

BAB VI

RINGKASAN

Arthritis merupakan penyakit sendi yang perkembangannya lambat dan berkaitan dengan kartilago, dan paling banyak terjadi pada sendi tulang belakang, panggul, lutut dan pergelangan kaki (Dipiro, *et al.*, 2008). Saat ini terdapat sekitar 110 jenis penyakit arthritis yang ditandai dengan kerusakan dan hilangnya kartilago artikular yang berakibat pada pembentukan osteofit, rasa sakit, pergerakan yang terbatas, deformitas dan ketidakmampuan. Dari sekian banyak jenis tersebut, yang paling banyak dijumpai adalah osteoarthritis, arthritis reumatoid, arthritis gout, osteoporosis, lupus eritomatosus sistemik dan penyakit reumatik jaringan lunak. (Muchid, *et al.*, 2006)

Arthritis merupakan salah satu dari berbagai masalah penyakit kronis yang umum dan menjadi penyebab kedua penurunan produktivitas setelah penyakit jantung pada orang Amerika usia di atas 15 tahun. Hal ini berdampak pada besarnya biaya pengobatan arthritis di Amerika yang sangat tinggi per tahun. Obat untuk terapi arthritis non-gout bersifat simptomatik yaitu analgetik oral seperti parasetamol dan tramadol serta golongan anti-inflamasi non steroid (AINS) seperti aspirin, indometasin, diklofenak, ibuprofen dan lain-lain. Pasien arthritis harus mengkonsumsi obat-obatan tersebut dalam jangka waktu yang lama sehingga beresiko meningkatnya efek samping obat (Muchid, *et al.*, 2006). Inflamasi atau radang adalah suatu respon tubuh terhadap rangsangan merugikan yang ditimbulkan oleh berbagai agen berbahaya seperti infeksi, antibodi ataupun

luka fisik (Goodman & Gilman, 2008). Inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan pada jaringan yang berfungsi untuk menghancurkan, mengurangi, atau melokalisasi baik agen pencedera maupun jaringan yang mengalami cedera. Tanda-tanda pokok peradangan akut yaitu pembengkakan/edema, kemerahan, panas, nyeri dan perubahan fungsi (Corwin, 2008). Hal-hal yang terjadi pada proses radang akut sebagian besar dimungkinkan oleh pelepasan berbagai macam mediator kimia antara lain amina vasoaktif, protease plasma, metabolit asam arakidonat dan produk leukosit. (Erlina, *et al.*, 2007)

Penelitian dan pengembangan obat AINS sudah dilakukan lebih dari satu abad, namun hingga kini belum dapat menemukan obat AINS yang ideal. Obat AINS klasik sering menimbulkan efek yang tidak diinginkan seperti pendarahan lambung dan kerusakan renal. Efek yang tidak diinginkan tersebut timbul karena obat AINS klasik menghambat aktivitas enzim COX-1. Obat AINS baru golongan inhibitor COX-2 selektif (“coxib”) mempunyai toksisitas gastrointestinal dan renal lebih rendah, namun selektivitas yang terlalu tinggi dapat meningkatkan risiko terhadap kardiovaskular. Kondisi di atas menunjukkan bahwa masih sangat diperlukan penemuan obat AINS atau inhibitor COX-2 baru yang mempunyai efek terapeutik dan tolerabilitas lebih baik. (Hayun, 2012)

Herba anting-anting (*Acalypha indica* L.) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang telah lama digunakan secara empiris untuk terapi rematik. Berbagai hasil penelitian juga telah membuktikan efek dari tanaman tersebut sebagai penurunan kadar asam urat, anti-arthritis ataupun anti-inflamasi. Hasil

penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Acalypha indica* L. pada beberapa pelarut dapat menghambat aktivitas enzim 5-LOX pada konsentrasi 100 bpj sebesar 34,71% (ekstrak hexan) serta 15-LOX COX-1 dan COX-2 dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah 28,3 bpj (ekstrak etanol), 6,48 (ekstrak hexan), 69,47 (ekstrak hexan) (Reddy, *et al.*, 2012). Pada kombinasi 5,4 g/200 g bb ekstrak air anting-anting dan 28 mg/200 g bb ekstrak etanol 70% jahe merah dapat menghambat udem kaki tikus yang setara dengan natrium diklofenak dosis 27 mg /200 g bb tikus (Apriani, 2011). Ekstrak metanol anting-anting pada dosis 250 mg/kg bb dapat menghambat udem pada kaki belakang tikus yang diinduksi karagenan sebesar 30,6% yang tidak berbeda signifikan dengan fenilbutason (Rahman, *et al.*, 2010). Ekstrak metanol daun anting-anting secara *in vitro* dapat menghambat hemolisis sel darah merah sebesar 78,72% pada konsentrasi 250 μ g/ml yang tidak berbeda signifikan dengan natrium diklofenak pada konsentrasi 50 μ g/ml (Muzammil, *et al.*, 2014). Khrisna *et al.*, (2011) melaporkan bahwa ekstrak hidroalkohol herba anting-anting pada dosis 200 mg/kg bb dapat memberikan efek anti-arthritis pada tikus galur wistar yang diinduksi kolagen tipe 2. Namun senyawa apa yang berperan dalam aktivitas anti-inflamasi belum diketahui. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan fraksinasi ekstrak etanol herba anting-anting sehingga didapatkan informasi tentang kandungan senyawa dari fraksi yang aktif. Pengujian aktivitas anti-inflamasi dilakukan dengan metode induksi inflamasi menggunakan karagenan pada tikus galur wistar. Pengujian aktivitas anti-arthritis dilakukan dengan metode induksi arthritis menggunakan freund ajuvan pada tikus galur wistar.

Tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas anti-artritis dari ekstrak etanol herba anting-anting pada tikus putih yang diinduksi CFA, mengetahui aktivitas anti-inflamasi dari ekstrak etanol herba anting-anting yang diinduksi karagenan dan mengetahui senyawa kimia yang terdapat dalam fraksi dengan aktivitas anti-inflamasi tertinggi dari ekstrak etanol herba anting-anting.

Pada uji anti-artritis, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar jantan yang sehat dengan bobot 150 – 250 gram terdiri atas 30 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kelompok I diberi larutan Na.CMC, kelompok II-IV diberi suspensi EEAA dosis 50,100 dan 200mg/kg bb kelompok V diberi suspensi Triamsinolon. Sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimatisasi selama seminggu lalu dipuasakan makan selama 7 jam tapi tetap diberi air minum. Hewan uji diukur volume udem awalnya menggunakan plestimometer kemudian diberikan induksi CFA 1% secara subplantar sebanyak 0,2 mL pada kaki kiri belakang. Setelah 1 minggu, dilakukan pengukuran volume udem dan jika terjadi penurunan volume udem maka dilakukan pengulangan induksi. Setelah itu diberikan suspensi ekstrak (uji), suspensi triamsinolon (kontrol positif) dan Na. CMC 0,5% (kontrol negatif) secara peroral sebanyak 2 ml/200 g bb pada masing-masing kelompok hingga hari ke 28. Dilakukan pengukuran perubahan berat badan dan volume udem menggunakan plestimometer pada setiap interval 2 hari setelah diberikan perlakuan dengan sediaan uji. Pada hari ke-28 diambil jaringan sendi dan dilakukan uji histopatologi. (Bendele, 2001)

Pada uji anti-inflamasi, Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar jantan yang sehat dengan bobot 150 – 250 gram terdiri atas 48 ekor tikus yang dibagi dalam 8 kelompok, yaitu kelompok I diberi larutan Na.CMC,

kelompok II diberikan Na.Diklofenak 10 mg/kgbb, kelompok III kelompok normal (kontrol tanpa perlakuan), kelompok IV dan V diberikan ekstrak dosis masing-masing 100 mg/kg bb dan 200 mg/kg bb, kelompok VI-VII masing-masing diberi fraksi II, IV dan V dosis masing-masing 100 mg/kg bb. Sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimatisasi selama seminggu lalu dipuaskan makan selama 7 jam tapi tetap diberi air minum. Tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya kemudian diukur volume udem awal. Setelah 1 jam perlakuan, tikus diinduksi dengan 0,1 ml karagenan 1%. Setelah itu diulangi kembali pengukuran volume udem tiap interval 1 jam hingga 6 jam menggunakan plestimometer. (Neha, et al., 2013)

Perubahan berat badan pada uji anti-arthritis setelah hewan uji dipelihara selama 18 hari, masing-masing kelompok perlakuan mendapatkan data perubahan berat badan yang bervariasi. T-0 adalah hari pembengkakan (udem) kaki tikus tertinggi setelah diinduksi CFA, pembengkakan pada kaki tikus tersebut merupakan salah satu gejala dari arthritis. T-1 adalah hari pertama tikus diberi sediaan uji. Berdasar Gambar 2 di atas, diketahui bahwa berat badan tikus rata-rata untuk kelompok kontrol positif dan ekstrak anting-anting dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb pada T-1 mengalami peningkatan berat badan sedangkan kontrol negatif dan ekstrak anting-anting dosis 200 mg/kg bb mengalami penurunan berat badan, namun pada hari berikutnya mengalami penurunan dan perubahan berat badan yang tidak konsisten. Hingga pada T-9 (hari ke-18), data berat badan tikus uji untuk kelompok kontrol negatif mengalami penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) sedangkan kontrol positif dan kelompok ekstrak mengalami

peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) dibanding dengan T-0. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa tikus yang dikondisikan artritis akan mengalami penurunan berat badan yang disebabkan oleh penurunan absorpsi glukosa dan leusin pada intestinal tikus (Bansod, *et al.*, 2011). Hal ini berhubungan dengan peningkatan produksi sitokin seperti TNF- α , IL-6, IL-1. Penggunaan obat anti-artritis dapat memperbaiki kondisi artritis tikus serta meningkatkan berat badan tikus, karena penggunaan obat anti-inflamasi dan formulasi polih herbal dapat memperbaiki kapasitas absorpsi intestinal menjadi normal (Khrisna, *et al.*, 2011). Perubahan berat badan dapat juga dipengaruhi oleh adanya perbedaan kondisi tikus, pemberian ekstrak uji, serta perubahan volume udem pada kaki tikus.

