam lemari es agar mengeras. Selanjutnya blok-blok parafin dipotong tipis 5 µm menggunakan mikrotom, lalu dimasukkan dalam air panas dan diletakkan pada gelas objek.

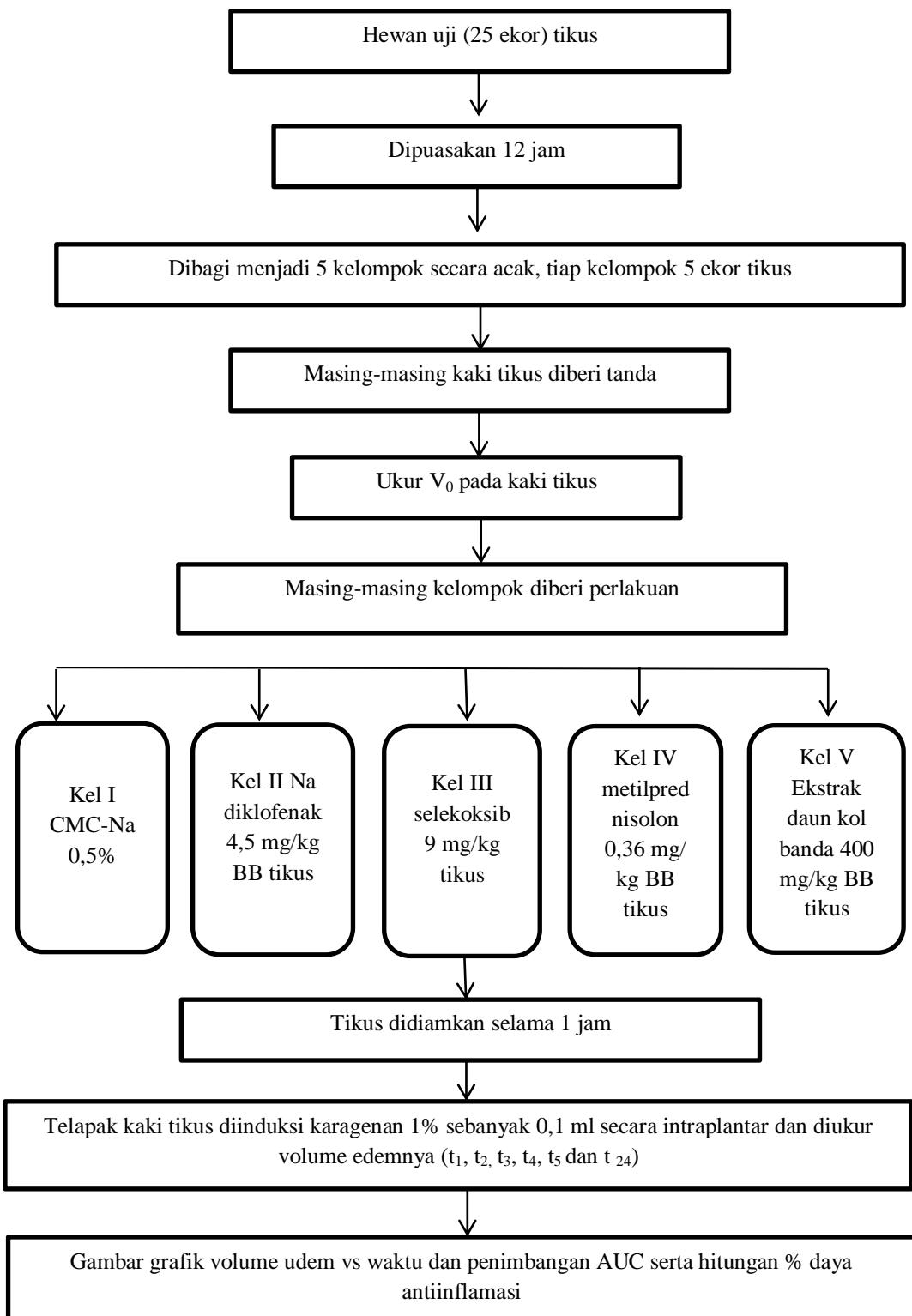
12.4 Tahap deparafinasi dan rehidrasi. Sediaan preparat direndam dalam xylol 1 dan 2 masing-masing 5 menit, kemudian direndam dalam alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 90% dan alkohol 70% masing-masing selama 2 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya direndam dengan *hematoxylin* beberapa menit dan dibilas kembali dengan air mengalir, lalu dibilas dengan *acid alkohol*. Tahapan berikutnya adalah membilas kembali dengan alkohol 70%, alkohol 90% dan alkohol 96%. Sediaan preparat selanjutnya direndam dengan eosin 2 menit dan dibilas kembali dengan 70% dan xylol. Sediaan preparat kemudian dikeringkan dan pada gelas objek diberi albumin : gliserol (1:1).

12.5 Tahap pembacaan sampel. Tahap ini merupakan tahap akhir dari uji histopatologi lambung. Pada penelitian ini pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya terhadap sediaan histologi dengan pembesaran 10x dan 40x. Parameter yang diukur dan dianalisis adalah bentuk sel epitel kolumner selapis dan susunan sel kelenjar mukosa (Mustaba 2012).

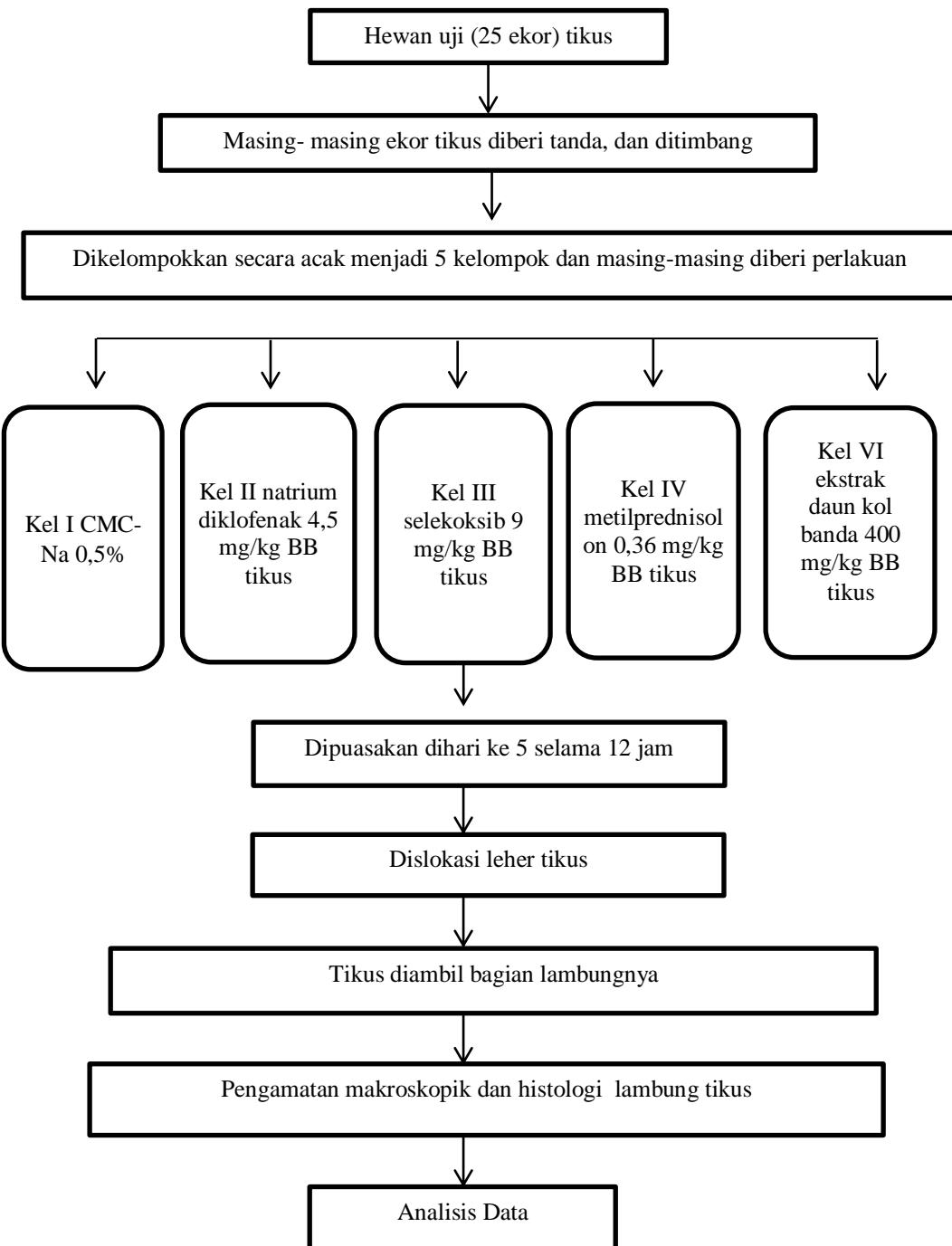
H. Analisis Data

Data hasil pengukuran kaki tikus dan gambaran histopatologi yang diperoleh dianalisis statistik dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, jika data terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilanjutkan dengan menggunakan ANOVA *one away* dan dilanjutkan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. Jika data tidak terdistribusi normal ($p<0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Data hasil pengamatan ulkus pada lambung akan diuji menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan dalam seluruh kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui letak adanya perbedaan antar kelompok perlakuan.



Gambar 7. Skema uji antiinflamasi



Gambar 8. Skema pengamatan iritasi lambung tikus secara makroskopis dan histopatologi (Vogel 2002)

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Kol Banda (*Pisonia grandis* R.Br)

1. Hasil determinasi tanaman kol banda

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian berdasarkan dari ciri morfologi. Determinasi tanaman kol banda dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret dengan berpedoman pada buku C.A. Backer & R.C. Bachuizen Van dan Brink Jr (1963;1965). Hasil determinasi tanaman kol banda sebagai berikut : 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 - 419c - 420b - 421a ____65. Nyctaginaceae 1b - 3b ____ 4. *Pisonia* 1a-2b ____ *Pisonia grandis* R.Br. Hasil dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan sampel, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kol banda yang diperoleh dari daerah Ketelan, Banjarsari, Surakarta, Jawa Tengah pada bulan November 2017. Daun diambil dalam kondisi segar, tidak busuk dan berwarna hijau. Daun kol banda yang telah diambil kemudian dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran dan ditiriskan. Daun kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50⁰C-55⁰C. Tujuan dari pengeringan untuk mengurangi kadar air serta mencegah terjadinya perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu dan juga menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri. Hasil pengeringan daun kol banda dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengeringan daun kol banda

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen % b/b
15.000	2500	16,67

Foto daun, serbuk, dan ekstrak daun kol banda dapat dilihat pada Lampiran 5.

3. Hasil pembuatan serbuk daun kol banda

Simplisia yang telah kering selanjutnya digiling dengan menggunakan mesin penggiling dan kemudian diayak dengan ayakan mesh 40. Serbuk yang masih tertahan pada ayakan selanjutnya diblender dan diayak kembali hingga

menjadi serbuk. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperhalus permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif dan ukuran partikel juga tidak boleh terlalu kecil sebab dikhawatirkan pada saat penyaringan kemungkinan partikel yang terlalu kecil akan lolos dari kertas saring. Hasil perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen serbuk daun kol banda

Berat kering (gram)	Berat serbuk (gram)	Rendemen % b/b
2500	800	32

4. Hasil penetapan kadar air

Serbuk daun kol banda sebanyak 20 g diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Kadar air yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kol banda dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kol banda

Replikasi	Berat awal (gram)	volume air (ml)	Kadar %
1	20,00	1,3	6,50
2	20,07	1,4	6,97
3	20,05	1,2	5,98
Rata-rata±SD			6,48±0,49

Kadar air serbuk daun kol banda memenuhi syarat yaitu kadar air tidak melebihi 10%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk dan akan mudah ditumbuhi oleh jamur (Gunawan & Mulyani 2004). Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 8.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kol banda

Metode ekstraksi pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% bertujuan agar bisa menarik senyawa yang dikehendaki seperti flavonoid, saponin, steroid, dan tanin. Wadah maserasi yang digunakan berkaca gelap untuk menghindarkan dari sinar matahari langsung. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar selama 5 hari. Hasil maserat yang diperoleh dipekatkan dahulu menggunakan evaporator kemudian

dipekatkan lagi menggunakan oven pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kol banda dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Rendemen ekstrak etanol daun kol banda

Serbuk daun kol banda (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%) b/b
800	153,6	19,2

Hasil perhitungan rendemen daun kol banda dapat dilihat pada Lampiran 9.

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa dari 800 gram bahan serbuk daun kol banda yang dimaserasi dengan etanol 96% diperoleh ekstrak sebanyak 153,6 gram dengan persentase rendemen sebanyak 19,2%.

6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun kol banda

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun kol banda bertujuan untuk memastikan bahwa kandungan alkohol (etanol) yang terkandung di dalam ekstrak telah hilang dan tidak mempengaruhi hasil uji. Ekstrak daun kol banda dilakukan esterifikasi etanol. Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak daun kol banda dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun kol banda

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H_2SO_4 pekat + CH_3COOH kemudian dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester etil asetat	Tidak terbentuk bau ester etil asetat

7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia

Serbuk dan ekstrak etanol daun kol banda yang diperoleh di identifikasi kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Hasil identifikasi kandungan kimia daun kol banda dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kol banda

Senyawa	Pereaksi	Hasil			Ket
		Serbuk	Ekstrak	Pustaka	
Flavonoid	Mg + HCl pekat	Kuning pada lapisan amil alcohol	Merah jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna merah/kuning/jingga (Depkes 1995)	+
Steroid	<i>Liberman Bourchad</i>	Warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan berahir biru	Warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan berahir biru	Terbentuk warna biru atau hijau (Zaini 2016)	+
Tanin	FeCl_3	Terbentuk warna biru kehitaman	Warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman (Zaini 2016)	+
Saponin	Air panas	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Adanya buih yang stabil (Walidah 2014)	+

Berdasarkan pengujian tersebut, serbuk dan ekstrak etanol daun kol banda mengandung flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Hasil identifikasi ini sesuai dengan penelitian Radha *et al.* (2008) bahwa daun kol banda mengandung senyawa tersebut. Foto hasil uji identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 6.