Pada kelompok kontrol negatif, terjadi penurunan volume udem namun penurunannya tidak signifikan, karena hanya diberikan suspensi Na. CMC yang tidak memberikan efek farmakologis. Efek artritis yang diinduksi CFA dengan gejala udem dan eritema mulai terjadi pada hari pertama setelah induksi hingga hari ke-15. Setelah hari ke-15 mulai terjadi peningkatan gejala artritis yaitu erosi sendi yang ditandai dengan mengecilnya *joint space* (Simoed, *et al.*, 2005). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana gejala artritis dan pembengkakan tetap terjadi hingga hari ke 27 dan pada hari ke-27 dibedah dan diamati profil histopatologi yang memperlihatkan lebar *joint space* yang kecil.

Pada kelompok kontrol positif, triamcinolon dapat menurunkan volume udem dan mengurangi eritema pada T-2 hingga T-3. Hal ini terjadi karena triamcinolon mampu menghambat migrasi leukosit polimorfonuklear dan

fibroblast serta menurunkan permeabilitas pembuluh darah kapiler sehingga dapat mencegah terjadinya radang. Selain itu triamsinolon juga mampu menekan aktivitas antibodi (imunosupresan) dengan mengurangi volume dan aktivitas sistem limfatik sehingga antibodi tidak menyerang kartilago sendi (Dipiro., *et al.*, 2008).

Pada kelompok EEAA, penurunan volume udem tergantung dosis yaitu dosis 200 mg/kg bb>100 mg/kg bb>50 mg/kgbb. Senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penurunan volume udem adalah alkaloid, flavanoid, steroid dan terpenoid (Krishna, *et al.*, 2011). Senyawa steroid memiliki struktur yang mirip dengan triamsinolon sehingga kemungkinan memiliki mekanisme kerja yang sama. Kecepatan penurunan volume udem antara kelompok EEAA dan kontrol positif sama yaitu volume udem mulai turun pada T-2 namun besarnya penurunan tidak sama. Kontrol positif menurunkan volume udem yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok EEAA. Hal ini karena triamsinolon merupakan senyawa murni yang telah terbukti efektivitasnya sedangkan EEAA masih berupa ekstrak dengan banyak campuran senyawa kimia di dalamnya.

Urutan luas rata-rata *joint space* pada penelitian ini menunjukkan urutan terluas hingga tersempit yaitu dari EEAA 200 mg/kg bb, kontrol positif, EEAA 100 mg/kg bb, 50 mg/kg bb dan kontrol negatif. Hasil analisis statistik untuk perbandingan lebar *joint space* pada tiap kelompok uji menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif, EEAA 50 mg/kg bb, 100 mg/kg bb dan 200 mg/kg bb berbeda signifikan ($p<0,05$) dengan kontrol negatif. Kelompok kontrol positif tidak berbeda signifikan dengan kelompok ekstrak EEAA 200 mg/kg bb.

Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata *joint space* dan profil histopatologi sendi kaki tikus, dapat terlihat sangat jelas bahwa kelompok kontrol positif, dan kelompok ekstrak semua dosis mampu memberikan profil histopatologi yang lebih baik dibandingkan kontrol negatif. Kontrol negatif mempunyai *joint space* yang sempit akibat adanya infiltrasi sel limfosit dan proliferasi makrofag sinovial (Krishna, *et al.*, 2011).

Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi ekstrak etanol anting-anting untuk menyederhanakan jumlah senyawa dalam sampel uji sehingga diketahui senyawa yang bertanggung jawab pada aktivitas anti-inflamasi dalam fraksi teraktif. Fraksinasi dilakukan menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase gerak campuran eluen n-heksan dan etil asetat dengan beberapa variasi perbandingan. Fase diam menggunakan serbuk silika. Pada proses fraksinasi didapatkan 30 fraksi yang dikelompokkan menjadi 5 fraksi sesuai dengan kesamaan noda yang dihasilkan pada proses KLT. Jumlah ekstrak etanol herba anting-anting yang difraksinasi sebanyak 10 g. Jumlah rendamen pada gabungan fraksi terbesar terdapat pada gabungan ke-2 dan yang terkecil pada fraksi ke-3.

Gabungan fraksi I-V diidentifikasi kandungan kimia secara KLT menggunakan eluen n-hexan:etil asetat (8:2) dan didapatkan hasil bahwa semua fraksi mengandung steroid dengan penampak noda Lieberman-Bouchard. Fraksi II, III dan IV mengandung polifenol dengan penampak bercak FeCl_3 . Alkaloid dengan penampak bercak dragendorff dan flavonoid dengan penampak bercak citroborat memberikan hasil negatif pada semua fraksi.

Pada uji antiinflamasi, berdasarkan hasil pengukuran volume udem, diperoleh urutan rata-rata ukuran volume udem dari yang terkecil hingga yang terbesar berdasarkan nilai AUC yaitu: kelompok kontrol normal, kontrol positif (Natrium Diklofenak 10 mg/kg bb), fraksi IV, II, EEAA 200 mg/kg bb, fraksi V, EEAA 100 mg/kg bb dan kontrol negatif.

Kontrol normal tidak mengalami perubahan volume udem karena tidak mendapat perlakuan apapun, hanya dipuaskan namun tetap diberikan air. Kontrol negatif mengalami peningkatan secara konsisten dari jam ke-1 hingga jam ke-6. Peningkatan ini menunjukkan bahwa karagenan mampu memberikan efek inflamasi pada tikus. Karagenan menginduksi inflamasi melalui 3 fase yaitu memicu degradasi sel mast yang melepaskan histamin dan serotonin yang menyebabkan terjadinya pembengkakan, kemudian pelepasan bradikinin yang ditandai dengan nyeri dan terakhir pelepasan eikosanoid (Mitul, *et al.*, 2012).

Kontrol positif dapat menurunkan volume udem mulai pada jam ke 3 karena Na. Diklofenak bekerja pada fase ke-3 inflamasi yang diperantarai oleh enzim COX. Inflamasi fase ke-3 mulai terjadi pada jam ke 3-4 setelah induksi agen penginflamasi sehingga pada jam-jam tersebut senyawa uji menghambat aktivitas enzim COX dan tahapan inflamasi yang diperantai enzim COX dapat dihambat (Birdar, *et al.*, 2010).

Kelompok EEAA mulai dapat menurunkan volume udem pada jam ke 4 dimana lebih lambat daripada kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan karena kontrol positif adalah senyawa murni sehingga onset kerja lebih cepat dibandingkan EEAA yang masih mengandung banyak senyawa kimia.

Penurunan volume udem oleh FII, FIV dan FV dapat dilihat pada Gambar 9. Fraksi yang paling baik dalam menurunkan volume udem berturut-turut adalah fraksi II > Fraksi IV > Fraksi V. Kemampuan menghambat inflamasi diperantarai oleh senyawa terpenoid dan steroid (Hoscheid, et al., 2013). Kemungkinan senyawa terpenoid dan steroid paling banyak berada pada fraksi II sehingga kemampuannya dalam menurunkan volume udem lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi yang lain. Fraksi I dan Fraksi III tidak dilakukan uji antiinflamasi karena jumlah rendamen yang tidak mencukupi.

Fraksi II memiliki aktivitas anti-inflamasi tertinggi dianalisis kandungan kimia menggunakan LC/MS ESI. Hasil LC/MS menunjukkan bahwa fraksi II memiliki 5 senyawa yang terpisah pada retention time (Rt) 2,48; 3,99; 4,61; 5,39 dan 6,75 menit. Fase gerak yang digunakan untuk LC adalah metanol 100% dan fase gerak adalah C18. Kombinasi kedua fase tersebut akan menyebabkan senyawa yang lebih dahulu keluar dari kolom kromatografi adalah senyawa non polar.