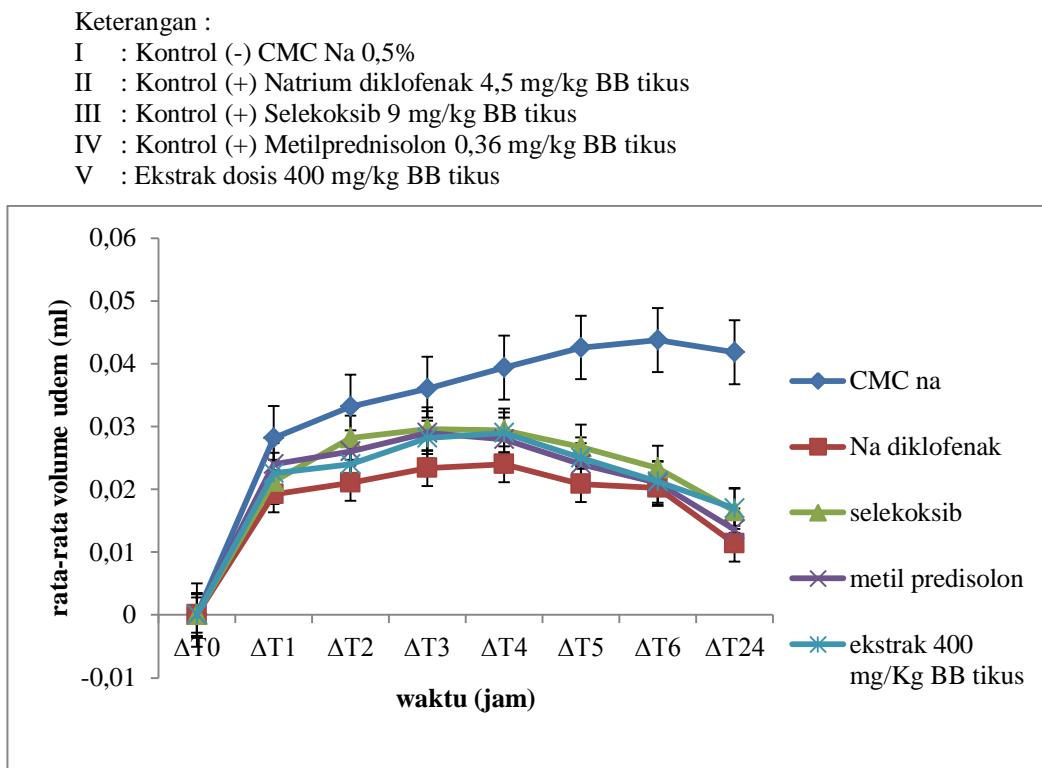
8. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda

Pengujian efek antiinflamasi menggunakan metode *Rat hind paw oedema* atau pembentukan radang buatan pada telapak kaki belakang tikus putih jantan. Metode ini dipilih karena edema atau radang merupakan salah satu gejala inflamasi yang dapat digunakan sebagai parameter untuk mengukur potensi antiinflamasi suatu senyawa. Potensi antiinflamasi diukur berdasarkan kemampuan senyawa tersebut untuk menghambat dan mengurangi terjadinya radang. Pada penelitian ini radang dibuat dengan menginduksi telapak kaki tikus dengan larutan karagenan 1% b/v sebanyak 0,1 ml, akan menyebabkan edema yang terbentuk setelah tiga puluh menit. Karagenan dibagi menjadi tiga jenis, yaitu kappa karagenan, iota karagenan, dan lambda karagenan. Pada penelitian ini menggunakan jenis karagenan lambda. Karagenan dipilih untuk menguji efek antiinflamasi karena bersifat antigenik dan tidak menimbulkan efek sistemik (Chakraborty *et al.* 2004). Volume edema diukur sebelum dan sesudah pemberian zat yang diuji dengan menggunakan alat *Plethysmograph*. Pada uji ini menggunakan 25 ekor tikus terbagi dalam 5 kelompok uji yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan ekstrak daun kol banda 400 mg/ kg BB. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan berupa volume subplantar kaki tikus dari jam ke 1 hingga jam ke 6 dan jam ke 24 setelah induksi karagenan.

Pengujian efek antiinflamasi didapatkan data kuantitatif rata-rata penurunan volume edema pada telapak kaki tikus, hasil perlakuan dapat dilihat pada tabel 10. Hasil perhitungan diplotkan pada gambar 8.

Tabel 10. Hasil perhitungan rata-rata volume udem pada telapak kaki tikus

Kelompok	Jam ke							
	0	1	2	3	4	5	6	24
I	0,019	0,028	0,033	0,036	0,039	0,042	0,043	0,041
II	0,020	0,019	0,021	0,023	0,024	0,020	0,020	0,011
III	0,020	0,021	0,028	0,029	0,029	0,026	0,023	0,016
IV	0,019	0,024	0,026	0,029	0,028	0,024	0,021	0,013
V	0,019	0,022	0,024	0,028	0,029	0,025	0,021	0,017



Gambar 9. Rata-rata penurunan volume edem pada telapak kaki tikus

Kelompok kontrol negatif mempunyai volume edema lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain yang juga diinduksi karagenan. Hal ini dikarenakan CMC merupakan suatu *suspending agent* yang tidak mempunyai aktivitas antiinflamasi. Pada kelompok negatif yang diberi CMC Na mengalami peningkatan volume edema mulai dari jam ke 1 yang mampu bertahan selama 6 jam karena tidak adanya proses penghambatan pada ketiga proses terjadinya inflamasi oleh karagenan dan mengalami penurunan 24 jam kemudian. Menurut (Moris 2003) terbentuknya edema akibat dari induksi karagenan terdiri dari 3 fase. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 sampai 2,5 jam setelah diinduksi dan fase ketiga pada 3 jam setelah induksi dan akan berkurang hingga 24 jam. Lambda karagenan dapat memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi, tidak meninggalkan bekas serta tidak menimbulkan kerusakan jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa karagenan mampu memberikan efek antiinflamasi pada tikus dan membuktikan bahwa metode ini sudah tepat untuk pengujian antiinflamasi.

Pada penelitian ini menggunakan 3 kelompok kontrol positif yaitu natrium diklofenak, selekoksib, dan metilprednisolon. Pada kelompok natrium diklofenak dengan dosis 0,45 mg/200 g BB menunjukkan volume telapak kaki tikus meningkat pada jam ke 1, volume telapak kaki tertinggi terjadi pada jam ke 4, lalu volume tersebut menurun hingga jam ke 24. Grafik diatas menunjukkan bahwa kenaikan volume edem kaki tikus pada kontrol positif natrium diklofenak yang paling rendah karena merupakan senyawa yang telah terbukti sebagai antiinflamasi dengan kerja obat yang cepat. Natrium diklofenak bekerja menghambat enzim siklooksigenase (COX). COX terdiri dari dua iso-enzim, yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 terdapat dikebanyakan jaringan, antara lain di darah, ginjal, dan saluran cerna. Zat ini berperan untuk mengatur proses seluler normal, agregasi trombosit, pemeliharaan perfusi ginjal, dan melindungi lambung dengan jalan membentuk bikarbonat dan lendir, serta menghambat produksi asam. COX-2 secara normal tidak terdapat di jaringan, tetapi dibentuk oleh sel-sel inflamasi. Penghambatan COX-2 inilah yang memberikan efek antiinflamasi.

Natrium diklofenak merupakan obat AINS non selektif karena dapat bekerja menghambat enzim COX-1 dan COX-2 yang berperan dalam metabolisme asam arakidonat menjadi prostaglandin (Tjay dan Kirana 2002). Mediator prostaglandin dibentuk 3 jam setelah induksi lambda karagenan (Morris 2003). Dosis lazim natrium diklofenak pada manusia adalah 50 sampai 200 mg per hari diberikan dalam dosis terbagi dan efek-efek yang tidak diinginkan bisa terjadi pada kira-kira 20% dari pasien meliputi gangguan dan perdarahan gastrointestinal, dan timbulnya ulserasi lambung (Katzung 2002). Absorbsi natrium diklofenak berlangsung cepat, terikat 99% pada protein plasma, mengalami *Fist-pass effect* sebesar 40-50% dan memiliki waktu paruh 1-2 jam, onset 30 menit dan durasi 8 jam (Katzung 2007).

Selekoksib merupakan obat AINS yang sangat selektif menghambat COX-2. Dosis lazim selekoksib pada manusia adalah 100 sampai 200 mg per hari dan memiliki efek samping yang lebih ringan dibanding OAINS lain seperti natrium diklofenak. Penyerapannya dipengaruhi 20-30% oleh makanan, waktu paruh 11 jam dan sangat terikat protein. Kelompok positif selekoksib dengan dosis 1,8 mg/200 g BB volume telapak kaki tikus meningkat pada jam ke 1, volume telapak

kaki tertinggi terjadi pada jam ke 3, lalu volume tersebut menurun hingga jam ke 24.

Metilprednisolon merupakan obat antiinflamasi steroid yang dapat menghambat enzim fosfolipase A2 sehingga COX-1 dan COX-2 tidak terbentuk sehingga peradangan juga tidak terbentuk. Dosis lazim metilprednisolon untuk manusia adalah 4-48 mg per hari, dosis tunggal atau terbagi tergantung keadaan penyakit. Efek samping metilprednisolon biasanya terlihat pada pemberian jangka panjang atau pemberian dalam dosis besar, misalnya gangguan elektrolit dan cairan tubuh, kelemahan otot, resistensi terhadap infeksi menurun, gangguan penyembuhan luka, meningkatnya tekanan darah, katarak, gangguan pertumbuhan pada anak-anak, osteoporosis dan tukak lambung. Kelompok positif metilprednisolon dengan dosis 0,072 mg/200 g BB volume telapak kaki tikus meningkat pada jam ke 1, volume telapak kaki tertinggi terjadi pada jam ke 3, lalu volume tersebut menurun hingga jam ke 24. Absorbsi metilprednisolon 80-90% dan memiliki waktu paruh 3,5 jam atau lebih.

Pada kelompok perlakuan ekstrak dengan dosis 80 mg/200 g BB volume telapak kaki tikus meningkat pada jam ke 1, volume telapak kaki tertinggi terjadi pada jam ke 4, lalu volume tersebut menurun hingga jam ke 24, sehingga menunjukkan bahwa ekstrak daun kol banda memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Efek antiinflamasi yang terjadi dimungkinkan karena adanya kandungan flavonoid, steroid, saponin dan tanin dalam ekstrak.

Dari kurva volume edema akan dihitung luas area dibawah kurva (AUC). nilai AUC dapat menunjukkan perbedaan antara kontrol dan perlakuan. Dengan adanya nilai AUC dapat dihitung daya antiinflamasi dari masing-masing kelompok. Daya antiinflamasi (DAI) yang dimaksud adalah kemampuan bahan uji untuk mengurangi pembengkakan kaki hewan uji akibat adanya edema dari pemberian karagenan. Hasil harga AUC dan persen daya antiinflamasi dapat dilihat pada tabel 11. Perhitungan AUC dan persen daya antiinflamasi dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 11. Rata-rata AUC_{total} dan rata-rata DAI (%)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata AUC _{total} ± SD	Rata-rata % DAI ± SD
CMC-Na	0,135±0,0038 ^b	-
Natrium diklofenak 4,5 mg/kg BB	0,057±0,0019 ^{ab}	59,11±1,333 ^b
Selekoksib 9 mg/kg BB	0,072±0,0018 ^a	47,804±1,377
Metilprednisolon 0,36 mg/kg BB	0,065±0,0056 ^a	53,106±4,945
Ekstrak dosis 400 mg/kg BB	0,069±0,0042 ^a	50,262±3,865

Keterangan :

a = Berbeda bermakna terhadap kontrol (-)

b = Berbeda bermakna terhadap ekstrak 400 mg /kg BB tikus

Dari hasil uji *Shapiro-wilk* data total AUC tiap tikus menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi ($p>0,05$), dan homogen dengan nilai signifikansi (0,051) dilanjutkan uji *one way* ANOVA diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p<0,05$) artinya menunjukkan perbedaan bermakna bahwa kelompok negatif berbeda makna dengan kelompok kontrol positif dan kelompok dosis ekstrak 400 mg/kg BB tikus. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok positif dan kelompok ekstrak memiliki efek antiinfamasi pada tikus putih jantan galur wistar yang di induksi karagenan. Setelah mendapatkan data AUC dari masing-masing perlakuan, selanjutnya data AUC digunakan untuk menghitung persentase daya antiinflamasi. Daya antiinflamasi ini digunakan untuk mengetahui berapa besar kemampuan setiap dosis zat uji dalam menghambat edema pada kaki tikus karena induksi dari karagenan 1%. Hal ini ditunjukkan apabila semakin kecil nilai dari AUC maka kemampuan menghambat edema semakin baik, sehingga persen daya antiinflamasi semakin besar.

Hasil uji *Shapiro-Wilk test* diperoleh data DAI (daya antiinflamasi) terdistribusi normal ($p>0,05$) dan homogen dengan nilai signifikansi 0,012 ($p<0,05$). Hasil dari uji *One Way* ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikan 0,000 ($<0,05$). Kelompok ekstrak etanol daun kol banda dosis 400 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif, sehingga membuktikan kelompok ekstrak daun kol banda berefek sebagai antiinflamasi dan sebanding dengan kontrol positif selekoksib dan metilpredniolon.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan metilprednisolon memiliki rata-rata DAI sebesar 53,106 %, rata-rata DAI ini lebih rendah jika dibanding kelompok perlakuan natrium diklofennak yang sebesar

59,11 %, hal ini mungkin dikarenakan pengoralan sediaan pada hewan uji yang tidak maksimal. Hasil identifikasi senyawa pada ekstrak etanol daun kol banda mengandung flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Radha *et al.* (2008). Flavonoid dapat menghambat jalur 5-lipoooksigenase dan jalur COX-2 yang memproduksi mediator nyeri (Paval 2009). Senyawa yang memberikan efek antiinflamasi adalah flavonoid khususnya turunan kuersetin. Adanya efek antioksidan pada kuersetin juga dapat berefek sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat pembentukan Nitrit oxida mengeluarkan toksitasnya menjadi reaktif yang lebih merusak seperti anion peroksinitrit dan bereaksi dengan O₂ sehingga dapat memicu terjadinya inflamasi (Gomes *et al.* 2008). Mekanisme flavonoid sebagai antiinflamasi dengan menghambat biosintesis eicosanoid dan degranulasi neutrofil sehingga dapat mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh neutrofil dan sel-sel imun lainnya (Nijveld *et al.* 2001). Kandungan senyawa lain yang terdapat pada ekstrak etanol daun kol banda adalah steroid. Steroid memiliki kemampuan dalam menghambat inflamasi (Kolobani 2014). Mekanisme steroid secara umum bekerja melalui penghambatan enzim fosfolipase melalui jalur asam arakhidonat serta menghambat produksi faktor inflamasi yang penting seperti interleukin, sitokin, dan agen kemotaksis, sehingga terjadi penurunan sekresi dari enzim lipolitik dan proteolitik (Grover *et al.* 2007). Senyawa saponin juga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi (Yassin *et al.* 2007). Senyawa saponin yang terdapat diduga berinteraksi dengan banyak membran lipid, seperti fosfolipid yang merupakan prekursor prostaglandin dan mediator inflamasi lainnya (Pellegrini *et al.* 2012). Tanin memiliki efek sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penangkal radikal bebas, antilipid, peroksidasi dan penghambat sitokin proinflamasi (Wen-guang *et al.* 2001).

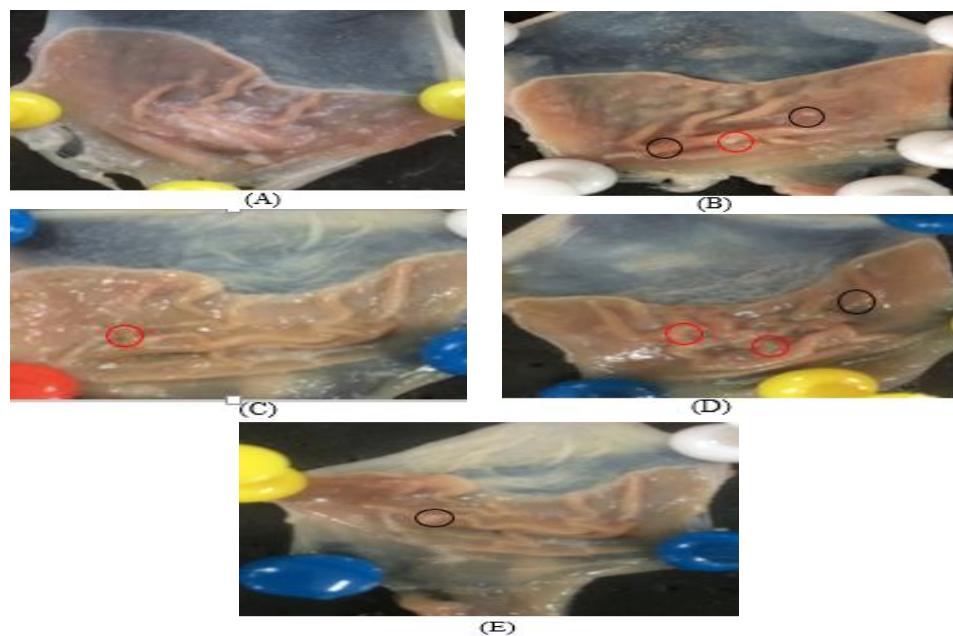
B. Uji Keamanan Lambung Pada Tikus

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol daun kol banda terhadap lambung. Pengujian dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan pada hari ke-5 pemberian ekstrak daun kol banda.