Profil LC mirip dengan profil KLT yaitu terdapat 4 noda. Hal ini terjadi karena pada profil LC, noda pada Rt 6,75 mempunyai persen intensitas yang rendah sehingga sulit untuk muncul pada saat diKLT. Dari profil KLT tersebut diduga bahwa kelima noda KLT merupakan senyawa yang berasal dari golongan steroid. Senyawa steroid yang terkandung dalam tanaman anting-anting yaitu stigmasterol dan β -sitosterol. Puncak yang muncul pada T_{2,5} adalah senyawa α -andortan (C₁₇H₂₈) dengan BM 260 karena pada profil MS, muncul puncak pada m/z 305 (M+CH₃CH₂CH₂-H)⁺, 307 (M+CH₃CH₂CH₂+H)⁺, 321 (M+Na+K-H)⁺, dan 322

$(M+Na+K)^+$. Puncak yang muncul pada T4,0 adalah senyawa stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$) dengan BM 312 karena pada profil MS, muncul puncak pada m/z 413 $(M+H)^+$, 445 $(M+CH_3OH)^+$. Puncak yang muncul pada T4,61 adalah senyawa sikloeukalenon ($C_{30}H_{48}O$) dengan BM 424,70 karena pada profil MS muncul puncak pada m/z 441 $(M+NH_3)^+$, 442 $(M+NH_3+H)^+$ dan 485 $(M+Na+K-H)^+$. Puncak yang muncul pada T5,4 adalah senyawa Stigmasterol asetat ($C_{31}H_{54}O_3$) dengan BM 472 karena pada profil MS muncul puncak pada m/z 473 $(M+H)^+$ dan 493 $(M+Na-2H)^+$. Puncak yang muncul pada T6,75 adalah senyawa citrifolinosida ($C_{28}H_{25}O_{15}$) dengan BM 564,49 karena pada profil MS muncul puncak pada m/z 602 $(M+K-H)^+$ dan 626,15 $(M+Na+K)^+$.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, D. R. (2011). *Uji Efek Anti Inflamasi Kombinasi Ekstrak Air Tanaman Akar Kucing (Acalypha indica Linn.) dan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale Rosc.) Terhadap Udem TelapakKaki Tikus yang Diinduksi Karaginan*. Skripsi: Universitas Indonesia.
- Aspan, R., Sherley, Dwiymoko, B., Sianipar, A., Mardiaty, Usia, T., et al. (2010). *acuan Sediaan Herbal, Volume Kelima, Edisi Pertama*. Jakarta: BPOM RI.
- Azrianingsih, R. (2009). *Keterangan Identifikasi*. Malang: Laboratorium Taksonomi dan Struktur Tumbuhan, Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang.
- Bansod, M. S., Kagathara, V. G., Pujari, R. R., B.Patel, V., & Ardesna, H. H. (2011). Therapeutic Effect A Poly-Herbal Preparation on Adjuvant Induced Arthritin in Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol.3, Suppl 2* , 186-192.
- Bendele, A. (2001). Animal Models of Rheumatoid Arthritis, Prospective Article. *J Musculoskel Neuron Interact, 1(4)* , 377-385.
- Biradar, S., Kangralkar, V., Mandavkar, Y., Thakur, M., & Chougule, N. (2010). Anti-Inflmmatory, Anti-Arthritic, Analgesic and Anticonvulsant Activity of Cyperus Essential Oils. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol. 2, Issue 4* , 112-115.
- Corwin, E. J. (2008). *Handbook of Pathophysiology 3th Edition*. Philadelphia: Lippincort Williams & Wilkins.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., M.Matzke, G., Wells, B. G., & Posey, L. M. (2008). *Pharmacoterapy A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. United States of America: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Eden, W. v., Holoshitz, J., Nevo, Z., Frenkel, A., Klajman, A., & Cohen, I. R. (1985). Arthritis induced by a T-lymphocyte clone that responds to Mycobacterium tuberculosis and to cartilage proteoglycans. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA, Immunology, Vol. 82* , 5117-5120.

- Erlina, R., A. Indah, & Yanwirasti. (2007). Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 12:2, 112-115.
- Gabay, O., Sanchez, C., Salvat, C., Chevy, F., Breton, M., G. Nourissat, et al. (2010). Stigmasterol : a Phytosterol with Potential Anti-Osteoarthritic Properties. *Osteoarthritis Research Society International*, 106-116.
- Goodman, & Gilman. (2008). *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. United States of America: The McGraw-Hill Companies, inc.
- Gritter, R., James, M., & Arthur, E. (1985). *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, Terjemahan oleh K. Padmawinata dan I. Soediso*. Bandung: ITB Press.
- Hayun. (2012). *Sintesis dan Bioaktivitas 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil] Benzensulfonamida dan Analognya Sebagai Inhibitor Siklooksigenase-2 (COX-2) Selektif*. Disertasi: Universitas Indonesia.
- Hollman, P. C. (2004). Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids. *Pharmaceutical Biology*, Vol. 44, Supplement, 74-83.
- Hoscheid, J., Aparecida Bersani-Amado, C., Rocha, B. A., Outuki, P. M., Silva, M. A., Froehlich, D. L., et al. (2013). Inhibitory Effect of the Hexane Fraction of the Ethanolic Extract of the Fruits of *Pterodon pubescens* Benth in Acute and Chronic Inflammation, Research Article. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-7.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., & A. Marston. (1997). *Cara Kromatografi Preparatif*. Bandung: ITB Press.
- Jayaprakasam, R., & Ravi, T. (2012). Evaluation of Anti Arthritic Activity of The Root Extract of *Acalypha indica* Linn. Using In Vitro Techniques. *International Journal of Phytopharmacy*, Vol. 2 (6), 169-173.
- Krishna, V., Chitra, V., & Reddy, J. (2011). Anti Arthritic Activity of Whole Plant *Acalypha indica* on Type II Collagen Induced Arthritis in Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 3(5), 99-102.
- Lee, S. M. (2002). *LC/MS Applications in Drug Development*. New York: John Wiley & Sons, Inc.

- Masih, M., Banerjee, T., Banerjee, B., & Pal, A. (2011). Antidiabetic Activity of *Acalypha indica* Linn. on Normal and Alloxan Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 3 , 51-54.
- Mitul, P., Murugananthan, & Shivalinge, K. G. (2012). In Vivo Animal Models in Preclinical Evaluation of Anti-inflammatory Activity - a Review. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, Vol/ 1, Issue 2 , 1-5.
- Mohan, S. C., Dinakar, S., Anand, T., Elayaraja, R., & SathyaPriya, B. (2012). Phytochemical, GC-MS analysis and Antibacterial activity of a Medicinal Plant *Acalypha indica* L. *International Journal of PharmTech Researc*, Vo. 4, No. 3 , 1050-1054.
- Muchid, A., Umar, F., Chusun, Purnama, N. R., Masrul, Lestari, S. B., et al. (2006). *Pharmaceutical Care Untuk Pasien Penyakit Arthritis Rematik*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Muzammil, M., M.Manikandan, Jafar, A., Sakthivel, P., S.Geetha, & Malarkodi, R. (2014). Anti-inflammatory Studies on *Acalypha indica* L. Leaves by Membrane Stabilization. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, Vol 5 (2) , 195-197.
- Neha, M. P., Suganthi, V., & Gowri, S. (2013). Evluation of Anti-inflammatory Activity in Ethanolic Extract of *Coriandrum sativum* L. using Carrageenan Induced Paw Oedema in Albino Rats. *Scholars Researc Library Der Pharma Chemica*, 5 (2) , 139-143.
- Patwardhan, S. K., S.Bodas, K., & Gundewar, S. S. (2010). Coping With Arthritis Using Safer Herbal Options. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 2 , 1-11.
- Pelissier, T., & Alvarez, A. (2003). Effect of Long-Term Ketamine Administration on Vocalization toPaw Pressure and on Spinal Wind-up Activity in Monoarthritic Rats. *Internationale Journal Neuroscience*, Vol. 113 , 1305-1312.
- Pitt, J. (2009). Principles and aplications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *The Clinical Biochemist Review*, 30 , 19-34.

- Rahman, M., Bachar, S. C., & Rahmatullah, M. (2010). analgesic and Antiinflammatory Activity of Methanolic Extract of *Acalypha indica* Linn. *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol. 23, No. 3, 256-258.
- Reddy, T. P., Rao, R. S., Swamy, A., Reddanna, P., Reddy, G. P., & Reddy, D. R. (2012). Exploring the Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Compounds from The Leaves of *Acalypha indica* L. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Vol. 4, Issue 2, 01-07.
- Saha, R., & Ahmed, A. (2011). Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Acalypha indica* Linn. : A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol 2, Issue 8, 1900-1904.
- Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., & Sharma, P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, Review Article. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1, Issue 1, 25-41.
- Sanseera, D., W.Niwatananun, Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., Baramée, A., Trisuwan, K., et al. (2012). Antioxidant and anticancer activities from aerial parts of *Acalypha indica* Linn. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 157-168.
- Sastrohamidjojo, H. (1991). *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Simoes, S.I., T.C.Delgado, R.M.Lopes, Jesus, S., Ferreira, A., J.A.Morais, et al. (2005). Developments in the rat adjuvant arthritis model and its use in therapeutic evaluation of novel non-invasive treatment by SOD in Transfersomes. *Journal of controlled release*, 103, 419-434.
- Sukandar, E. Y., Andrajati, R., Sigit, J. I., Adnyana, I. K., Setiadi, A. A., & Kusnandar. (2008). *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2010). *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi Keenam*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo Kelompok Kompas-Gramedia.
- Tjitrosoepomo, G. (1991). *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Vogel, H. Gerhard; Wolfgang H. Vogel; Bernward A. Scholkens; Jurgen Sandow; Gunter Muller; Wolfgang F. Vogel. (2002). *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays Second Edition*. New York: Springer.

Yuri Kazakevich; Rosario LoBrutto. (2007). *HPLC for Pharmaceutical Scientists*.
Canada: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Tanaman dan Serbuk Herba Anting-Anting

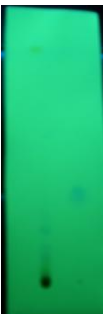


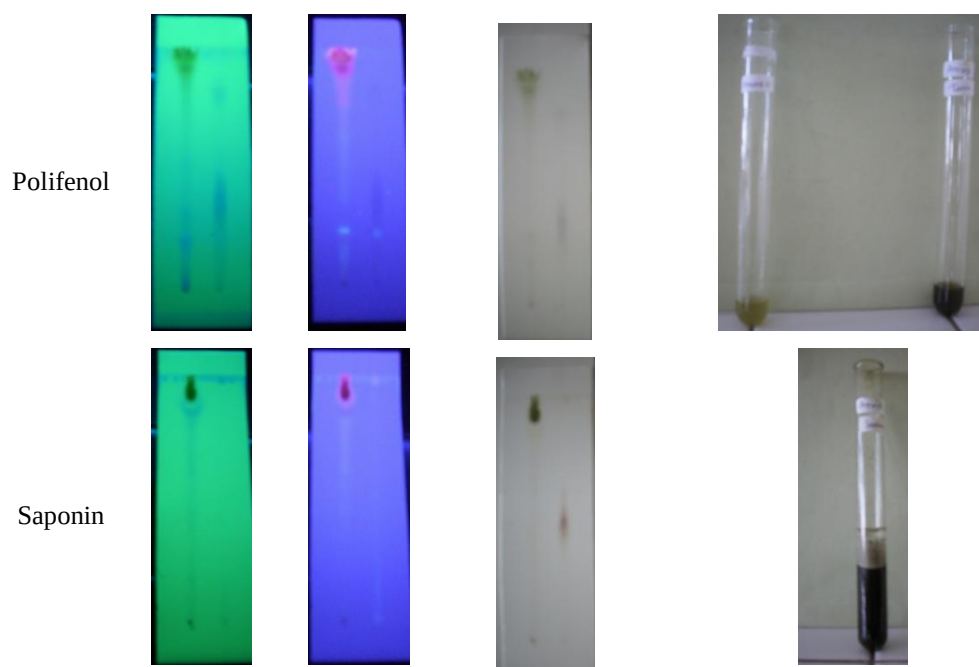
Herba Anting-Anting



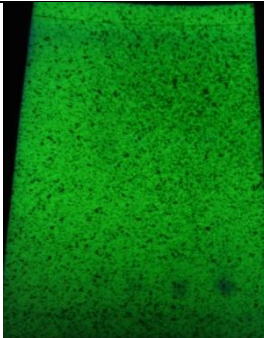
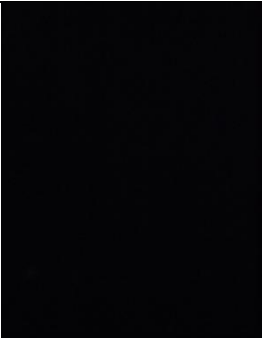
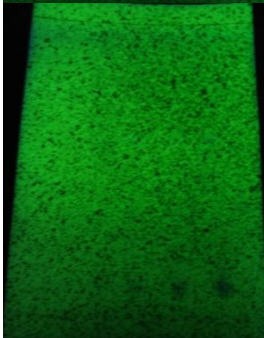
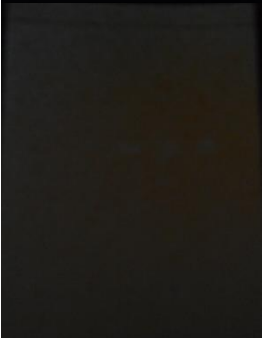
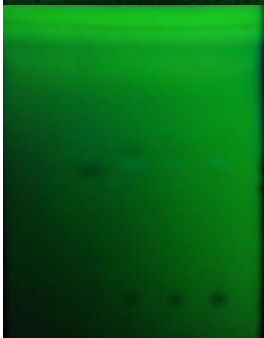
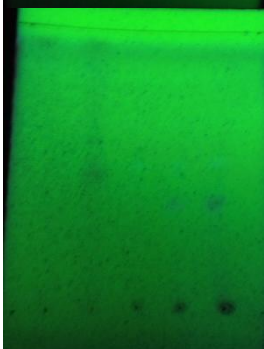
Serbuk Anting-Anting

Lampiran 2. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Herba Anting-Anting

Senyawa	Sebelum disemprot		Setelah disemprot Cahaya tampak	Uji Tabung
	UV 254	UV 366		
Alkaloid				
Flavonoid				
Steroid				
Triterpen				



Lampiran 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Ekstrak Etanol Herba Anting-Anting

Senyawa	Sebelum disemprot		Setelah disemprot Cahaya tampak
	UV 254	UV 366	
Alkaloid			
Polifenol			
Flavonoid			
Steroid			

Lampiran 4. Hewan Uji dan Perlakuan Hewan Uji



Hewan Uji



Induksi CFA



Udem Kaki Tikus



Pemberian Senyawa Uji

Lampiran 5. Pengujian Histopatologi



Dekalsifikasi Menggunakan Von Ebner's



Hasil Dekalsifikasi



Clearing menggunakan Alkohol Toluena



Tahap Dehidrasi



Slide Sendi

Lampiran 6. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Simplisia Kering Herba Anting-Anting

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman anting-anting dengan menggunakan *moisture balance*.

No	Berat awal (g)	Sisa (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,86	7,0
2	2,00	1,87	6,5
3	2,00	1,87	6,5

$$\begin{aligned}
 \text{Susut Pengeringan (\%)} &= \frac{\text{Berat Awal} - \text{Berat Sisa}}{\text{Berat Awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{2 \text{ g} - 1,86 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 7\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan rata-rata susut pengeringan serbuk tanaman anting-anting adalah:

$$\frac{7,0\% + 6,5\% + 6,5\%}{3} = 6,6\%$$

Lampiran 7. Perhitungan Persen Rendamen Ekstrak terhadap Berat Simplisia Kering

Tanaman	Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (% b/b)
Tanaman anting-anting	1500	62,2649	4,151

Perhitungan Rendamen

$$\begin{aligned}
 \text{Rendamen (\% b/b)} &= \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Simplisia Kering (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{62,2649 \text{ g}}{1500 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 4,151 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan dosis

1. Induksi FAC

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

2. Perhitungan volume pemberian

Perhitungan volume pemberian larutan stok didasarkan pada berat badan tikus. Pada penelitian ini, jalur pemberian sediaan uji yang dilakukan adalah peroral, dengan volume maksimum larutan yang dapat diberikan pada tikus sebesar 5,0 ml (Harmita & Radji 2005). Sehingga setiap pembuatan larutan stok di sini, digunakan volume larutan 2 ml. Jika tikus dengan berat badan 180 mg maka:

$$\frac{180 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$$

3. Triamsinolon asetonid

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

Maka faktor konversi dari manusia ke tikus = 4 mg x 0,018

$$= 0,072 \text{ mg/200 g BB tikus}$$

4. Ekstrak tanaman anting-anting

Dosis ekstrak tanaman anting-anting yang ditetapkan pada tikus adalah 200 mg/kg BB, berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Krishna

et al (2011). Dosis tersebut dikonversikan ke dalam 200 g BB tikus, sehingga:

$$\text{Dosis} = 200 \text{ mg/kg BB}$$

$$= 200 \text{ mg}/1000 \text{ g BB}$$

$$= 40 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

Perhitungan larutan stok:

$$\text{Larutan stok} = \frac{40 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 2,0 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Volume Pemberian

1. Untuk Dosis 200 mg/kg bb = 40 mg/200 g bb dengan berat badan 200 g yaitu

$$\text{Volume Pemberian} = 40 \text{ mg}/40 \text{ mg} \times 2 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

2. Untuk Dosis 100 mg/kg bb = 20 mg/200 g bb dengan berat badan 200 g yaitu

$$\text{Volume Pemberian} = 20 \text{ mg}/40 \text{ mg} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$$

Jadi diambil 1 ml larutan stok ditambahkan 1 ml kontrol negatif (total 2 ml)

3. Untuk Dosis 50 mg/kg bb = 10 mg/200 g bb dengan berat badan 200 g yaitu

$$\text{Volume Pemberian} = 10 \text{ mg}/40 \text{ mg} \times 2 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

Jadi diambil 0,5 ml larutan stok ditambahkan 1,5 ml kontrol negatif (total 2 ml)

Lampiran 9. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Aktivitas Anti-Artritis