Tikus dipuaskan terlebih dahulu sebelum bagian lambung diambil dan diperiksa iritasi yang terjadi.

1. Pemeriksaaan lambung makroskopis

Penggunaan obat antiinflamasi pada umumnya memiliki efek samping pada saluran cerna (Nugroho 2012). Berdasarkan hasil uji ekstrak etanol daun kol banda memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, sehingga perlu diketahui efek sampingnya terhadap saluran cerna. Pemeriksaaan lambung secara makroskopis dilakukan dengan mengambil bagian lambung tikus kemudian diiris secara membujur. Bagian lambung yang telah diiris kemudian dibuka dan dibersihkan sehingga isi lambung bersih. Pemeriksaaan secara makroskopis dinilai berdasarkan beberapa kriteria dan indeks kerusakan lambung. Pemeriksaaan secara makroskopis dapat dilihat pada gambar 10. Hasil pengamatan makroskopik selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 15.



*tanda lingkaran hitam: Bintik berdarah, tanda lingkaran merah: kemerahan

Gambar 10. Gambar pemeriksaaan makroskopis lambung tikus kelompok kontrol negatif (A), Natrium diklofenak (B), Selekoksib (C), Metilprednisolon (D), Ekstrak 400 mg/ kg BB (D)

Hasil dari pemeriksaaan pada kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa tidak tampak adanya iritasi pada mukosa lambung berupa kemerahan maupun bintik berdarah. Hal ini terjadi disebabkan karena tidak adanya induksi atau bahan berbahaya (faktor agresif) secara endogen (pepsin, asam klorida dan

garam empedu) maupun secara eksogen (obat-obatan dan alkohol) (Robbins 2007). Sedangkan pemeriksaan mukosa lambung pada kontrol positif natrium diklofenak terlihat adanya kemerahan dan bintik berdarah pada lambung hewan uji. Hal ini menunjukkan benar bahwa natrium diklofenak sebagai faktor agresif lambung mengakibatkan iritasi pada lambung. Natrium diklofenak merupakan obat AINS (non-selektif) yang bekerja dengan cara menghambat enzim COX-1 dan COX-2 sehingga menghambat produksi prostaglandin yang berperan sebagai agen proteksi mukosa lambung (Nugroho 2012).

Pemeriksaan mukosa lambung pada kontrol positif selekoksib terlihat adanya kemerahan pada lambung tikus. Selekoksib merupakan obat AINS yang bekerja dengan menghambat enzim COX-2. Pada penelitian ini perdarahan pada lambung tidak separah natrium diklofenak. Obat ini lebih aman karena bersifat protektif terhadap gastrointestinal, ulkus simtomatik 50% lebih rendah pada kelompok selekoksib dibandingkan OAINS tradisional (naproxen dan diklofenak).

Pemeriksaan mukosa lambung pada kontrol positif metilprednisolon menunjukkan adanya tanda-tanda kemerahan maupun bintik berdarah pada lambung tikus, dan hampir setara dengan kelompok kontrol natrium diklofenak. Hal ini disebabkan karena metilprednisolon menghambat enzim fospolifase, yaitu enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakidonat dan memblok jalur enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga metabolitnya yaitu prostaglandin dan tromboksan juga tidak terbentuk (Tjay & Raharja 2007). Sedangkan pada kelompok ekstrak terlihat adanya kemerahan pada salah satu lambung tikus. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya efek samping ekstrak berupa penghambatan agen proteksi mukosa lambung.

Kalra *et al.* (2009) menggolongkan tingkat kerusakan lambung berdasarkan skor kerusakan lambung. Berdasarkan skor tersebut maka dapat diketahui bahwa nilai 0 berarti lambung normal (tidak terdapat tanda-tanda kerusakan), nilai 0,5 lambung mengalami kemerahan dan nilai 1,0 lambung mengalami bintik berdarah. Pada kelompok selekoksib dan kelompok ekstrak didapatkan nilai skoring terendah dibanding kelompok natrium diklofenak dan metilprednisolon sehingga dapat disimpulkan bahwa secara makroskopik ekstrak

etanol daun kol banda lebih aman terhadap lambung tikus. Hasil skoring dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil skoring keparahan tukak lambung

Perlakuan	tikus 1	tikus 2	tikus 3	Rata-rata	Sig
I	0	0	0	0	-
II	1,0	1,0	0,5	0,833	0,034*
III	0,5	0	0	0,166	0,317
IV	1,0	0,5	0,5	0,666	0,034*
V	0,5	0	0	0,166	0,0317

*0 = normal, 1,5 = perdarahan, 0,5 = kemerahan

Keterangan :

I = Kontrol (-) CMC Na 0,5%

II = Kontrol (+) Natrium diklofenak 4,5 mg/kg BB tikus

III = Kontrol (+) Selekoksib 9 mg/ kg BB

IV = Kontrol (+) Metilprednisolon 0,36 mg/kg BB

V = Kontrol ekstrak etanol daun kol banda 400 mg/kg BB tikus

* = Berbeda signifikan terhadap kontrol normal

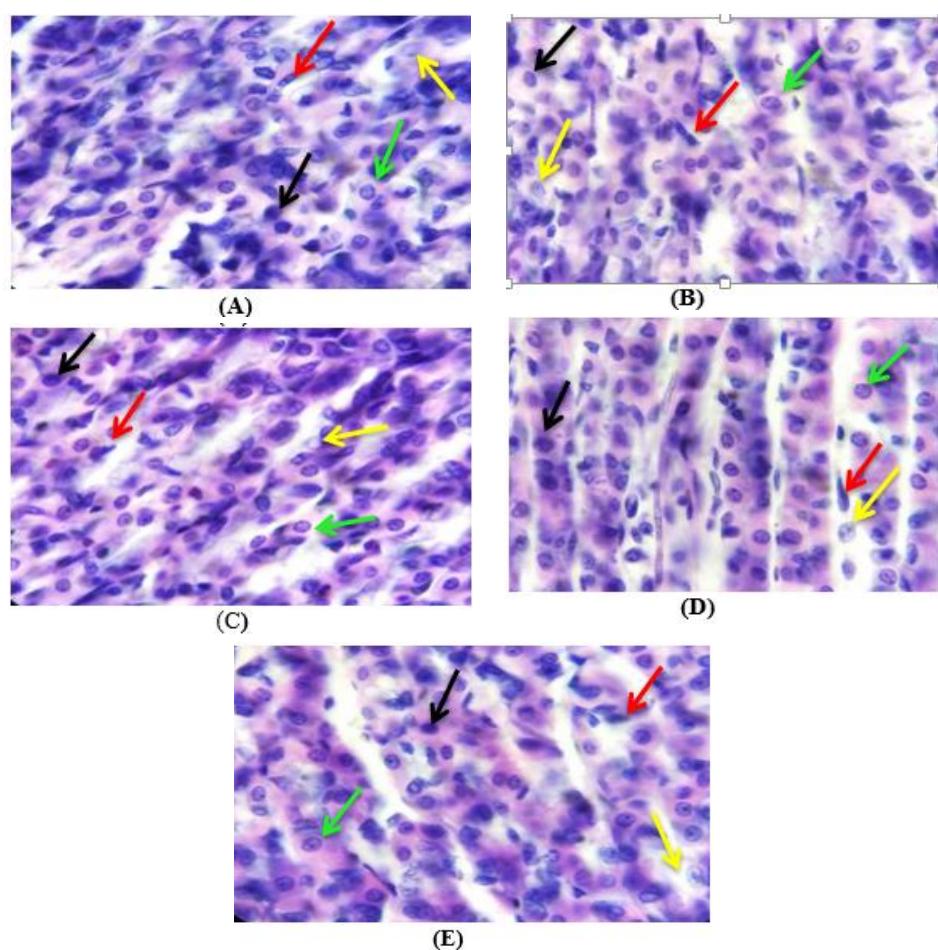
Analisis data dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Pada uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan data pada skor kerusakan dengan nilai sig <0,05 yang berarti ada perbedaan antar kelompok. Karena terdapat perbedaan yang bermakna, maka uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Dari hasil tersebut terlihat bahwa kelompok natrium diklofenak dan metilprednisolon nilai signifikansinya <0,05 yang menunjukkan hasil berbeda signifikan dengan kelompok normal. Sedangkan pada kelompok selekoksib dan kelompok ekstrak menunjukkan nilai signifikansi >0,05, yang artinya tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kol banda cukup aman digunakan meski masih terdapat kerusakan ringan.

2. Pemeriksaan mikroskopis

Hasil pemeriksaan makroskopis kemudian ditunjang dengan pemeriksaan secara histologi jaringan. Pada pemeriksaan mukosa lambung akan diketahui terjadinya perubahan pada histologi lambung khususnya pada bagian korpus. Perubahan-perubahan nuclear nekrosis yang dapat terjadi dibagi menjadi tiga pola, yaitu piknosis yang ditandai dengan melisutnya inti sel dan peningkatan basofil kemudian DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat.

Karioeksis yaitu fragmen inti sel yang piknotik yang selanjutnya 1-2 hari inti dalam sel yang mati benar-benar hilang. Kariolisis (basofilia kromatin memudar) yang disebabkan oleh aktivitas DNA (Robbins 2007). Pemeriksaan mikroskopis didasarkan pada perhitungan sel normal, sel piknosis, sel karioeksis dan kariolisis kemudian dihitung jumlahnya pada setiap lapang pandang sebagai total kerusakan sel. Hasil pengamatan mikroskopis terhadap preparat irisan lambung dapat dilihat pada gambar 11. Hasil pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 16.



Keterangan = (Sel normal), (piknosis), (karioeksis), (kariolisis)

Gambar 11. Histologi mukosa lambung kelompok negatif (A), kelompok positif natrium diklofenak (B), selekoksib (C), metilprednisolon (D), Ekstrak etanol daun kol banda dosis 400 mg/kg BB (perbesaran 1000x)

Hasil perhitungan jumlah sel normal dan kerusakan sel pada mukosa lambung dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Rata-rata jumlah skoring histopatologi lambung tikus

Kelompok	Kode hewan	Jumlah kerusakan			Normal ±SD	Kerusakan sel ±SD
		Piknosis	Karioeksis	Kariolisis		
1	1.1	13	20	3	66 ± 1	34 ± 1,5
	1.2	18	12	4		
	1.3	19	11	3		
2	2.1	21	25	4	52 ± 2	48 ± 2 ^{ab}
	2.2	22	21	3		
	2.3	24	20	4		
3	3.1	21	16	3	60 ± 1	40 ± 1 ^{ab}
	3.2	16	23	3		
	3.3	18	19	2		
4	4.1	17	1	5	54 ± 1	46 ± 1 ^{ab}
	4.2	21	22	4		
	4.3	18	23	5		
5	5.1	13	19	5	64 ± 1	36 ± 1
	5.2	11	20	5		
	5.3	12	17	6		

Keterangan :

I = Kontrol (-) CMC Na 0,5%

II = Kontrol (+) Natrium diklofenak 4,5 mg/kg BB

III = Kontrol (+) Selekoksim 9 mg/kg BB

IV = Kontrol (+) Metilprednisolon 0,36 mg/kg BB

V = Kontrol ekstrak dosis 400 mg/kg BB tikus

a = Berbeda signifikan terhadap kontrol (-)

b = Berbeda signifikan terhadap kontrol ekstrak dosis 400 mg/kg BB tikus

Gambar di atas menunjukkan semua kelompok perlakuan mengalami kerusakan, tetapi kontrol positif natrium diklofenak yang mengalami kerusakan terparah. Pada kelompok kontrol negatif CMC-Na menunjukkan adanya kerusakan ringan, pada kelompok tersebut seharusnya tidak menunjukkan kerusakan, namun hal tersebut dapat terjadi akibat adanya variabel luar yang tidak bisa dikendalikan seperti kondisi psikologis hewan uji (stres) selama perlakuan (Sagala 2010).

Semua kontrol positif mengalami kerusakan yang berat pada sel mukosa lambung, sel epitel rusak sehingga susunan sel kelenjar mukosa tidak beraturan. Pemberian ketiga kelompok kontrol positif ini dilakukan sebagai faktor agresif pada lambung sehingga dapat menjadi pembanding terhadap kerusakan lambung yang terjadi diantara kelompok perlakuan. Sesuai dengan literatur obat Antiinflamasi steroid (metilprednisolon) dan non steroid (natrium diklofenak) memiliki efek samping yang menyebabkan radang hingga ulkus pada lambung. Kerusakan lambung oleh obat AINS dapat terjadi karena mekanisme difusi balik

asam ke dalam mukosa lambung sehingga menginduksi kerusakan jaringan dan penghambatan biosintesis prostaglandin terutama PGI₂ yang berfungsi sebagai zat sitoprotektif di mukosa lambung (Goodman & Gilman 2007).

Kerusakan ringan terlihat pada kontrol ekstrak etanol daun kol banda diduga senyawa flavonoid dan saponin yang berkontribusi dalam aktivitas perlindungan mukosa lambung sehingga tidak menimbulkan kerusakan lambung yang parah pada tikus. Flavonoid yang terdapat dalam daun kol banda adalah turunan kuersetin, kuersetin memiliki mekanisme kerja sebagai antioksidan, Platelet Activating factor (PAF), meningkatkan produksi mukus, dan sebagai agen antihistamin serta dapat menghambat pertumbuhan *H.pylori* (Mota et al.2009). Seperti dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Coskun (2004) mengatakan bahwa kuersetin menunjukkan efek protektif dalam ulkus lambung yang diinduksi etanol karena sifatnya sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat aktivitas lipid peroksidase, lipid peroksidase dikenal dapat membuat kerusakan oksidatif yang mempengaruhi membran sel lipoprotein dan lipid lainnya. Flavonoid bersifat gastroprotektif karena dapat melindungi mukosa lambung dari lesi akut akibat induksi ligase pylorus, indometasin, etanol dan reserpine. Borrelil & Izzo (2000), menjelaskan bahwa senyawa saponin juga memiliki efek proteksi terhadap lambung yang diinduksi oleh obat aspirin dan etanol. Mekanisme perlindungan saponin bukan disebabkan oleh penghambatan sekresi asam lambung tetapi diduga karena aktivitas mukus yang menjadi faktor pelindung.

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan *Shapiro-wilk*, setelah diuji ternyata signifikan ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa data teristribusi normal. Kemudian data tersebut diuji homogenitasnya dengan uji *levene*. Setelah diuji, ternyata signifikansi 0,719 ($p>0,05$). Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Dari perhitungan tersebut, diketahui bahwa F hitung perlakuan $> F$ tabel ($58,000 > 4,346$) Hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis 1 (H_1) diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kol banda cukup aman digunakan pada lambung tikus meski terdapat beberapa kerusakan ringan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun kol banda memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenan.