Kelompok	No Tikus	Berat (g) pada Hari Ke													
		0	1	2	5	7	9	11	13	15	17	20	22	24	27
Kontrol Negatif	1	190	175	170	200	180	195	185	180	180	175	180	185	190	175
	2	200	190	175	220	185	200	175	200	200	175	200	200	200	190
	3	200	190	180	210	180	200	185	175	175	160	175	175	200	185
	4	200	200	180	215	200	200	200	195	175	200	190	185	185	185
	5	190	175	175	190	175	185	180	175	170	175	175	175	185	175
Rata-Rata		196	186	176	207	184	196	185	185	180	177	184	184	192	184
Kontrol Positif (Zilofen® 17 mg/kg bb)	1	190	185	185	205	175	180	180	175	175	165	175	150	175	180
	2	200	200	195	220	200	200	225	225	225	225	240	225	250	225
	3	180	175	180	180	175	165	175	175	175	150	175	150	175	180
	4	210	190	180	200	180	175	190	185	200	175	200	175	200	190
	5	205	200	195	225	185	185	200	175	175	165	170	175	175	200
Rata-Rata		197	190	187	206	183	181	194	187	190	176	192	175	195	195
Ekstrak Etanol Anting- Anting 50 mg/kg bb	1	170	160	180	170	175	170	170	170	170	180	180	190	190	190
	2	190	180	180	180	200	175	180	175	170	175	200	185	225	200
	3	190	190	205	185	200	200	200	200	180	200	215	200	225	225
	4	180	170	175	175	175	175	180	175	175	170	200	175	200	200
	5	210	210	220	190	200	185	175	185	175	175	200	165	175	180
Rata-Rata		188	182	192	180	190	181	181	181	174	180	199	183	203	199
Ekstrak Etanol Anting-	1	210	190	195	200	210	200	200	200	210	200	235	225	250	230
	2	190	190	170	180	185	190	185	175	200	175	210	200	250	225
	3	210	200	165	210	220	215	225	210	210	200	225	225	225	225

Anting 100	4	200	170	170	170	175	170	175	175	170	170	185	175	200	175
mg/kg bb	5	180	175	150	180	175	175	175	175	175	175	200	185	200	200
Rata-Rata		198	185	170	188	193	190	192	187	193	184	211	202	225	211
Ekstrak	1	200	210	210	205	210	220	225	235	250	225	250	250	265	260
Etanol	2	210	210	210	190	200	185	185	175	180	175	175	180	185	190
Anting-	3	240	230	230	220	225	215	215	215	215	200	235	220	225	225
Anting 200	4	210	210	230	205	200	185	185	185	180	175	200	200	215	220
mg/kg bb	5	180	160	170	200	160	160	150	150	170	185	170	160	165	175
Rata-Rata		208	204	210	204	199	193	192	192	197	192	206	202	211	214

- Ket : - Hari ke-0 merupakan hari penginduksian artritis menggunakan CFA
- Hari ke-9 merupakan hari terakhir sebelum diberikan ekstrak uji (T0)
 - Hari ke-11 merupakan hari pertama melakukan pemberian senyawa uji pada tikus yang telah mengalami artritis

Lampiran 10. Hasil Pengukuran Volume Udem Kaki Tikus Aktivitas Anti-Artritis

Kelompok	No Tikus	Volume kaki tikus (ml) pada Hari Ke													
		0	1	2	5	7	9	11	13	15	17	20	22	24	27
Kontrol Negatif	1	0,02	0,02	0,04	0,04	0,095	0,1	0,095	0,09	0,085	0,095	0,09	0,095	0,1	0,09
	2	0,02	0,03	0,07	0,05	0,09	0,09	0,095	0,1	0,09	0,08	0,085	0,085	0,09	0,09
	3	0,015	0,03	0,05	0,05	0,09	0,095	0,09	0,095	0,095	0,085	0,09	0,085	0,085	0,1
	4	0,015	0,03	0,05	0,045	0,095	0,105	0,1	0,09	0,095	0,1	0,09	0,095	0,095	0,1
	5	0,01	0,035	0,08	0,04	0,1	0,1	0,095	0,1	0,09	0,09	0,09	0,09	0,085	0,085
Rata-Rata		0,016	0,029	0,058	0,045	0,094	0,098	0,095	0,095	0,091	0,09	0,089	0,091	0,091	0,093
Kontrol Positif (Zilofen [®] 17 mg/kg bb)	1	0,015	0,03	0,05	0,03	0,08	0,09	0,085	0,075	0,07	0,06	0,055	0,05	0,045	0,04
	2	0,02	0,03	0,04	0,015	0,095	0,105	0,1	0,08	0,07	0,06	0,055	0,05	0,04	0,035
	3	0,01	0,03	0,05	0,03	0,09	0,09	0,08	0,07	0,065	0,065	0,065	0,055	0,05	0,045
	4	0,015	0,03	0,06	0,03	0,09	0,09	0,09	0,085	0,06	0,05	0,045	0,04	0,035	0,03
	5	0,01	0,025	0,03	0,02	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08	0,075	0,07	0,065	0,06	0,055
Rata-Rata		0,014	0,029	0,046	0,025	0,089	0,093	0,089	0,08	0,069	0,062	0,058	0,052	0,046	0,041
Ekstrak Etanol Anting-Anting 50 mg/kg bb	1	0,02	0,03	0,05	0,03	0,095	0,1	0,09	0,08	0,07	0,075	0,07	0,065	0,065	0,065
	2	0,01	0,025	0,04	0,02	0,07	0,09	0,09	0,08	0,075	0,08	0,075	0,075	0,075	0,065
	3	0,01	0,015	0,03	0,02	0,05	0,095	0,09	0,085	0,08	0,075	0,075	0,065	0,06	0,06
	4	0,015	0,013	0,06	0,02	0,095	0,1	0,09	0,09	0,085	0,08	0,075	0,065	0,065	0,055
	5	0,02	0,02	0,04	0,02	0,08	0,09	0,095	0,09	0,07	0,085	0,085	0,075	0,075	0,065
Rata-Rata		0,015	0,024	0,044	0,022	0,078	0,095	0,091	0,085	0,076	0,079	0,076	0,069	0,068	0,062
Ekstrak Etanol Anting-	1	0,02	0,03	0,07	0,04	0,08	0,09	0,09	0,09	0,085	0,085	0,075	0,07	0,065	0,055
	2	0,015	0,02	0,03	0,015	0,07	0,09	0,065	0,06	0,065	0,06	0,055	0,055	0,05	0,04
	3	0,02	0,03	0,07	0,03	0,095	0,09	0,105	0,09	0,085	0,085	0,08	0,075	0,065	0,05

Anting 100	4	0,01	0,02	0,05	0,03	0,06	0,095	0,055	0,055	0,055	0,075	0,07	0,065	0,065	0,06
mg/kg bb	5	0,015	0,04	0,08	0,05	0,08	0,1	0,105	0,095	0,095	0,095	0,085	0,075	0,07	0,05
Rata-Rata		0,016	0,028	0,06	0,033	0,077	0,093	0,084	0,078	0,077	0,08	0,073	0,068	0,063	0,051
Ekstrak	1	0,02	0,04	0,07	0,04	0,1	0,11	0,1	0,09	0,1	0,095	0,085	0,075	0,065	0,05
Etanol	2	0,015	0,04	0,06	0,05	0,08	0,105	0,08	0,08	0,08	0,075	0,065	0,065	0,06	0,05
Anting-	3	0,015	0,03	0,08	0,04	0,08	0,1	0,09	0,085	0,075	0,07	0,06	0,05	0,04	0,04
Anting 200	4	0,01	0,025	0,04	0,05	0,09	0,1	0,1	0,08	0,085	0,08	0,075	0,075	0,065	0,05
mg/kg bb	5	0,02	0,02	0,06	0,03	0,08	0,095	0,08	0,075	0,07	0,07	0,06	0,055	0,05	0,045
Rata-Rata		0,016	0,031	0,062	0,042	0,086	0,102	0,09	0,082	0,082	0,078	0,069	0,064	0,056	0,047

Lampiran 11. Perhitungan Persen Penurunan Udem Aktivitas Anti-Artritis

Kelompok	No Tikus	Persen Penurunan Volume Udem (%) Hari ke									AUC
		0	2	4	6	8	11	13	15	18	
Kontrol Negatif	1	0	6,25	12,5	18,75	6,25	12,5	6,25	0	12,5	153,13
	2	0	0	0	0	14,29	7,14	7,14	0	0	67,86
	3	0	6,25	0	0	12,5	6,25	7,5	12,5	0	105,63
	4	0	5,56	16,67	11,11	5,56	16,67	11,11	11,11	5,56	180,56
	5	0	5,56	0	11,11	11,11	11,11	11,11	16,67	16,67	177,78
Rata-Rata		0	3,66	3,66	6,54	9,76	10,98	8,78	6,10	6,10	131,59
Kontrol Positif (Zilofen® 17 mg/kg bb)	1	0	6,67	20	26,67	40	46,67	53,33	60	66,67	680
	2	0	5,88	29,41	41,18	52,94	58,82	64,71	76,47	82,35	876,47
	3	0	12,5	25	31,25	31,25	31,25	43,75	50	56,25	590,63
	4	0	0	6,67	40	53,33	60	66,67	73,33	80	813,33
	5	0	0	0	12,5	18,75	25	31,25	37,5	43,75	356,25
Rata-Rata		0	5,06	16,46	30,38	39,24	44,30	51,90	59,49	65,82	663,92
Ekstrak Etanol Anting-Anting 50 mg/kg bb	1	0	12,5	25	37,5	31,25	37,5	43,75	43,75	43,75	584,38
	2	0	0	12,5	18,75	12,5	18,75	18,75	18,75	31,25	271,88
	3	0	5,88	11,76	17,65	23,53	23,53	35,29	41,17	41,18	423,53
	4	0	11,76	11,76	17,65	23,53	29,41	41,18	41,17	52,94	479,41
	5	0	0	0	28,57	7,14	7,14	21,43	21,43	35,71	242,86
Rata-Rata		0	5	12,5	23,75	20	23,75	32,5	33,75	41,25	403,13
Ekstrak Etanol Anting-	1	0	0	0	7,14	7,14	21,43	28,57	35,71	50	307,14
	2	0	33,33	40	33,33	40	46,67	46,67	53,33	66,67	756,67
	3	0	0	0	7,14	7,14	14,29	21,43	35,71	57,14	285,71