Kedua, ekstrak etanol daun kol banda memiliki aktivitas antiinflamasi sebanding dengan kontrol positif selekoksib dan metilprednisolon.

Ketiga, ekstrak etanol daun kol banda cukup aman secara makroskopis dan histologi karena memiliki efek samping yang ringan pada lambung tikus.

B. Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

Pertama, perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antiinflamasi dengan menggunakan variasi waktu yang berbeda

Kedua, perlu dilakukan penelitian tentang efek keamanan pada lambung dengan memperpanjang waktu pemberian sediaan uji.

Ketiga, perlu dilakukan uji antiinflamasi secara in vitro terhadap COX-1 dan COX-2 untuk mengetahui mekanisme antiinflamasi ekstrak etanol daun kol banda.

Keempat, perlu dilakukan kajian lebih lanjut pada kandungan senyawa kimia daun kol banda yang berkhasiat sebagai antiinflamasi

DAFTAR PUSTAKA

- Agromedia, Redaksi. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka. Edisi 1. Hlm 148-149.
- Anbalagan, N., Rajinikanth, KN., Kishore Gnanasam, S., Thomas Leonard, J., Balakrishna, K., Ramachandran, S. and Sridhar, SK. 2002. Analgesic, Anti-inflammatory and Diuretic Activities of *Pisonia grandis*. *Journal of Natural Product science*, 8(3):97-99.
- Anonim. 2005. British National Formulary., *British Medical Association*, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. Edisi 50, 104-108.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Budiyanto S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analis Pangan*. Bogor: Universitas pangan dan Gizi IPB. hlm 7-9.
- Ballitro. 2008. *Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat*. 23 oktober 2013
- Bhushan MS, Rao CH, Ojha SK, Vijayakumar M, Verma A. 2010. An analytical review of plants for anti diabetic activity with their phytoconstituents & mechanism of action. *LIPJR*, Issue 1, Vol 1
- Borrelli F, & Izzo AA. 2000. The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. *Phytotherapy Research* 14:581-591.
- Chakraborty, A. R.K.B.04. 2005. Preliminary studies on anti- Th. I singh. 20 analgesic of *Spilanthes acmella* in experin 148-150. *Indian Journal of Pharmacology* 36 (3).
- Chippada SC, Sharan SV, Srinivasa RB, Meena V. 2011. Invitro Antiinflammatory Activity of Methanolic Extract of *Centella asiatica* by HRBC Membrane Stabilization. *RASAYAN Journal Chemistry*. 4(2) ; 457-460.
- Corwin, Elisabeth J. 2008. *Handbook of Pathophysiology*. Ed ke-3 Philadelphia: Lippincort Williams & Wilkins. Hlm 138-1443
- Coskun, O., Kanter, M., Armutcu, F., Cetin, K., Kaybolmaz, B., and Yazgan, O., 2004, Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanolinduced acute gastric ulcer. *Eur. J. Gen. Med.*, 1(3), 37-42
- De Oliveira CACD, Perez, Merino, Prieto, & Alvarez. 2001. Protective Effects of Panax Ginseng on Muscle Injury and Inflammation After Eccentric Exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 130C : 369-377

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Dapartemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Dapartemen Kesehatan Republik Indonesia hlm 4-11, 25-26.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1987. *Analisa Obat Tradisional. Jilid I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehhatan Republik Indonesia. 1995. *Cara Pembuatan Simplisia* Jakarta: DEPKES RI
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Depkes RI. Hal. 10-11.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Jilid II*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI hal. 311-312
- [DEPKES R1] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Direktorat Jendral, Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan Bakti Husada
- Dewantara Candra. 2011. Efek Analgetik Ekstrak Etanol Gandarusa (*Justicia gandarusa*) pada Mencit Swiss Webster Jantan yang Diinduksi Rangsang Termis. [Karya Tulis Ilmiah]. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha. Bandung.
- Direja HE. 2007. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa L*) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan [Skripsi]. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian IPB
- Dorland WN. 2008. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. YB. Hartanto, WK. Nirmala, Ardy, S. Setiono, editor. Ed ke-28. Jakarta: Elsevier.
- Dwicandra, N.M.O., Astuti M.A.P., Ariantari, N.P. Yowani, S.C, 2006. *Skrining Kandungan Kimia Ekstrak etanol 80% kulit batang Michelia champaca L*. Universitas Udayana, Bali.
- Elumalai, A. and G.P. Yoganandam, 2012. Evaluation of anti-arthritis activity of ethanolic extract of *Pisonia grandis* R.Br. *Asian J. Pharmaceut. Res.*, 2: 91-93.

- Erlina, R., A. Indah dan Yanwirasti. 2007. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *J. Sains dan Teknologi Farmasi*, 12 : 2, 112-115
- Falodum A, Igbe I, Erharuyi O, Agbanyin O. J., 2013. Chemical Characterization, Anti inflammatory and Analgesic Properties of *Jatropha Multifida* Root Bark. Nigeria J. Appl. Sci. Environ. Manage. Sept 2013 Vol. 7 (3) 357-362.
- Gan, V.S.H., dan Istiantoro, Y.H., 2007. Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotik Betalaktam lainnya, Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafraldi. Dan Elysbeth., *Farmakologi dan Terapi*, Hal 667, 678, 681, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Goodman, Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi 10. Hardman JG, Limbird LE. Editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari : Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB.
- Goodman dan Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*, Vol I. edisi 10 hlm : 666-667
- Gomes A, Fernandes E, Lima JLFC, Mira L, Corvo ML. 2008. Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoid. Current Medicinal Chemistry. 1586-1605.
- Grover VK, Babu R, Bedi SPS. 2007. Steroid therapy-current indications in practice. *Indian Journal of Anasthesia*. 5 : 389-393.
- Gunawan D dan Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)* Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya
- Guyton, A. C. 1995. *Buku Ajar Kedokteran*, Ed ke-7. Jakarta : EGC, Hlm 307.
- Hapsari L, Mulyani W. 2010. Pembuatan Konsentrasi Zat Warna untuk Bahan Makanan dari Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) dan Biji Ksumba (*Bixa orellana* Linn) Beserta Penerapannya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret.
- Harbone, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung: Penerbit ITB
- Hayati EK, & Halimah N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Againts Artemia salina Leach of Anting-Anting (*Axalypha indica* Linn.) Plant Extract. *Alchemy* 1 : 53-103.
- Harmita, Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.

- Hembing, WK. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Pustaka, Kartini.
- Hernani R.M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 203-204.
- Inayati A. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun sirih (Piper betle, Linn) secara in vivo [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Jayakumari S., Arthanareswaran, Vijayalakshmi A., Malarkodi Velraj and Ravichandran V., 20012 Free Radical Scavenging Activity of *Pisonia grandis* R.Br. Leaves, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 2012, 46(1), 37-40.
- Jayakumari, S., Ravichandiran, V., dan Rao, N. 2014. Antimicrobial activity of *Pisonia grandis* R. Br leaf extract and its fraction. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3 (2): 2290-2302.
- Junqueira L.C., J. Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi ke-5. Tambayang J, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari *Basic Histology*.
- Kalra BS, Shalini, Chaturvedi S, Tayal V, & Gupta U. 2009. Evaluation of Gastric Tolerability, Antinociceptive and Antiyinflammatory Activity Combination NSAIDs in rats. *Indian Journal of Dental Research* 20: 418-422.
- Katzung BG. 2007. *Basic and Clinical Pharmacology*. Ed ke-10. McGraw Hill Lange. Hlm 566-568
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-8. Jakarta: Salemba Medika. hlm 567.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Nugroho AW, Rendy L, Dwijayanti L, penerjemah; Nirmala WK, Yesdelita N, Susanto D, Dany F, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari; *Basic and Clinical Pharmacology* Ed 10th. hlm 595-597.
- Katzung BG. dan Trevor.A.J. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 8. 497-498, Jakarta. Diterjemahkan oleh Salemba Medika
- Koenam JH. 1987. *Pengantar Umum Toksikologi* . Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, pp: 77-8.

- Kresnanugraha Y., 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi L.*) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Aktif [Skripsi]. Depok: Fakultas Farmasi Universitas Indonesia
- Kumar PR., Vijayalakshmi A., Sakthi Priyadarshini S., A Mounika. 2014. Development and Evaluation of Topical Formulation with Chloroform Extract of *Pisonia grandis* leaves for Antiinflammatory effect. *International Journal of Chem Tech Research*. Vol. 6:Hal 2660-2667.
- Lumbanraja LB. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) Terhadap Radang pada Tikus.
- Mansjoer, Soewarni. 2003. *Mekanisme Kerja Obat Antiradang*. Medan: Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.
- Matheos, H., Runtuwene, M. R. J., dan Sudewi, S. 2014. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon* 3(3): 235-246.
- Morris CJ.2003. Metods in Molecular Biology: Inflammation Protocols. Totowa: Human press. Hlm. 115-121.
- Mota K. Dias G, Pinto M, Ferreira A, Brito A, Lima C, Filho J, and Batista L. 2009. Flavonoids With Gastroprotective Activity. *Molecules* (20):979-1012
- Mustaba R., Winaya I. B.O., Berata I. K. 2012. Study Histopatologi Lambung Pada Tikus Putih yang Diberi Madu sebagai Pencegah Ulkus Lambung yang Diinduksi Aspirin. *Indonesia Medicus Veterinus*. Universitas Udayana. 1(4). 471-482
- Mycek, Mary J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi 2.azwar Agoes, Alih Bahasa; Huriawati Hartono, Editor. Jakarta: Widya medika. Terjemah dari : Lippincortt's illustrated Reviews Pharmacology. Hlm 404-414
- Nandave, MD., Ojha, S.K., and Arya, D.S., 2006, Should Selective Inhibitors be Used More. *Indian J. Pharmacol.*, 68(3), 281-285
- Ncube NS, Aafolayan AJ, Okoh Al. 2008. Assesment Technique of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plants Origin: Current Methods and Future Trends. *African Journal of Biotechnology*
- Neal M. J. 2006. *At A Glance Farmakologi Medis*. Ed ke-5. Jakarta: Erlangga. 32-33.
- Nijveldt RJ, Nood E Van, Hoon D Van, Boelens PG, Norren K Van, & Leeuwen P Van. 2001. Flavonoid : a Review of Probable Mechanisms of Action and

- Potential Applications. *The American Journal of Clinical Nutrition* 74: 418-25.
- Nugroho AE. 2012. *Farmakologi: Obat-obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Paval J., et al. 2009, Anti-arthritic Potential of the Plant *Justicia gendarussa* Burm F. *Clinical Science*; 64(4). 357-60.
- Permatasari N. 2012. Intruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi pada Hewan Coba: Universitas Brawijaya, Malang.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, M., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brehenti, B. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods beverages and oil consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133. 2812-2819.
- Prabu, D., Nappinnai, M., Ponnudurai, K. and Prabhu, K. Evaluation of Wound-Healing Potential of *Pisonia grandis* R.Br: A Preclinical Study in Wistar Rats. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. 7(1): 21-27, (2008).
- Pramana AMR, Saleh C.2013. Isolasi dan Karakterisasi senyawa steroid pada fraksi n-Heksan dari daun kukang (*Lepisanthe amoena* (HASSK) LEENH). *Jurnal Kimia Mulawarman* Volume 10 nomor 2.
- Price SA, Wilzon LM. 2005. *Patofisiologi; Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Ed ke-4. Diterjemahkan oleh P.Nugraha. Jakarta: EGC. hlm 36-50.
- Priyambodo S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Ed ke-3. Jakarta: Penenbar Swadaya
- Radha R., Arokiyaraj S., Agastian P., Balaraju K, Mohan Kumar R and Bula. Phytochemical analysis and anti-inflammatory activity of *Pisonia grandis* R.Br. *Journal of Biomedical and Pharmacology*. 1(1): (2008).
- Radha R., Arokiyaraj S., Agastian P., Balaraju K., Mohan kumar R., Bula P., Phytochemical analysis and anti-inflammatory activity of *Pisonia grandis* R.Br. *Biomedical and chemical science*, 2011, 2(2),193-9.
- Rahman, H., A. Elumalai, M.C. Eswaraiah and D. Bardalai, 2011. Evaluation of anxiolytic activity of ethanolic extract of *Pisonia grandis* R. Br leaves in mice. *J. Chem. Pharmaceut. Res.*,3: 646-652.
- Rang, H.p., Dale, M.M., Ritter, J.M., and Moore, P.K., 2003, *Pharmacology*, 5th ed., 231-237, 244-250. 562-567, London: Churchill Livingstone

- Robbins C.S., Mitchell R. N. 2007. *Jejas, Adaptasi, dan Kematian Sel*. Dalam Buku Ajar Patologi Robbins. Vol.1. Edisi VII. Jakarta; 26-7
- Rowe, C., R, S\hesky, JP., Weller, J.W., 2003. *Handbook of Pharmaceutical Excipien*, 4th edition 1001-103 Pharmaceutical Press and American Pharmacen.
- Saritha, B., Karpagam, dan Sumathi. 2014. Studies on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of *Pisonia alba* Span. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 7(3): 106-109.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342
- Simon K, Kerry B. 2000. *Principles and Practice of Phytotherapy, Modern Herbal Medicine*. New York: Churchill livingstone. hlm 32, 69, 291.
- Singh A & Marar T. 2011. Inhibitory effect of extracts of syzygium cumini and psidium guajava on glycosidases. *Journal of Cell and Tissue Research* Vol. 11(1) 2535-2539 (2011). ISSN: 0974-0910.
- Siswanto, A., dan Nurulita N. A., 1995. Daya Antiinflamasi Infus Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff. Boerl) pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan, Prosiding Seminar Nasional TOL XXVII, 177-181, Batu 15-16 Maret 2005.
- Sitompul, B., 2003 *Antioksidan dan Penyakit Aterosklerosis*. Jakarta: Medika, No. 6, 373-377.
- Smith JB dan Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan, Pembibakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta. Universitas Indonesia Press. 10-18; 33-35.
- Subarnas A, Suwendar, Qowiyyah A. 2008. *Panduan Praktikum Farmakologi*. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Garut: Universitas Garut.
- Sugiyanto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Suharmiati dan Maryani, H, 2003, *Khasiat dan Manfaat Jati Belanda, si Pelangsing dan Peluruh Kolesterol*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Suhono, B. dan Tim LIPI. 2010. *Ensiklopedia Flora Jilid 3*. Jakarta: PT. Kharisma Ilmu,
- Taufik LH, Wahyuningtyas N, Wahyuni AS. 2008. Efek antiinflamasi Ekstrak Petikan Kebo (*Euphorbia hirta L*) Pada Tikus Putih Jantan.

- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet & Kaur Haarleem. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Science*. Vol 1 Issue 1
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat penting : Khasiat, Penggunaan dan Efek-Sampingnya*. Ed ke-6. Jakarta : PT. Elexmedia Komputindo Kelompok Kompas-Gramedia. Hlm 321-347.
- Tjay, T.H. dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting*. Edisi VI. Jakarta : PT. Elek Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Tortora, G.J., & Derrickson, B. (2009). *Principles of Anatomy & Physiology*. USA: John Wiley & Sons. Inc.
- Trivedi, N.P., dan Rawal, U.M. (2001). Hepatoprotective and Antioxidant Property of Andrographis paniculata (Nees) in BHC Induced Liver Damage in Mice. *Indian J Exp Biol*. 39 (1): 41-46.
- Underwood J.C.E. 1999. *Patologi umum dan sistemik*. Ed ke-2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 232-252.
- Vogel H. G., Wolfgang H. V., Bernward A.S., Jurgen S., Gunter M., Wolfgang F. V. 2002. *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay Second Edition*. New York. Springer. 751-772.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. hlm: 4-10, 560-564, 568, 570. Terjemahan: lehbruch Der Pharmazeutischen Technology.
- Wahyuningsih HK. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap penurunan kadar asam urat darah tikus putih jantan hiperurisemia [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Walidah C. 2014. Uji efek antiinflamasi ekstrak etil asetat lumut hati *Mastigophora dicladas* secara in vivo.[Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah.
- We-guang L, Xiao-yu Z, Yong-jie W, Xuan T. 2001. Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from Grape seeds. *Acta Pharmacol Sin*. **22**: 1117-1120.
- WHO. 2003. Tradisional Medicine. <http://www.int/mediacenter/factsheets/fs134/en/>. [28 Agustus 2011].
- Wibowo, S. dan Gofir, A. 2001, *Farmakoterapi dalam Neurologi*, Edisi I, 113-115, Jakarta: Penerbit Salemba Medika, Jakarta.

- Widowati E. 2006. Pengaruh lama perendaman dengan larutan kapur tohor $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pada kulit buah manggis terhadap kualitas kembang gula jelly. [Skripsi]. Semarang: Fakultas Teknik. Universitas Negeri Semarang
- Wilmana PF, Sulista GG. 2007. *Analgetik-Antipiretik, Analgesik-Antiinflamasi Non Steroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. Ed ke-5. Gunawan GS, Setiabudi R, Nafriadi, Elysabeth, editor, Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Wilson LM., Price SA. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinik dan Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 56-80.
- Yassin NZ, Melek FR, Selim MA, & Kassem IAA. 2013. Pharmacological Activities of Saponin-Containing Fraction Derived from *Gledista caspica* Desf. Methanolic Fruit Extrakt. *Der Pharmacia Lettre* 5: 247-253.
- Yoshimoto, T.; Furukawa, M. Yamamoto, S; Horie ,T. and Watanabe-Kohno, S. (1983). Flavonoids: potent inhibitors of arachidonate 5- lipoxygenase. *Biochem Biophys Res. Commun*,116:612-618.
- Zaini M, Agung B, Khoerul A. 2016. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol herba lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz) terhadap mencit jantan yang diinduksi karagenan- γ . *Jurnal Pharmascience*.03.02 hlm: 119-130.
- Zayachkivska, O. S. 2005. *Gastroprotective Effects of Flavonoid in Plant Extracts. Phsyiology and Pharmacology*.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



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

Nomor : 251/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Serliandi
NIM : 20144103A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Pisonia grandis* R.Br.
Familia : Nyctaginaceae

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-419c-420b-421a _____ 65. Nyctaginaceae
1b-3b _____ 4. *Pisonia*
1a-2b _____ *Pisonia grandis* R.Br.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon atau perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 5-13 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : bulat, berkayu, keras, bercabang-cabang, permukaan gundul dan licin, ada bekas tangkai daun, coklat keabu-abuan. Daun : tunggal, berhadapan; helaihan daun berbentuk ellips hingga bulat telur-memanjang, panjang 9-24 cm, lebar 3.5-16 cm, ujung daun runcing hingga meruncing, tepi daun rata, pangkal daun tumpul atau membulat atau berlekuk seperti jantung, pertulangan daun menyirip, kedua permukaan daun berambut tipis pada bagian tulang daun, berwarna kuning muda atau kuning kehijauan atau hijau muda, daging daun seperti kertas; panjang tangkai daun 1.5-6 cm, permukaan gundul. Bunga : bunga majemuk tipe karangan, di ujung cabang atau batang, berambut, bunga berkelamin ganda (biseksual/banci), berbau harum, panjang tangkai bunga 0.5-1.5 mm; tabung perhiasan bunga berbentuk seperti corong terbalik, panjang 3.5-4 mm, bertaju 4-6, permukaan berambut pendek; panjang anthocarpium 0.5-1 cm, seperti corong terbalik, tumbuh dari tangkai yang panjangnya 0.5-1 cm; benang sari berjumlah 8-10; kepala putik bulat dan rata. Buah : kecil, berambut, berbentuk seperti tongkat, panjang 2 cm, tersusun dalam barisan.

Surakarta, 20 Desember 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



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

Lampiran 2. Surat hewan uji

“ABIMANYU FARM”

✓ Mencit putih jantan ✓ Tikus Wistar ✓ Swis Webster ✓ Cacing
 ✓ Mencit Balb/C ✓ Kelinci New Zaeland

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Serliandi
 Nim : 20144103 A
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar
 Umur : 2-3 bulan
 Jumlah : 25 ekor
 Jenis kelamin : Jantan
 Keterangan : Sehat
 Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 18 April 2018

Hormat kami



Sigit Pramono
 "ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Hasil etikal klirens

12/29/2017

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital

RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.054 / XII / HREC / 2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

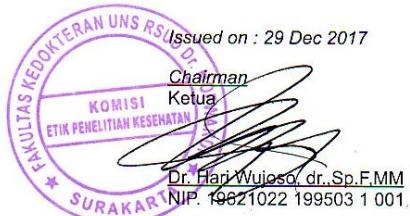
That the research proposal with topic :
Bawa usulan penelitian dengan judul

KAJIAN KEAMANAN EKSTRAK ETANOL DAUN KOL BANDA (Pisonia alba Span) SEBAGAI ANTIINFLAMASI PADA LAMBUNG TIKUS

Principal investigator : Serliandi
Peneliti Utama 20144103A

Location of research : Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Sebelas Maret
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
Dinyatakan layak etik



Lampiran 4. Surat keterangan pembuatan dan pembacaan preparat



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
 UNIVERSITAS SEBELAS MARET
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 LABORATORIUM HISTOLOGI

SURAT KETERANGAN
 04/ UN27.6.6.2.1/2018

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Serliandi
 Nim : 20144103A
 Fakultas : Farmasi
 Universitas : Universitas Setia Budi Surakarta
 Judul Skripsi : Kajian Keamanan Estrak Etanol Daun Kol Bnda (*Pisonia alba Span*) Sebagai Antiinflamasi Pada Lambung Tikus.

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 1 Februari 2018
 Kepala Bagian Histologi FK UNS


 Muthmainah, dr., M.Kes.
 NIP. 19660702 199802 2 001

Lampiran 5. Hasil kegiatan penelitian

Tanaman kol banda



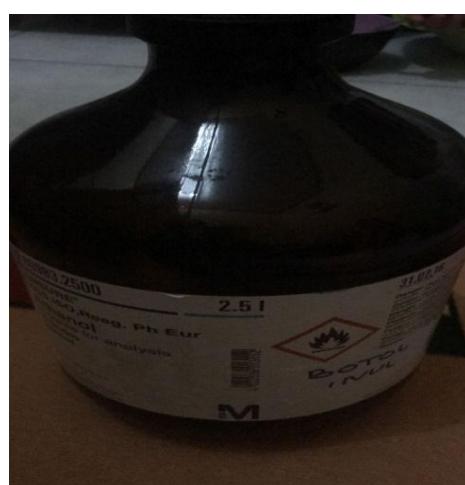
Daun kol banda



Serbuk daun kol banda



Timbangan



Bolol maserasi



Rotary evaporator



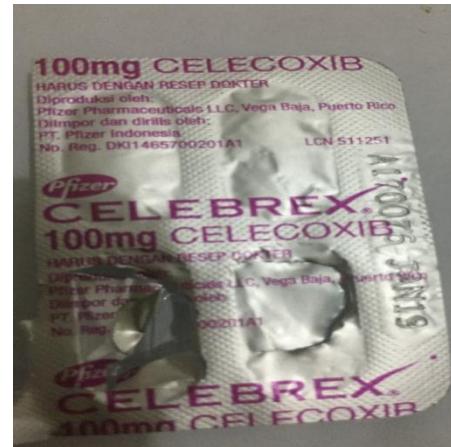
Pengukuran kadar air



Natrium diklofenak



Metilprednisolon



Selekoksib



Suspensi



Karagenan



Hewan uji



Pletysmograph



Penyuntikan ekstrak



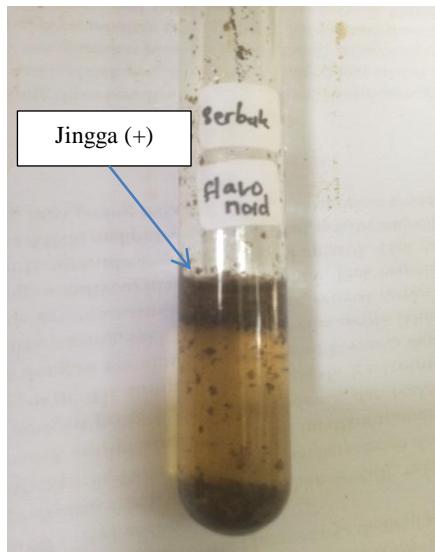
Penyuntikan karagenan



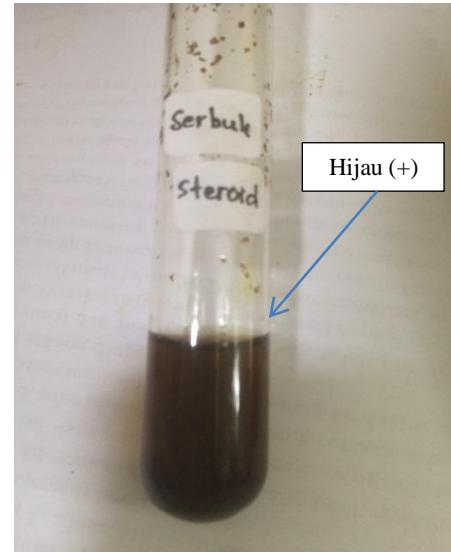
Udem kaki tikus



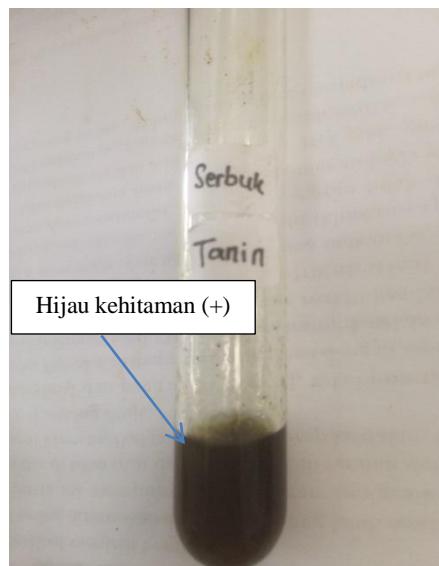
Uji bebas etanol

Lampiran 6. Hasil identifikasi serbuk daun kol banda

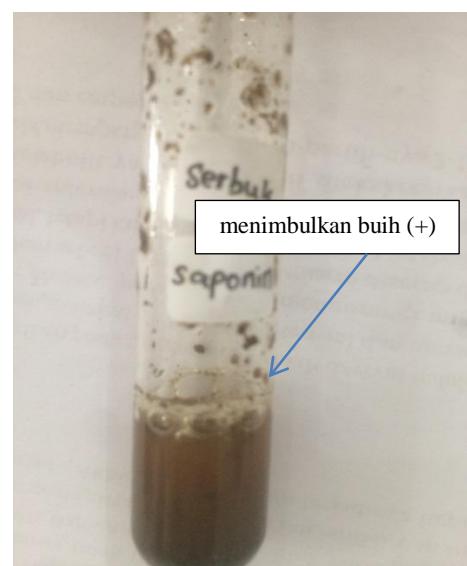
Identifikasi flavonoid



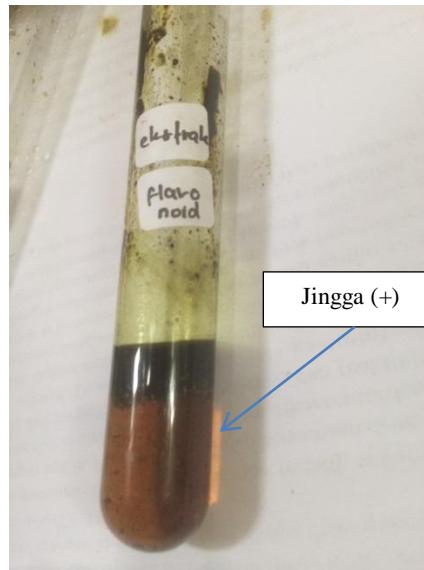
Identifikasi steroid



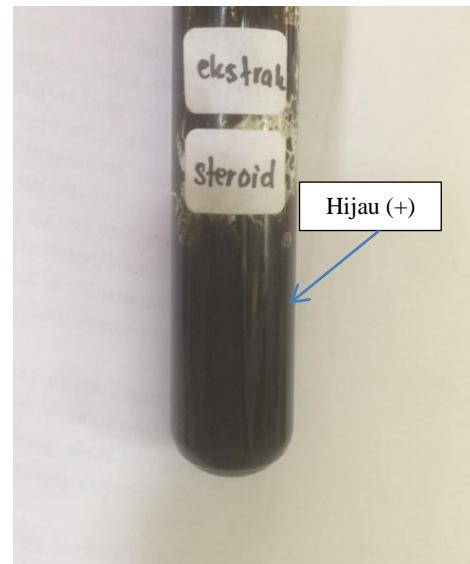
Identifikasi tanin



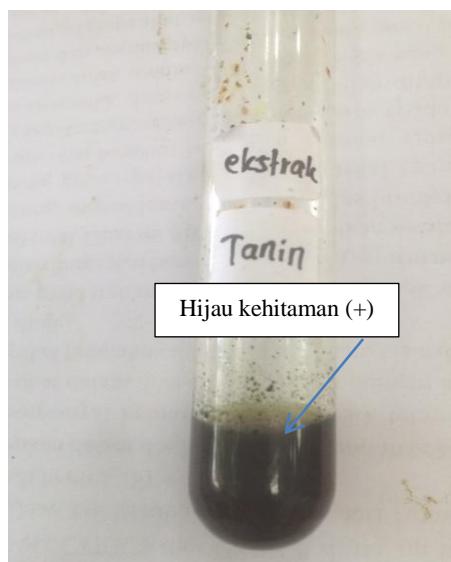
Identifikasi steroid

Lampiran 7. Identifikasi ekstrak etanol daun kol banda

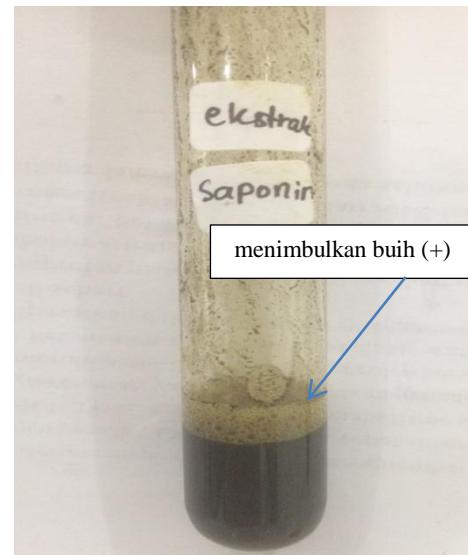
Identifikasi flavonoid



Identifikasi steroid



Identifikasi tanin



Identifikasi saponin

Lampiran 8. Pengukuran kadar air

Berat basah	berat simplisia	Berat serbuk
15.000	2.500	800 gram

➤ Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen serbuk (\%)} = \frac{800 \text{ g}}{15000 \text{ g}} \times 100\% = 5,3 \%$$

1. Berat serbuk 20 gram

Volume terbaca = 1,3 ml

$$\text{Rendemen} = \frac{1,3 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 6,5 \% < 10 \%$$

2. Berat serbuk 20,07 gram

Volume terbaca = 1,4 ml

$$\text{Rendemen} = \frac{1,4 \text{ ml}}{20,07 \text{ gram}} \times 100\% = 6,97 \% < 10 \%$$

3. Berat serbuk 20,05 gram

Volume terbaca = 1,2 ml

$$\text{Rendemen} = \frac{1,2 \text{ ml}}{20,05 \text{ gram}} \times 100\% = 5,98 \% < 10 \%$$

Lampiran 9. Perhitungan rendemen daun kol banda

Rendemen daun kol banda		
Berat daun basah (g)	Berat daun kering (g)	Rendemen (%) b/b
15000	2500	16,67

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2500}{15000} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 16,67\%$$

Rendemen berat serbuk terhadap daun kering		
Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%) b/b
2500	800	32

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{800}{2500} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 32 \%$$

Rendemen ekstrak etanol daun kol banda		
Berat serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%) b/b
800	130,6	16,3

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{130,6}{800} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 16,3 \%$$

Lampiran 10. Perhitungan dosis uji antiinflamasi

➤ Kontrol negatif CMC Na 0,5%

Menimbang 500 gram CMC Na disuspensikan ke dalam air suling ad 100 ml volume pemberian CMC Na 1 ml / tikus

➤ Perhitungan dosis natrium diklofenak

Dosis natrium diklofenak = 50 mg

Faktor konversi manusia ke berat tikus 200 gram = 0,018

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 50 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 0,9 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus} \\ &= 4,5 \text{ mg/kg BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok dibuat 1 \%} &= 1000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 100 \text{ mg} / 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Perhitungan penimbangan :

Sediaan 50 mg = 200 mg (berat tablet)

$$\frac{100 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} = \frac{X}{200 \text{ mg}}$$

$$X \text{ } 50 \text{ mg} = 20000 \text{ mg}$$

$$X = 400 \text{ mg} \sim 2 \text{ tablet}$$

$$1) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,855 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{0,855 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0855 \text{ ml}$$

$$2) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,81$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{0,81}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,081 \text{ ml}$$

$$3) \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,9 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{0,9 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

$$4) \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,9 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{0,9 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

$$5) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,81 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{0,81 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,018 \text{ ml}$$

➤ Pembuatan Selekoksin

Dosis selekoksin = 100 mg

Faktor konversi manusia ke berat tikus 200 gram = 0,018

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 100 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 1,8 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus} \\ &= 9 \text{ mg/kg BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok dibuat 0,5 \%} &= 500 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 50 \text{ mg} / 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Perhitungan penimbangan :

Sediaan 100 mg = 350 mg (berat tablet)

$$\frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} = \frac{X}{350 \text{ mg}}$$

$$X = 17,500 \text{ mg}$$

$$X = 175 \text{ mg} \sim \text{setengah kapsul}$$

$$1) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} = 1,71 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{1,71 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,342 \text{ ml}$$

$$2) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} = 1,62 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{1,62 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,324 \text{ ml}$$

$$3) \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} = 1,8 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{1,8 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$$

$$4) \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} = 1,44 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{1,44 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,288 \text{ ml}$$

$$5) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 1,8 \text{ mg} = 1,71 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{1,71 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,19 \text{ ml}$$

➤ **Perhitungan dosis metilprednisolon**

$$\text{Dosis metilprednisolon} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Faktor konversi manusia ke berat tikus 200 gram} = 0,018$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 4 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 0,072 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus} \\ &= 0,36 \text{ mg/kg BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok dibuat 0,5 \%} &= 500 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 50 \text{ mg} / 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Perhitungan penimbangan :

Sediaan 4 mg = 100 mg (berat tablet)

$$\frac{50 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} = \frac{X}{100 \text{ mg}}$$

$$X \text{ } 100 \text{ mg} = 5000 \text{ mg}$$

$$X = 50 \text{ mg} \sim 2 \text{ tablet}$$

$$1) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,072 \text{ mg} = 0,068 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{0,068 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0136 \text{ ml}$$

$$2) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,072 \text{ mg} = 0,068 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{0,068 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0136 \text{ ml}$$

$$3) \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,072 \text{ mg} = 0,072 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{0,072 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0144 \text{ ml}$$

$$4) \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,072 \text{ mg} = 0,072 \text{ mg}$$

$$\bullet \quad \text{Vol. Suntik} = \frac{0,072 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0144 \text{ ml}$$

$$5) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,072 \text{ mg} = 0,0648 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{0,0648 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,0129 \text{ ml}$$

➤ **Perhitungan dosis ekstrak 400 mg/ kg BB tikus**

Larutan stock 4 % = 4000 mg/ 100 ml

$$= 400 \text{ mg/ 10 ml}$$

Dosis untuk tikus = 400 mg / kg BB tikus

$$400 \text{ mg/ 1000 g BB tikus}$$

$$80 \text{ mg / 200 g BB tikus}$$

$$\text{Larutan yang dioralkan} = \frac{80 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

$$1) \frac{190 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 76 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{76 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1,9 \text{ ml}$$

$$2) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{72 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$$

$$3) \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 64 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{64 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

$$4) \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{72 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$$

$$5) \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 64 \text{ mg}$$

$$\bullet \text{ Vol. Suntik} = \frac{64 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$$

Lampiran 11. Sebelum dikurang T0

Kontrol negatif (CMC 0,5 %) (ml/jam)								
Replikasi	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5	Jam ke 6	Jam ke 24
1	0,020	0,047	0,051	0,056	0,059	0,061	0,064	0,06
2	0,019	0,05	0,056	0,058	0,060	0,063	0,064	0,061
3	0,020	0,046	0,051	0,054	0,059	0,065	0,066	0,061
4	0,020	0,049	0,054	0,054	0,059	0,061	0,062	0,061
5	0,019	0,047	0,052	0,056	0,059	0,061	0,061	0,064
rata-rata	0,0196	0,0478	0,0528	0,0556	0,0592	0,0622	0,0634	0,0614
SD	0,000548	0,001643	0,002168	0,001673	0,000447	0,001789	0,001949	0,001517

Kontrol positif (na diklofenak 4,5 mg/ kg BB tikus)								
Replikasi	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5	Jam ke 6	Jam ke 24
1	0,021	0,040	0,042	0,043	0,043	0,040	0,040	0,032
2	0,020	0,037	0,039	0,042	0,042	0,040	0,040	0,032
3	0,020	0,040	0,042	0,044	0,045	0,042	0,040	0,032
4	0,020	0,040	0,041	0,044	0,045	0,041	0,040	0,031
5	0,020	0,040	0,042	0,045	0,046	0,042	0,042	0,031
Rata-rata	0,0202	0,0394	0,0412	0,0436	0,0442	0,041	0,0404	0,0316
SD	0,000447	0,001342	0,001304	0,00114	0,001643	0,001	0,000894	0,000548

Kontrol positif (Selekoksib 9 mg/ kg BB tikus)								
Replikasi	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5	Jam ke 6	Jam ke 24
1	0,022	0,042	0,053	0,051	0,048	0,048	0,044	0,038
2	0,019	0,041	0,046	0,048	0,049	0,045	0,041	0,037
3	0,022	0,043	0,045	0,05	0,052	0,05	0,049	0,037
4	0,020	0,042	0,048	0,05	0,05	0,045	0,042	0,038
5	0,020	0,041	0,052	0,052	0,051	0,049	0,044	0,036
rata-rata	0,0206	0,0418	0,0488	0,0502	0,050	0,0474	0,044	0,0372
SD	0,001342	0,000837	0,003564	0,001483	0,001581	0,002302	0,003082	0,000837

Kontrol positif (metilprednisolon 0,36 mg/ kg BB tikus)								
Replikasi	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5	Jam ke 6	Jam ke 24
1	0,019	0,046	0,048	0,050	0,049	0,042	0,040	0,032
2	0,019	0,045	0,046	0,049	0,048	0,040	0,038	0,032
3	0,020	0,045	0,043	0,050	0,049	0,045	0,042	0,036
4	0,020	0,042	0,042	0,048	0,047	0,050	0,045	0,034
5	0,020	0,040	0,049	0,046	0,045	0,041	0,038	0,032
rata-rata	0,0196	0,0436	0,0456	0,0486	0,0476	0,0436	0,1126	0,0332
SD	0,000548	0,00251	0,00305	0,001673	0,001673	0,004037	0,160689	0,001789

Kontrol ekstrak daun kol banda 400 mg/ kg BB tikus								
Replikasi	Jam ke 0	Jam ke 1	Jam ke 2	Jam ke 3	Jam ke 4	Jam ke 5	Jam ke 6	Jam ke 24
1	0,018	0,042	0,045	0,049	0,049	0,042	0,040	0,036
2	0,020	0,043	0,044	0,050	0,048	0,044	0,042	0,038
3	0,020	0,041	0,044	0,048	0,049	0,042	0,038	0,036
4	0,020	0,045	0,043	0,050	0,047	0,047	0,042	0,038
5	0,020	0,040	0,042	0,044	0,050	0,048	0,042	0,035
rata-rata	0,0196	0,0422	0,0436	0,0482	0,0486	0,0446	0,0408	0,0366
SD	0,000894	0,001924	0,00114	0,00249	0, ,00114	0,002793	0,001789	0,001342

Lampiran 12. Sesudah dikurang T0

CMC-Na

Replikasi	Jam ke-0	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	Jam ke-24	Total AUC	Rata-rata
1	0	0,027	0,031	0,036	0,039	0,041	0,044	0,040	0,946	0,135
2	0	0,031	0,037	0,039	0,041	0,044	0,045	0,042	0,997	0,142
3	0	0,026	0,031	0,034	0,039	0,045	0,046	0,041	0,981	0,140
4	0	0,029	0,034	0,034	0,039	0,041	0,042	0,041	0,936	0,133
5	0	0,028	0,033	0,037	0,039	0,042	0,042	0,045	0,983	0,140
Rata-rata	0	0,0282	0,0332	0,036	0,0394	0,0426	0,0438	0,0418		
SD	0	0,001924	0,00249	0,002121	0,000894	0,001817	0,001095	0,001924		

Natrium diklofenak

Replikasi	Jam ke-0	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	Jam ke-24	Total AUC	Rata-rata	DAI
1	0	0,019	0,021	0,022	0,022	0,019	0,019	0,011	0,382	0,054	60
2	0	0,017	0,019	0,022	0,022	0,020	0,020	0,012	0,392	0,056	60,56
3	0	0,020	0,022	0,024	0,025	0,022	0,020	0,012	0,41	0,058	58,57
4	0	0,020	0,021	0,024	0,025	0,021	0,020	0,011	0,40	0,057	57,14
5	0	0,020	0,022	0,025	0,026	0,022	0,022	0,011	0,41	0,059	59,28
Rata-rata	0	0,0192	0,021	0,0234	0,024	0,0208	0,0202	0,0114	0,3988	0,0568	59,11
SD	0	0,001304	0,001225	0,001342	0,001871	0,001304	0,001095	0,000548	0,01205	0,001924	1,331916

Selekoksib

Replikasi	Jam ke-0	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	Jam ke-24	Total AUC	Rata-rata	DAI
1	0	0,02	0,031	0,029	0,026	0,026	0,022	0,016	0,485	0,069	48,88
2	0	0,022	0,027	0,029	0,03	0,026	0,022	0,018	0,505	0,072	49,29
3	0	0,021	0,023	0,028	0,03	0,028	0,027	0,015	0,521	0,074	47,14
4	0	0,022	0,028	0,03	0,03	0,025	0,022	0,018	0,506	0,072	45,86
5	0	0,021	0,032	0,032	0,031	0,029	0,024	0,016	0,517	0,073	47,85
Rata-rata	0	0,0212	0,0282	0,0296	0,0294	0,0268	0,0234	0,0166	0,5068	0,072	47,804
SD	0	0,000837	0,003564	0,001517	0,001949	0,001643	0,002191	0,001342	0,014007	0,001871	1,377327

Metilprednisolon

Replikasi	Jam ke-0	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	Jam ke-24	Total AUC	Rata-rata	DAI
1	0	0,027	0,029	0,031	0,03	0,023	0,021	0,013	0,045	0,065	51,85
2	0	0,026	0,027	0,03	0,029	0,021	0,019	0,013	0,43	0,061	57,04
3	0	0,025	0,023	0,03	0,029	0,025	0,022	0,016	0,485	0,07	50
4	0	0,022	0,022	0,028	0,027	0,03	0,025	0,014	0,492	0,07	47,36
5	0	0,02	0,029	0,026	0,025	0,021	0,018	0,012	0,4	0,057	59,28
Rata-rata	0	0,024	0,026	0,029	0,028	0,024	0,021	0,0136	0,3704	0,0646	53,106
SD	0	0,002915	0,003317	0,002	0,002	0,003742	0,002739	0,001517	0,185899	0,005683	4,945602

Ekstrak daun kol banda

Replikasi	Jam ke-0	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3	Jam ke-4	Jam ke-5	Jam ke-6	Jam ke-24	Total AUC	Rata-rata	DAI
1	0	0,024	0,027	0,031	0,031	0,024	0,022	0,018	0,508	0,072	46,66
2	0	0,023	0,024	0,03	0,028	0,024	0,022	0,018	0,500	0,071	50
3	0	0,021	0,024	0,028	0,029	0,022	0,018	0,016	0,436	0,062	55,71
4	0	0,025	0,023	0,028	0,027	0,027	0,022	0,018	0,501	0,071	46,66
5	0	0,02	0,022	0,024	0,03	0,028	0,022	0,015	0,468	0,0668	52,28
Rata-rata	0	0,0226	0,024	0,0282	0,029	0,025	0,0212	0,017	0,4826	0,06856	50,262
SD	0	0,002074	0,001871	0,002683	0,001581	0,002449	0,001789	0,001414	0,030295	0,004179	3,865569

Lampiran 13. Perhitungan AUC

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

KONTROL NEGATIF (CMC 0,5 %) (ml/jam)

REPLIKASI 1

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,027}{2} (1-0) = 0,013$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,027+0,031}{2} (2-1) = 0,029$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,031+0,036}{2} (3-2) = 0,0335$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,036+0,039}{2} (4-3) = 0,0335$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,039+0,041}{2} (5-4) = 0,0385$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,041+0,044}{2} (6-5) = 0,0425$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,044+0,04}{2} (24-6) = 0,756$$

Total AUC = 0,946

$$\text{rata-rata AUC} = \frac{0,9465}{7} = 0,135$$

REPLIKASI 2

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,031}{2} (1-0) = 0,0155$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,031+0,037}{2} (2-1) = 0,034$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,037+0,039}{2} (3-2) = 0,038$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,039+0,041}{2} (4-3) = 0,04$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,041+0,044}{2} (5-4) = 0,0425$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,044+0,045}{2} (6-5) = 0,0445$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,045+0,042}{2} (24-6) = 0,783$$