Anting 100	4	0	47,06	47,06	47,06	23,53	29,41	35,29	35,29	41,18	635,29
mg/kg bb	5	0	0	5,88	5,88	5,88	17,65	29,41	35,29	58,82	317,65
Rata-Rata		0	11,69	19,48	20,78	16,88	25,87	32,47	38,96	54,55	455,19
Ekstrak	1	0	11,11	22,22	11,11	16,67	27,78	38,89	50	66,67	502,78
Etanol	2	0	27,78	27,78	27,78	33,33	44,44	44,44	50	61,11	666,67
Anting-	3	0	11,76	17,65	29,41	35,29	47,06	58,82	70,59	70,59	723,53
Anting 200	4	0	0	22,22	16,67	22,22	27,78	27,78	38,89	55,56	438,89
mg/kg bb	5	0	20	26,67	33,33	33,33	46,67	53,33	60	66,67	716,67
Rata-Rata		0	13,95	23,26	23,26	27,91	38,37	44,19	53,49	63,95	604,65

Perhitungan persen penurunan volume udem secara manual

$$\% = \left[\left(\frac{\Delta V_{Treated}}{\Delta V_{Untreated}} \right) \times 100 \% \right] = \left[\left(\frac{V_9 - V_t}{V_9 - V_0} \right) \right] \times 100 \%$$

Keterangan: % = persentase penurunan volume udem kaki, V_t = volume kaki tikus yang diberi perlakuan, V_9 = volume kaki tikus pada hari terakhir induksi CFA sebelum diberi perlakuan senyawa uji, V_0 = Volume udem tikus hari pertama sebelum diinduksi CFA

Kontrol Positif tikus I pada hari ke 18

$$i = \left[\left(\frac{V_9 - V_{18}}{V_9 - V_0} \right) \times 100 \% \right] = \left[\left(\frac{0,09 - 0,04}{0,09 - 0,015} \right) \right] \times 100 \% = 66,67 \%$$

$$\begin{aligned}
 \text{Perhitungan AUC} &= \left(\frac{PPVU_0 + PPVU_2}{2} \right) \times (2 - 0) + \left(\frac{PPVU_2 + PPVU_4}{2} \right) \times (4 - 2) + \left(\frac{PPVU_4 + PPVU_6}{2} \right) \times (6 - 4) + \left(\frac{PPVU_6 + PPVU_8}{2} \right) \times \\
 &\quad (8 - 6) + \left(\frac{PPVU_8 + PPVU_{11}}{2} \right) \times (11 - 8) + \left(\frac{PPVU_{11} + PPVU_{13}}{2} \right) \times (13 - 11) + \left(\frac{PPVU_{13} + PPVU_{15}}{2} \right) \times \\
 &\quad (15 - 13) + \left(\frac{PPVU_{15} + PPVU_{18}}{2} \right) \times (18 - 15)
 \end{aligned}$$

Kontrol Positif Tikus Ke-1

$$\begin{aligned}
 \text{AUC} &= \left(\frac{0+6,67}{2} \right) \times (2 - 0) + \left(\frac{6,67+20}{2} \right) \times (4 - 2) + \left(\frac{20+26,67}{2} \right) \times (6 - 4) + \left(\frac{26,67+40}{2} \right) \times (8 - 6) + \\
 &\quad \left(\frac{40+46,67}{2} \right) \times (11 - 8) + \left(\frac{46,67+53,33}{2} \right) \times (13 - 11) + \left(\frac{53,33+60}{2} \right) \times (15 - 13) + \left(\frac{60+66,67}{2} \right) \times (18 - 15) \\
 &= 680
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Gabungan Fraksi dan Rendamen Ekstrak Etanol Herba Anting-Anting

No	Fraksi	Gabungan Fraksi	Berat Fraksi (g)	Rendamen (%)
1	I	1-4	0,127	1,27
2	II	5-10	0,417	4,17
3	III	11-12	0,113	1,13
4	IV	13-15	0,186	1,86
5	V	16-30	0,389	3,89

Lampiran 13. Uji Statistik *Paired samples t-test* terhadap Berat Badan Tikus

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	K (-) T1	196.0000	5	6.51920	2.91548
	K (-) T3	184.0000	5	5.47723	2.44949
Pair 2	K (+) T1	181.0000	5	12.94218	5.78792
	K (+) T3	195.0000	5	18.70829	8.36660
Pair 3	EEAA 50 mg/kg bb T1	181.0000	5	11.93734	5.33854
	EEAA 50 mg/kg bb T3	199.0000	5	16.73320	7.48331
Pair 4	EEAA 100 mg/kg bb T1	190.0000	5	18.37117	8.21584
	EEAA 100 mg/kg bb T3	211.0000	5	23.29163	10.41633
Pair 5	EEAA 200 mg/kg bb T1	193.0000	5	24.64752	11.02270
	EEAA 200 mg/kg bb T3	214.0000	5	33.05299	14.78175

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	K (-) T1 & K (-) T3	5	.210	.735
Pair 2	K (+) T1 & K (+) T3	5	.903	.035
Pair 3	EEAA 50 mg/kg bb T1 & EEAA 50 mg/kg bb T3	5	.632	.253
Pair 4	EEAA 100 mg/kg bb T1 & EEAA 100 mg/kg bb T3	5	.833	.080
Pair 5	EEAA 200 mg/kg bb T1 & EEAA 200 mg/kg bb T3	5	.895	.040

Paired Samples Test

		Paired Differences							
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	K (-) T1 - K (-) T3	12.00000	7.58288	3.39116	2.58462	21.41538	3.539	4	.024
Pair 2	K (+) T1 - K (+) T3	-14.00000	8.94427	4.00000	-25.10578	-2.89422	-3.500	4	.025
Pair 3	EEAA 50 mg/kg bb T1 - EEAA 50 mg/kg bb T3	-18.00000	13.03840	5.83095	-34.18932	-1.81068	-3.087	4	.037
Pair 4	EEAA 100 mg/kg bb T1 - EEAA 100 mg/kg bb T3	-21.00000	12.94218	5.78792	-37.06984	-4.93016	-3.628	4	.022
Pair 5	EEAA 200 mg/kg bb T1 - EEAA 200 mg/kg bb T3	-21.00000	15.57241	6.96419	-40.33570	-1.66430	-3.015	4	.039

Lampiran 14. Uji Anava AUC Persen Penghambatan Volume Udem Uji Aktivitas Anti-Artritis

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		AUC
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	449.3416
	Std. Deviation	245.33716
Most Extreme Differences	Absolute	.119
	Positive	.119
	Negative	-.109
Kolmogorov-Smirnov Z		.595
Asymp. Sig. (2-tailed)		.871

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

AUC

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	5	126.5440	66.10329	29.56229	44.4659	208.6221	25.00	180.56
Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	5	663.3360	204.81087	91.59420	409.0297	917.6423	356.25	876.47
Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	5	397.5540	147.16373	65.81362	214.8261	580.2819	228.57	584.38

Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	5	449.5680	230.46934	103.06902	163.4025	735.7335	242.86	756.67
Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	5	609.7059	130.62638	58.41789	447.5118	771.9000	438.89	723.53
Total	25	449.3416	245.33716	49.06743	348.0714	550.6118	25.00	876.47

Test of Homogeneity of Variances

AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.910	4	20	.348

ANOVA

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	891953.018	4	222988.255	8.070	.000
Within Groups	552614.679	20	27630.734		
Total	1444567.697	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

AUC

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	-536.79200*	105.12989	.000	-756.0891	-317.4949
	Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	-271.01000*	105.12989	.018	-490.3071	-51.7129

	Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	-323.02400*	105.12989	.006	-542.3211	-103.7269
	Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	-483.16188*	105.12989	.000	-702.4590	-263.8648
Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	Kontrol Negatif	536.79200*	105.12989	.000	317.4949	756.0891
	Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	265.78200*	105.12989	.020	46.4849	485.0791
	Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	213.76800	105.12989	.056	-5.5291	433.0651
	Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	53.63012	105.12989	.616	-165.6670	272.9272
Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	Kontrol Negatif	271.01000*	105.12989	.018	51.7129	490.3071
	Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	-265.78200*	105.12989	.020	-485.0791	-46.4849
	Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	-52.01400	105.12989	.626	-271.3111	167.2831
	Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	-212.15188	105.12989	.057	-431.4490	7.1452
Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	Kontrol Negatif	323.02400*	105.12989	.006	103.7269	542.3211
	Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	-213.76800	105.12989	.056	-433.0651	5.5291
	Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	52.01400	105.12989	.626	-167.2831	271.3111
	Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	-160.13788	105.12989	.143	-379.4350	59.1592