Total AUC= 0,9975

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,9975}{7} = 0,1425$$

REPLIKASI 3

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,026}{2} (1-0) = 0,013$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,026+0,031}{2} (2-1) = 0,0285$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,031+0,034}{2} (3-2) = 0,0325$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,034+0,039}{2} (4-3) = 0,0365$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,039+0,045}{2} (5-4) = 0,042$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,045+0,046}{2} (6-5) = 0,0455$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,046+0,041}{2} (24-6) = 0,783$$

Total AUC = 0,981

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,981}{7} = 0,140$$

REPLIKASI 4

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,029}{2} (1-0) = 0,0145$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,029+0,034}{2} (2-1) = 0,0315$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,034+0,034}{2} (3-2) = 0,034$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,034+0,039}{2} (4-3) = 0,0365$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,039+0,041}{2} (5-4) = 0,04$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,041+0,042}{2} (6-5) = 0,0325$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,042+0,041}{2} (24-6) = 0,747$$

Total AUC = 0.936

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,936}{7} = 0,133$$

REPLIKASI 5

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,028}{2} (1-0) = 0,014$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,028+0,033}{2} (2-1) = 0,0305$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,033+0,037}{2} (3-2) = 0,035$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,037+0,039}{2} (4-3) = 0,038$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,039+0,042}{2} (5-4) = 0,0405$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,042+0,042}{2} (6-5) = 0,042$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,042+0,045}{2} (24-6) = 0,783$$

Total AUC = 0,983

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,983}{7} = 0,140$$

KONTROL POSITIF (NATRIUM DIKLOFENAK 4,5 mg / kg BB tikus)

REPLIKASI 1

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,019}{2} (1-0) = 0,0095$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,019+0,021}{2} (2-1) = 0,02$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,021+0,022}{2} (3-2) = 0,0215$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,022+0,022}{2} (4-3) = 0,022$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,022+0,019}{2} (5-4) = 0,0205$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,019+0,019}{2} (6-5) = 0,019$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,019+0,011}{2} (24-6) = 0,27$$

Total AUC = 0,382

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,382}{7} = 0,054$$

REPLIKASI 2

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,017}{2} (1-0) = 0,0085$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,017+0,019}{2} (2-1) = 0,018$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,019+0,022}{2} (3-2) = 0,0205$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,022+0,022}{2} (4-3) = 0,016$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,022+0,02}{2} (5-4) = 0,021$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,02+0,02}{2} (6-5) = 0,02$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,02+0,012}{2} (24-6) = 0,288$$

Total AUC = 0,392

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,392}{7} = 0,056$$

REPLIKASI 3

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,01$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,022}{2} (2-1) = 0,021$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,022+0,024}{2} (3-2) = 0,023$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,024+0,025}{2} (4-3) = 0,0245$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,025+0,022}{2} (5-4) = 0,0235$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,022+0,02}{2} (6-5) = 0,021$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,02+0,012}{2} (24-6) = 0,288$$

Total AUC = 0,411

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,411}{7} = 0,058$$

REPLIKASI 4

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,01$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,021}{2} (2-1) = 0,0205$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,021+0,024}{2} (3-2) = 0,0225$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,024+0,025}{2} (4-3) = 0,0245$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,025+0,021}{2} (5-4) = 0,023$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,021+0,02}{2} (6-5) = 0,0205$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,02+0,011}{2} (24-6) = 0,279$$

Total AUC = 0,4

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,4}{7} = 0,571$$

REPLIKASI 5

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,001$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,022}{2} (2-1) = 0,021$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,022+0,025}{2} (3-2) = 0,0235$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,025+0,026}{2} (4-3) = 0,0255$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,026+0,022}{2} (5-4) = 0,024$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,022+0,022}{2} (6-5) = 0,022$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,011}{2} (24-6) = 0,297$$

Total AUC = 0,414

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,414}{7} = 0,059$$

KONTROL POSITIF (SELEKOKSIB 9 mg/ kg BB tikus)

REPLIKASI 1

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,01$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,031}{2} (2-1) = 0,0255$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,031+0,029}{2} (3-2) = 0,030$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,029+0,026}{2} (4-3) = 0,0275$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,026+0,026}{2} (5-4) = 0,026$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,026+0,022}{2} (6-5) = 0,024$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,016}{2} (24-6) = 0,342$$

Total AUC = 0,485

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,47}{7} = 0,069$$

REPLIKASI 2

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,022}{2} (1-0) = 0,011$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,027}{2} (2-1) = 0,0245$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,027+0,029}{2} (3-2) = 0,028$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,029+0,03}{2} (4-3) = 0,0295$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,03+0,026}{2} (5-4) = 0,028$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,026+0,022}{2} (6-5) = 0,024$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,018}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,505

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,505}{7} = 0,072$$

REPLIKASI 3

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,021}{2} (1-0) = 0,0105$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,021+0,023}{2} (2-1) = 0,022$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,023+0,028}{2} (3-2) = 0,0255$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,028+0,03}{2} (4-3) = 0,029$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,03+0,028}{2} (5-4) = 0,029$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,028+0,027}{2} (6-5) = 0,0275$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,027+0,015}{2} (24-6) = 0,378$$

Total AUC = 0,521

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,521}{7} = 0,074$$

REPLIKASI 4

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,022}{2} (1-0) = 0,011$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,028}{2} (2-1) = 0,025$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,028+0,03}{2} (3-2) = 0,029$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,03+0,03}{2} (4-3) = 0,03$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,03+0,025}{2} (5-4) = 0,0275$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,025+0,022}{2} (6-5) = 0,0235$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,018}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,506

$$\text{Rata} = \frac{0,506}{7} = 0,072$$

REPLIKASI 5

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,021}{2} (1-0) = 0,0105$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,021+0,032}{2} (2-1) = 0,0265$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,032+0,032}{2} (3-2) = 0,032$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,032+0,031}{2} (4-3) = 0,0315$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,031+0,029}{2} (5-4) = 0,03$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,029+0,024}{2} (6-5) = 0,0265$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,024+0,016}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,517

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,517}{7} = 0,073$$

KONTROL POSITIF (METILPREDNISOLON 0,36 mg/ kg BB tikus)

REPLIKASI 1

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,027}{2} (1-0) = 0,0135$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,027+0,029}{2} (2-1) = 0,028$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,029+0,031}{2} (3-2) = 0,03$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,031+0,03}{2} (4-3) = 0,0305$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,03+0,023}{2} (5-4) = 0,0265$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,023+0,021}{2} (6-5) = 0,022$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,021+0,013}{2} (24-6) = 0,306$$

Total AUC = 0,456

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,456}{7} = 0,065$$

REPLIKASI 2

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,026}{2} (1-0) = 0,013$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,026+0,027}{2} (2-1) = 0,0265$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,027+0,03}{2} (3-2) = 0,0285$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,03+0,029}{2} (4-3) = 0,0295$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,029+0,021}{2} (5-4) = 0,025$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,021+0,019}{2} (6-5) = 0,02$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,019+0,013}{2} (24-6) = 0,288$$

Total AUC = 0,430

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,430}{7} = 0,0615$$

REPLIKASI 3

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,025}{2} (1-0) = 0,0125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,025+0,023}{2} (2-1) = 0,024$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,023+0,03}{2} (3-2) = 0,0265$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,03+0,029}{2} (4-3) = 0,0295$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,029+0,025}{2} (5-4) = 0,027$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,025+0,022}{2} (6-5) = 0,0235$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,016}{2} (24-6) = 0,342$$

Total AUC = 0,485

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,485}{7} = 0,070$$

REPLIKASI 4

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,022}{2} (1-0) = 0,011$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,022}{2} (2-1) = 0,022$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,022+0,028}{2} (3-2) = 0,025$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,028+0,027}{2} (4-3) = 0,0275$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,027+0,03}{2} (5-4) = 0,0285$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,03+0,025}{2} (6-5) = 0,0275$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,025+0,014}{2} (24-6) = 0,351$$

Total AUC = 0,492

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,492}{7} = 0,070$$

REPLIKASI 5

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,01$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,029}{2} (2-1) = 0,0245$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,029+0,026}{2} (3-2) = 0,0275$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,026+0,025}{2} (4-3) = 0,0255$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,025+0,021}{2} (5-4) = 0,023$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,021+0,018}{2} (6-5) = 0,0195$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,018+0,012}{2} (24-6) = 0,27$$

Total AUC = 0,4

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,4}{7} = 0,057$$

KONTROL EKSTRAK DAUN KOL BANDA 400 mg/ kg BB tikus

REPLIKASI 1

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,024}{2} (1-0) = 0,012$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,024+0,027}{2} (2-1) = 0,0255$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,027+0,031}{2} (3-2) = 0,029$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,031+0,031}{2} (4-3) = 0,031$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,031+0,024}{2} (5-4) = 0,0275$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,024+0,022}{2} (6-5) = 0,023$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,018}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,508

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,508}{7} = 0,072$$

REPLIKASI 2

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,023}{2} (1-0) = 0,0115$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,023+0,024}{2} (2-1) = 0,0235$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,024+0,03}{2} (3-2) = 0,027$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,03+0,028}{2} (4-3) = 0,029$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,028+0,024}{2} (5-4) = 0,026$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,024+0,022}{2} (6-5) = 0,023$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,018}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,5

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,5}{7} = 0,071$$

REPLIKASI 3

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,021}{2} (1-0) = 0,0105$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,021+0,024}{2} (2-1) = 0,0225$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,024+0,028}{2} (3-2) = 0,026$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,028+0,029}{2} (4-3) = 0,0285$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,029+0,022}{2} (5-4) = 0,0225$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,022+0,018}{2} (6-5) = 0,02$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,018+0,016}{2} (24-6) = 0,306$$

Total AUC = 0,436

$$\text{Rata-rata AUC} = \frac{0,436}{7} = 0,062$$

REPLIKASI 4

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,025}{2} (1-0) = 0,0125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,025+0,023}{2} (2-1) = 0,024$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,023+0,028}{2} (3-2) = 0,0255$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,028+0,027}{2} (4-3) = 0,0275$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,027+0,027}{2} (5-4) = 0,027$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,027+0,022}{2} (6-5) = 0,0245$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,018}{2} (24-6) = 0,36$$

Total AUC = 0,501

$$\text{Rata-rata} = \frac{0,501}{7} = 0,07$$

REPLIKASI 5

$$AUC_0^1 = \frac{0+0,02}{2} (1-0) = 0,01$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,022}{2} (2-1) = 0,021$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,022+0,024}{2} (3-2) = 0,023$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,024+0,03}{2} (4-3) = 0,027$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,03+0,028}{2} (5-4) = 0,029$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,028+0,022}{2} (6-5) = 0,025$$

$$AUC_6^{24} = \frac{0,022+0,015}{2} (24-6) = 0,333$$

Total AUC = 0,468

$$\text{Rata-rata} = \frac{\mathbf{0,468}}{7} = 0,0668$$

Lampiran 14. Perhitungan % DAI

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Natrium diklofenak

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,135 - 0,054}{0,135} \times 100\% = 60 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,142 - 0,056}{0,142} \times 100\% = 60,56 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,058}{0,14} \times 100\% = 58,57\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,133 - 0,057}{0,133} \times 100\% = 57,14\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,059}{0,14} \times 100\% = 59,28\%$$

Selekoksib

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,135 - 0,069}{0,135} \times 100\% = 48,88 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,142 - 0,072}{0,142} \times 100\% = 49,29 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,074}{0,14} \times 100\% = 47,14\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,133 - 0,072}{0,133} \times 100\% = 45,86\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,073}{0,14} \times 100\% = 47,85\%$$

Metilprednisolon

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,135 - 0,065}{0,135} \times 100\% = 51,85 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,142 - 0,061}{0,142} \times 100\% = 57,04 \%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,07}{0,14} \times 100\% = 50\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,133 - 0,07}{0,133} \times 100\% = 47,36\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14 - 0,057}{0,14} \times 100\% = 59,28\%$$

Ekstrak daun kol banda 400 mg

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,135-0,072}{0,135} \times 100\% = 46,66\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,142-0,071}{0,142} \times 100\% = 50\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14-0,062}{0,14} \times 100\% = 55,71\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,133-0,071}{0,133} \times 100\% = 46,66\%$$

$$\% \text{ Daya antiinflamasi} = \frac{0,14-0,0668}{0,14} \times 100\% = 52,28\%$$

ampiran 15. Foto makroskopis lambung tikus

Kelompok negatif CMC-Na



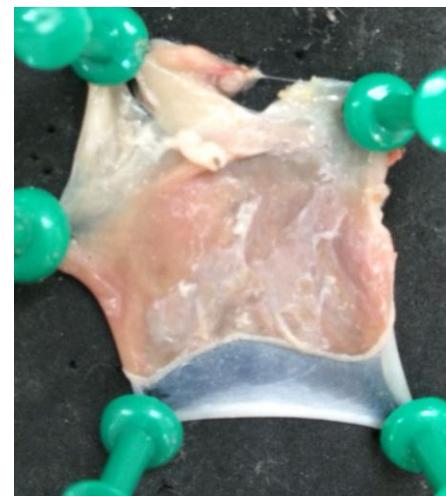
Kelompok positif natrium diklofenak



Kelompok positif selekoksib



Kelompok positif metilprednisolon



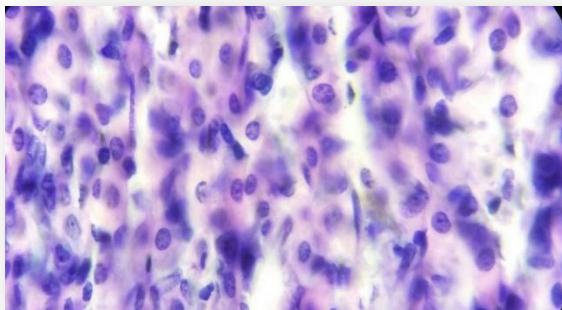
Kelompok ekstrak daun kol banda dosis 400 mg/ kg BB



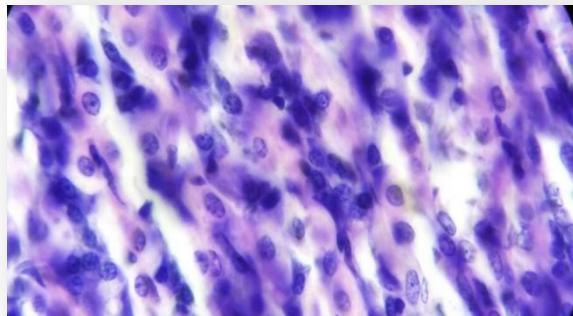
Lampiran 16. Foto hasil histopatologi lambung tikus

Kelompok negatif CMC-Na

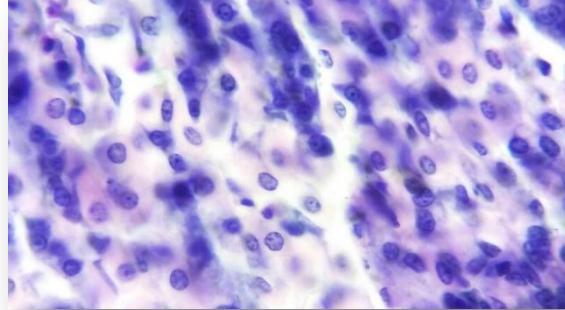
1.



2.

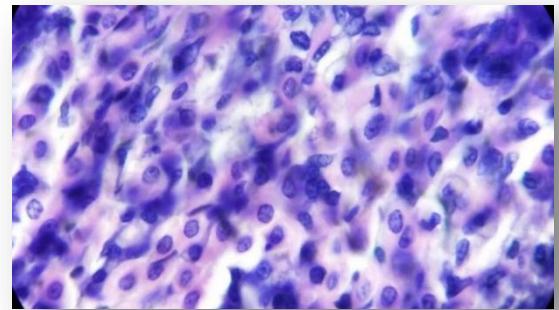


3.

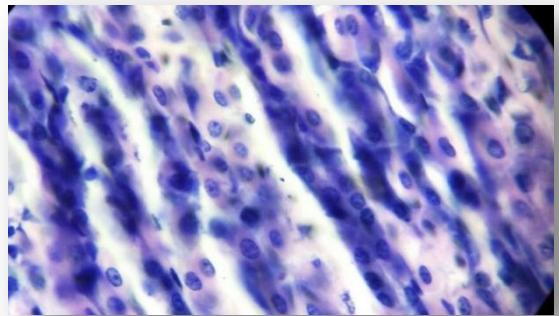


Kelompok positif natrium diklofenak

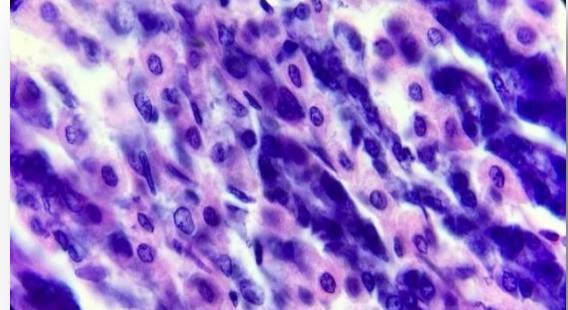
1.



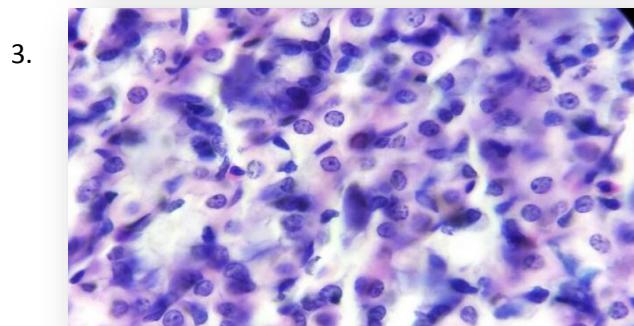
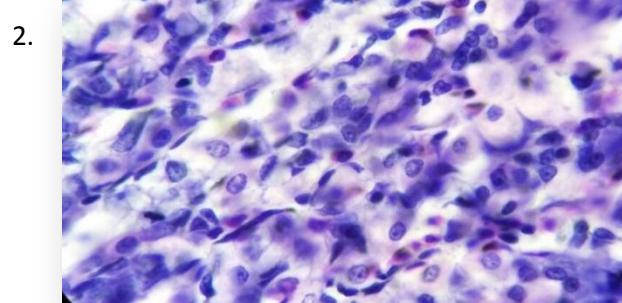
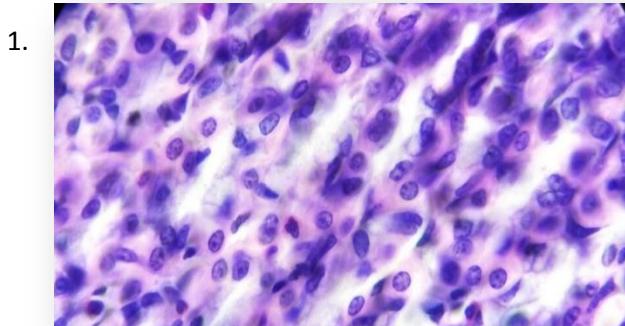
2.



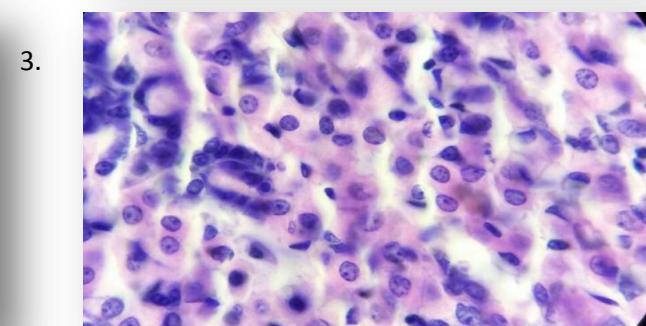
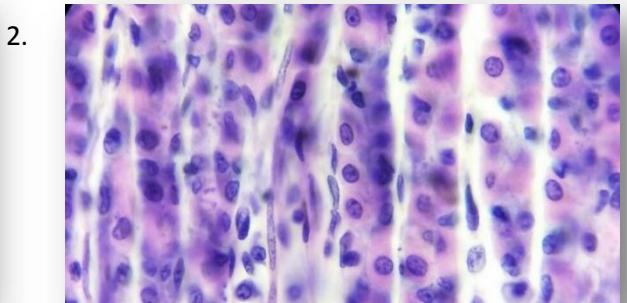
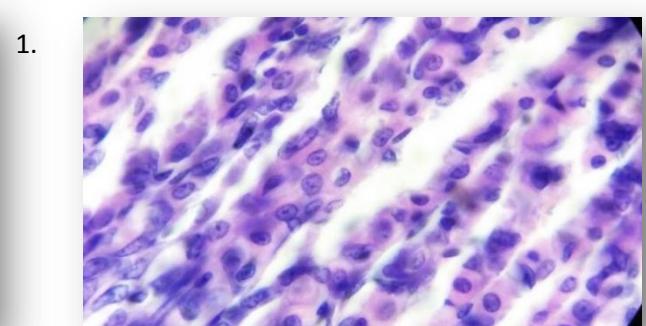
3.



Kelompok positif selekoksib

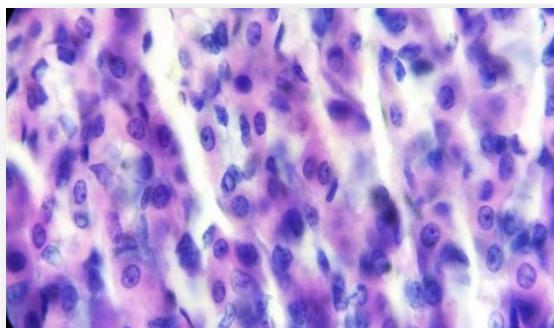


Kelompok positif metilprednison

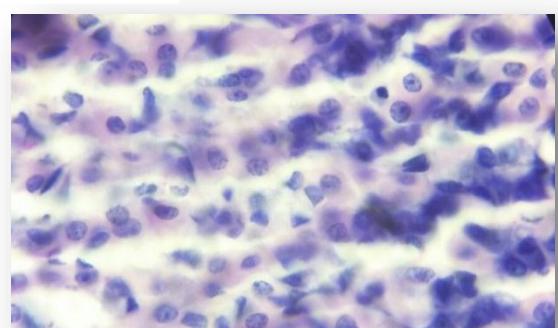


Kelompok ekstrak daun kol banda dosis 400 mg/ kg BB

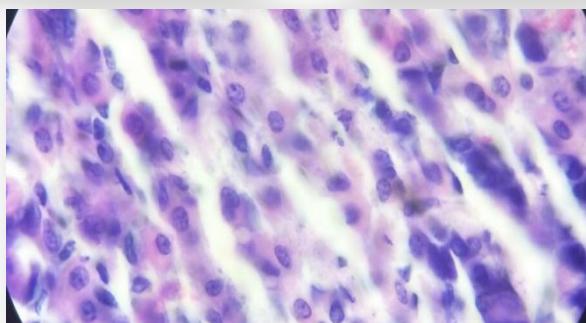
1.



2.



3.



Lampiran 17. Hasil statistik AUC total

Tests of Normality

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
total AUC	CMC-Na	.282	5	.200 [*]	.893	5	.372
	Na diklofenak	.224	5	.200 [*]	.907	5	.451
	selekoksib	.249	5	.200 [*]	.917	5	.509
	metilprednisolon	.210	5	.200 [*]	.942	5	.681
	ekstrak 400 mg	.317	5	.112	.849	5	.190

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

total AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.851	4	20	.051

ANOVA

total AUC

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.068	4	.267	390.894	.000
Within Groups	.014	20	.001		
Total	1.081	24			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

total AUC
LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC-Na	Na diklofenak	.569800*	.016527	.000	.53533	.60427
	selekoksib	.461800*	.016527	.000	.42733	.49627
	metilprednisolon	.517200*	.016527	.000	.48273	.55167
	ekstrak 400 mg	.486000*	.016527	.000	.45153	.52047
Na diklofenak	CMC-Na	-.569800*	.016527	.000	-.60427	-.53533
	Selekoksib	-.108000*	.016527	.000	-.14247	-.07353
	metilprednisolon	-.052600*	.016527	.005	-.08707	-.01813
	ekstrak 400 mg	-.083800*	.016527	.000	-.11827	-.04933
selekoksib	CMC-Na	-.461800*	.016527	.000	-.49627	-.42733
	Na diklofenak	.108000*	.016527	.000	.07353	.14247
	metilprednisolon	.055400*	.016527	.003	.02093	.08987
	ekstrak 400 mg	.024200	.016527	.159	-.01027	.05867
metilprednisolon	CMC-Na	-.517200*	.016527	.000	-.55167	-.48273
	Na diklofenak	.052600*	.016527	.005	.01813	.08707
	Selekoksib	-.055400*	.016527	.003	-.08987	-.02093
	ekstrak 400 mg	-.031200	.016527	.074	-.06567	.00327
ekstrak 400 mg	CMC-Na	-.486000*	.016527	.000	-.52047	-.45153
	Na diklofenak	.083800*	.016527	.000	.04933	.11827
	selekoksib	-.024200	.016527	.159	-.05867	.01027
	metilprednisolon	.031200	.016527	.074	-.00327	.06567

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

Tests of Normality^b

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
D na diklofenak	.151	5	.200	.966	5	.849
A Selecoxsib	.183	5	.200	.960	5	.811
I metil prednisolone	.200	5	.200	.946	5	.710
ekstrak 400 mg/kg bb	.224	5	.200	.909	5	.462

a. Lilliefors Significance Correction

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

b. There are no valid cases for DAI when perlakuan = 1.000. Statistics cannot be computed for this level.

Lampiran 18. Hasil statistik % DAI

Test of Homogeneity of Variances

DAI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.085	3	16	.012

ANOVA

DAI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	355.503	3	118.501	11.005	.000
Within Groups	172.291	16	10.768		
Total	527.793	19			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

DAI
LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
na diklofenak	Selecoxib	11.306000	2.075395	.000	6.90636	15.70564
	metil prednisolon	6.004000	2.075395	.011	1.60436	10.40364
	ekstrak 400 mg/kg bb	8.848000	2.075395	.001	4.44836	13.24764
Selecoxib	na diklofenak	-11.306000	2.075395	.000	-15.70564	-6.90636
	metil prednisolon	-5.302000	2.075395	.021	-9.70164	-.90236
	ekstrak 400 mg/kg bb	-2.458000	2.075395	.254	-6.85764	1.94164
metil prednisolon	na diklofenak	-6.004000	2.075395	.011	-10.40364	-1.60436
	Selecoxib	5.302000	2.075395	.021	.90236	9.70164
	ekstrak 400 mg/kg bb	2.844000	2.075395	.190	-1.55564	7.24364
ekstrak 400 mg/kg bb	na diklofenak	-8.848000	2.075395	.001	-13.24764	-4.44836
	Selecoxib	2.458000	2.075395	.254	-1.94164	6.85764
	metil prednisolon	-2.844000	2.075395	.190	-7.24364	1.55564

Lampiran 19. Hasil skoring keparahan tukak lambung

Perlakuan	tikus 1	tikus 2	tikus 3	Rata-rata	Sig
I	0	0	0	0	-
II	1,0	1,0	0,5	0,833	0,034*
III	0,5	0	0	0,166	0,317
IV	1,0	0,5	0,5	0,666	0,034*
V	0,5	0	0	0,166	0,0317

Lampiran 20. Hasil makroskopis uji statistik lambung

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kerusakan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.000
	Std. Deviation	1.4639
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.592
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Ranks

perlakuan	N	Mean Rank
kerusakan	na cmc	3
	natrium diklofenak	3
	selekoksib	3
	metilprednisolon	3
	ekstrak 400 mg	3
	Total	15

Test Statistics^{a,b}

	kerusakan
Chi-Square	9.956
df	4
Asymp. Sig.	.041

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
perlakuan

Ranks

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	na cmc	3	2.00
	na diklofenak	3	5.00
	Total	6	15.00

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	na cmc	3	3.00	9.00
	selekoksib	3	4.00	12.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	na cmc	3	2.00	6.00
	metilprednisolon	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	na cmc	3	3.00	9.00
	ekstrak 400 mg	3	4.00	12.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 21. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan kerusakan sel pada mukosa lambung

Kelompok	Kode hewan	Jumlah kerusakan			Normal ±SD	Kerusakan sel ±SD
		Piknosis	Karioeksis	Kariolisis		
1	1.1	13	20	3	66 ± 1	34 ± 1,5
	1.2	18	12	4		
	1.3	19	11	3		
2	2.1	21	25	4	52 ± 2	48 ± 2 ^{ab}
	2.2	22	21	3		
	2.3	24	20	4		
3	3.1	21	16	3	60 ± 1	40 ± 1 ^{ab}
	3.2	16	23	3		
	3.3	18	19	2		
4	4.1	17	1	5	54 ± 1	46 ± 1 ^{ab}
	4.2	21	22	4		
	4.3	18	23	5		
5	5.1	13	19	5	64 ± 1	36 ± 1
	5.2	11	20	5		
	5.3	12	17	6		

Lampiran 22. Uji statistik histologi lambung

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kerusakan sel	Na CMC	.253	3	.964	3	.637
	Na diklofenak	.175	3	.1.000	3	1.000
	selekoksib	.175	3	.1.000	3	1.000
	metil prednisolon	.175	3	.1.000	3	1.000
	ekstrak 400 mg/kg	.175	3	.1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances
kerusakan sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.526	4	10	.719

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	433.067	4	108.267	58.000	.000
Within Groups	18.667	10	1.867		
Total	451.733	14			

Multiple Comparisons

kerusakan sel
LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Na CMC	Na diklofenak	-13.667 [*]	1.116	.000	-16.15	-11.18
	selekoksib	-5.667 [*]	1.116	.000	-8.15	-3.18
	metil prednisolon	-11.667 [*]	1.116	.000	-14.15	-9.18
	ekstrak 400 mg/kg	-1.667 [*]	1.116	.166	-4.15	.82
selekoksib	Na CMC	13.667 [*]	1.116	.000	11.18	16.15
	selekoksib	8.000 [*]	1.116	.000	5.51	10.49
	metil prednisolon	2.000 [*]	1.116	.103	-.49	4.49
	ekstrak 400 mg/kg	12.000 [*]	1.116	.000	9.51	14.49
metil prednisolon	Na CMC	5.667 [*]	1.116	.000	3.18	8.15
	Na diklofenak	-8.000 [*]	1.116	.000	-10.49	-5.51
	selekoksib	-6.000 [*]	1.116	.000	-8.49	-3.51
	ekstrak 400 mg/kg	4.000 [*]	1.116	.005	1.51	6.49
ekstrak 400 mg/kg	Na CMC	11.667 [*]	1.116	.000	9.18	14.15
	Na diklofenak	-2.000 [*]	1.116	.103	-4.49	.49
	selekoksib	6.000 [*]	1.116	.000	3.51	8.49
	ekstrak 400 mg/kg	10.000 [*]	1.116	.000	7.51	12.49

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