Ekstrak Etanol anting-anting 200 mg/kg bb	Kontrol Negatif	483.16188*	105.12989	.000	263.8648	702.4590
	Kontrol Positif (zilofen 17 mg/kg bb)	-53.63012	105.12989	.616	-272.9272	165.6670
	Ekstrak Etanol anting-anting 50 mg/kg bb	212.15188	105.12989	.057	-7.1452	431.4490
	Ekstrak Etanol anting-anting 100 mg/kg bb	160.13788	105.12989	.143	-59.1592	379.4350

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

Lampiran 15. Uji Anava AUC Lebar Joint Space

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Lebar Joint Space
N		15
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	235.02000
	Std. Deviation	130.093100
Most Extreme Differences	Absolute	.170
	Positive	.131
	Negative	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.657
Asymp. Sig. (2-tailed)		.781

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Lebar Joint Space

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K (-)	3	54.50000	7.842831	4.528061	35.01733	73.98267	48.600	63.400
K (+)	3	368.00000	36.510273	21.079216	277.30346	458.69654	331.000	404.000
EEAA 50 mg/kg bb	3	151.26667	59.600447	34.410334	3.21095	299.32239	91.800	211.000
EEAA 100 mg/kg bb	3	232.33333	9.018500	5.206833	209.93014	254.73653	223.000	241.000
EEAA 200 mg/kg bb	3	369.00000	24.000000	13.856406	309.38069	428.61931	345.000	393.000
Total	15	235.02000	130.093100	33.589894	162.97684	307.06316	48.600	404.000

Test of Homogeneity of Variances

Lebar Joint Space

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.666	4	10	.623

ANOVA

Lebar Joint Space

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	225730.891	4	56432.723	50.350	.000
Within Groups	11208.113	10	1120.811		
Total	236939.004	14			

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

Lebar Joint Space

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K (-)	K (+)	-313.500000*	27.335098	.000	-403.46205	-223.53795
	EEAA 50 mg/kg bb	-96.766667*	27.335098	.034	-186.72872	-6.80462
	EEAA 100 mg/kg bb	-177.833333*	27.335098	.001	-267.79538	-87.87128
	EEAA 200 mg/kg bb	-314.500000*	27.335098	.000	-404.46205	-224.53795
K (+)	K (-)	313.500000*	27.335098	.000	223.53795	403.46205
	EEAA 50 mg/kg bb	216.733333*	27.335098	.000	126.77128	306.69538
	EEAA 100 mg/kg bb	135.666667*	27.335098	.004	45.70462	225.62872
	EEAA 200 mg/kg bb	-1.000000	27.335098	1.000	-90.96205	88.96205
EEAA 50 mg/kg bb	K (-)	96.766667*	27.335098	.034	6.80462	186.72872
	K (+)	-216.733333*	27.335098	.000	-306.69538	-126.77128

	EEAA 100 mg/kg bb	-81.066667	27.335098	.083	-171.02872	8.89538
	EEAA 200 mg/kg bb	-217.733333*	27.335098	.000	-307.69538	-127.77128
EEAA 100 mg/kg bb	K (-)	177.833333*	27.335098	.001	87.87128	267.79538
	K (+)	-135.666667*	27.335098	.004	-225.62872	-45.70462
	EEAA 50 mg/kg bb	81.066667	27.335098	.083	-8.89538	171.02872
	EEAA 200 mg/kg bb	-136.666667*	27.335098	.004	-226.62872	-46.70462
EEAA 200 mg/kg bb	K (-)	314.500000*	27.335098	.000	224.53795	404.46205
	K (+)	1.000000	27.335098	1.000	-88.96205	90.96205
	EEAA 50 mg/kg bb	217.733333*	27.335098	.000	127.77128	307.69538
	EEAA 100 mg/kg bb	136.666667*	27.335098	.004	46.70462	226.62872

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

Homogeneous Subsets

Lebar Joint Space

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K (-)	3	54.50000		
EEAA 50 mg/kg bb	3		151.26667	
EEAA 100 mg/kg bb	3		232.33333	
K (+)	3			368.00000
EEAA 200 mg/kg bb	3			369.00000
Sig.		1.000	.083	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 16. Hasil Pengukuran Volume Udem Uji Aktivitas Anti-Inflamasi

Kelompok	No Tikus	Bobot Badan (g)	Volume Udem (ml) Jam Ke						
			0	1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	1	180	0,02	0,035	0,035	0,04	0,04	0,04	0,05
	2	180	0,02	0,045	0,045	0,045	0,04	0,05	0,055
	3	200	0,02	0,035	0,035	0,04	0,04	0,045	0,05
	4	180	0,02	0,03	0,035	0,04	0,04	0,045	0,05
	5	180	0,025	0,04	0,045	0,05	0,05	0,05	0,055
	6	180	0,02	0,05	0,045	0,05	0,05	0,05	0,055
	Rata-Rata		0,021	0,039	0,04	0,044	0,043	0,047	0,053
Kontrol Positif	1	180	0,02	0,03	0,025	0,03	0,02	0,02	0,02
	2	200	0,025	0,03	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	3	170	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02
	4	180	0,02	0,025	0,03	0,025	0,02	0,02	0,02
	5	180	0,025	0,04	0,035	0,035	0,03	0,025	0,025
	6	180	0,025	0,03	0,03	0,025	0,025	0,025	0,025
	Rata-Rata		0,023	0,031	0,029	0,028	0,023	0,023	0,023
Kontrol Normal	1	180	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	2	180	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	3	180	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
	4	180	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	5	180	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
	6	180	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
	Rata-Rata		0,026	0,026	0,026	0,026	0,026	0,026	0,026
Ekstrak etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	1	200	0,025	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,025
	2	190	0,03	0,045	0,045	0,04	0,04	0,035	0,03
	3	180	0,025	0,035	0,035	0,04	0,035	0,03	0,025
	4	170	0,03	0,045	0,04	0,04	0,04	0,035	0,03
	5	200	0,03	0,05	0,045	0,04	0,04	0,04	0,035
	6	180	0,03	0,05	0,04	0,045	0,04	0,04	0,035
	Rata-Rata		0,028	0,044	0,041	0,041	0,039	0,035	0,03
Ekstrak etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	1	200	0,025	0,05	0,05	0,045	0,045	0,04	0,035
	2	180	0,02	0,03	0,03	0,035	0,035	0,035	0,03
	3	190	0,025	0,04	0,03	0,035	0,04	0,03	0,025
	4	210	0,03	0,04	0,04	0,045	0,04	0,03	0,03
	5	170	0,025	0,04	0,035	0,045	0,045	0,035	0,03
	6	200	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03
	Rata-Rata		0,026	0,04	0,036	0,041	0,041	0,033	0,03

Fraksi II 100 mg/kg bb	1	180	0,03	0,05	0,035	0,04	0,035	0,035	0,03
	2	200	0,03	0,045	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03
	3	180	0,02	0,03	0,035	0,035	0,04	0,03	0,02
	4	190	0,03	0,04	0,04	0,035	0,035	0,03	0,03
	5	180	0,03	0,045	0,04	0,04	0,04	0,035	0,03
	6	170	0,02	0,04	0,035	0,04	0,04	0,025	0,02
	Rata-Rata		0,027	0,042	0,038	0,038	0,038	0,031	0,027
Fraksi IV 100 mg/kg bb	1	180	0,02	0,045	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	2	190	0,035	0,035	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03
	3	200	0,02	0,03	0,035	0,04	0,03	0,035	0,035
	4	180	0,02	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04
	5	180	0,02	0,025	0,04	0,035	0,025	0,03	0,03
	6	180	0,02	0,03	0,04	0,035	0,035	0,035	0,035
	Rata-Rata		0,023	0,033	0,039	0,037	0,032	0,035	0,035
Fraksi V 100 mg/kg bb	1	180	0,03	0,04	0,035	0,04	0,04	0,04	0,035
	2	180	0,025	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04	0,04
	3	170	0,025	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,035
	4	190	0,02	0,03	0,02	0,035	0,035	0,04	0,035
	5	200	0,025	0,045	0,035	0,04	0,04	0,04	0,04
	6	180	0,025	0,05	0,035	0,045	0,04	0,04	0,035
	Rata-Rata		0,025	0,041	0,033	0,04	0,041	0,04	0,037

Lampiran 17. Hasil Perhitungan Penurunan Volume Udem Uji Aktivitas Anti-Inflamasi

Kelompok	No Tikus	Bobot Badan (g)	Volume Udem (ml) Jam Ke						AUC
			1	2	3	4	5	6	
Kontrol Positif	1	180	45,45	73,91	73,91	100	100	100	403,78
	2	200	72,72	100	100	100	100	100	486,36
	3	170	45,45	47,83	57,14	100	100	100	377,70
	4	180	72,72	47,83	78,57	100	100	100	412,76
	5	180	18,18	47,83	57,14	77,78	100	100	341,84
	6	180	72,72	73,91	100	100	100	100	460,28
Rata-Rata			54,54	65,22	75	96,3	100	100	413,79
Kontrol Normal	1	180	100	100	100	100	100	100	500
	2	180	100	100	100	100	100	100	500
	3	180	100	100	100	100	100	100	500
	4	180	100	100	100	100	100	100	500
	5	180	100	100	100	100	100	100	500
	6	180	100	100	100	100	100	100	500
Rata-Rata									
Ekstrak etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	1	200	18,18	21,74	35,71	33,33	77,78	100	227,66
	2	190	18,18	21,74	57,14	55,55	77,78	100	271,31
	3	180	45,45	47,83	35,71	55,55	77,78	100	289,60
	4	170	18,18	47,83	57,14	55,55	77,78	100	297,39
	5	200	0	21,74	57,14	55,55	55,55	84,21	232,10
	6	180	0	47,83	35,71	55,55	55,55	84,21	236,76
Rata-Rata			13,64	34,78	46,43	51,85	70,37	94,74	257,62
Ekstrak etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	1	200	0	0	14,29	11,11	33,33	68,42	92,94
	2	180	45,45	47,83	35,71	33,33	33,33	68,42	207,14
	3	190	18,18	73,91	57,14	33,33	77,78	100	301,26
	4	210	45,45	47,83	35,71	55,56	100	100	311,82
	5	170	18,18	47,83	14,29	11,11	55,56	84,21	179,97
	6	200	45,45	100	57,14	55,56	100	100	385,43
Rata-Rata			22,73	47,83	35,71	33,33	66,67	86,84	238,32
Fraksi II 100 mg/kg bb	1	180	0	73,91	57,14	77,77	77,77	100	336,61
	2	200	18,18	47,83	57,14	55,56	100	100	319,62
	3	180	45,45	21,74	35,71	11,11	55,56	100	198,85
	4	190	45,45	47,83	78,57	77,77	100	100	376,90
	5	180	18,18	47,83	57,14	55,56	77,77	100	297,39
	6	170	0	21,74	14,29	11,11	77,77	100	174,91
Rata-Rata			18,18	43,48	50	48,15	81,48	100	282,20

Fraksi IV 100 mg/kg bb	1	180	0	0	14,29	11,11	11,11	36,84	54,93
	2	190	100	73,91	100	100	100	100	434,19
	3	200	45,45	21,74	14,29	55,56	33,33	52,63	173,96
	4	180	45,45	0	14,29	55,56	11,11	36,84	122,10
	5	180	72,73	0	35,71	77,78	55,56	68,42	239,62
	6	180	45,45	0	35,71	33,33	33,33	52,63	151,42
	Rata-Rata		45,45	13,04	35,71	55,56	40,74	57,90	190,11
Fraksi V 100 mg/kg bb	1	180	45,45	73,91	57,14	55,56	55,56	84,21	307,00
	2	180	18,18	73,91	35,71	0	33,33	52,63	178,37
	3	170	18,18	21,74	35,71	33,33	33,33	68,42	167,42
	4	190	45,45	100	35,71	33,33	11,11	52,63	229,20
	5	200	0	47,83	35,71	33,33	33,33	52,63	176,52
	6	180	0	47,83	14,29	33,33	33,33	68,42	162,99
	Rata-Rata		13,64	60,87	35,71	29,63	33,33	63,16	197,94

Lampiran 18. Hasil Perhitungan Anava AUC Penurunan Volume Udem Uji Aktivitas Anti-Inflamasi

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		AUC
N		50
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	263.1314
	Std. Deviation	156.95410
Most Extreme Differences	Absolute	.083
	Positive	.080
	Negative	-.083
Kolmogorov-Smirnov Z		.584
Asymp. Sig. (2-tailed)		.885

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

AUC

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	6	413.7864	52.93210	21.60944	358.2375	469.3352	341.84	486.36
Kontrol Normal	6	500.0000	.00000	.00000	500.0000	500.0000	500.00	500.00
Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	6	259.1351	30.86334	12.59990	226.7460	291.5242	227.66	297.39

Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	6	246.4278	105.94410	43.25150	135.2463	357.6093	92.94	385.43
Gabungan Fraksi II	6	283.7139	80.42585	32.83372	199.3121	368.1157	174.91	376.90
Gabungan Fraksi III	2	213.4893	15.15231	10.71430	77.3512	349.6274	202.78	224.20
Gabungan Fraksi IV	6	214.9521	173.93225	71.00754	32.4214	397.4828	54.93	547.68
Gabungan Fraksi V	6	203.5836	55.99091	22.85819	144.8248	262.3425	162.99	307.00
Total	50	263.1314	156.95410	22.19666	218.5256	307.7373	.00	547.68

Test of Homogeneity of Variances

AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.069	8	41	.451

ANOVA

AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	932694.198	8	116586.775	17.420	.000
Within Groups	274400.757	41	6692.701		
Total	1207094.955	49			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

AUC

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-413.78637*	47.23241	.000	-568.3626	-259.2101

	Kontrol Normal	-500.00000*	47.23241	.000	-654.5763	-345.4237
	Ekstrak Etanol	-259.13510*	47.23241	.000	-413.7114	-104.5588
	Anting-Anting 100 mg/kg bb					
	Ekstrak Etanol	-246.42780*	47.23241	.000	-401.0041	-91.8515
	Anting-Anting 200 mg/kg bb					
	Gabungan Fraksi II	-283.71390*	47.23241	.000	-438.2902	-129.1376
	Gabungan Fraksi III	-213.48930	66.79671	.060	-432.0931	5.1145
	Gabungan Fraksi IV	-214.95213*	47.23241	.001	-369.5284	-60.3759
	Gabungan Fraksi V	-203.58362*	47.23241	.003	-358.1599	-49.0074
Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	Kontrol Negatif	413.78637*	47.23241	.000	259.2101	568.3626
	Kontrol Normal	-86.21363	47.23241	.666	-240.7899	68.3626
	Ekstrak Etanol	154.65127*	47.23241	.050	.0750	309.2275
	Anting-Anting 100 mg/kg bb					
	Ekstrak Etanol	167.35857*	47.23241	.025	12.7823	321.9348
	Anting-Anting 200 mg/kg bb					
	Gabungan Fraksi II	130.07247	47.23241	.161	-24.5038	284.6487
	Gabungan Fraksi III	200.29707	66.79671	.095	-18.3068	418.9009
	Gabungan Fraksi IV	198.83424*	47.23241	.004	44.2580	353.4105
	Gabungan Fraksi V	210.20275*	47.23241	.002	55.6265	364.7790
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	500.00000*	47.23241	.000	345.4237	654.5763
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	86.21363	47.23241	.666	-68.3626	240.7899

	Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	240.86490*	47.23241	.000	86.2886	395.4412
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	253.57220*	47.23241	.000	98.9959	408.1485
	Gabungan Fraksi II	216.28610*	47.23241	.001	61.7098	370.8624
	Gabungan Fraksi III	286.51070*	66.79671	.003	67.9069	505.1145
	Gabungan Fraksi IV	285.04787*	47.23241	.000	130.4716	439.6241
	Gabungan Fraksi V	296.41638*	47.23241	.000	141.8401	450.9926
Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	Kontrol Negatif	259.13510*	47.23241	.000	104.5588	413.7114
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-154.65127*	47.23241	.050	-309.2275	-.0750
	Kontrol Normal	-240.86490*	47.23241	.000	-395.4412	-86.2886
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	12.70730	47.23241	1.000	-141.8690	167.2836
	Gabungan Fraksi II	-24.57880	47.23241	1.000	-179.1551	129.9975
	Gabungan Fraksi III	45.64580	66.79671	.999	-172.9580	264.2496
	Gabungan Fraksi IV	44.18297	47.23241	.989	-110.3933	198.7592
	Gabungan Fraksi V	55.55148	47.23241	.957	-99.0248	210.1277
Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	Kontrol Negatif	246.42780*	47.23241	.000	91.8515	401.0041
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-167.35857*	47.23241	.025	-321.9348	-12.7823
	Kontrol Normal	-253.57220*	47.23241	.000	-408.1485	-98.9959

	Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	-12.70730	47.23241	1.000	-167.2836	141.8690
	Gabungan Fraksi II	-37.28610	47.23241	.997	-191.8624	117.2902
	Gabungan Fraksi III	32.93850	66.79671	1.000	-185.6654	251.5423
	Gabungan Fraksi IV	31.47567	47.23241	.999	-123.1006	186.0519
	Gabungan Fraksi V	42.84418	47.23241	.991	-111.7321	197.4204
Gabungan Fraksi II	Kontrol Negatif	283.71390*	47.23241	.000	129.1376	438.2902
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-130.07247	47.23241	.161	-284.6487	24.5038
	Kontrol Normal	-216.28610*	47.23241	.001	-370.8624	-61.7098
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	24.57880	47.23241	1.000	-129.9975	179.1551
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	37.28610	47.23241	.997	-117.2902	191.8624
	Gabungan Fraksi III	70.22460	66.79671	.978	-148.3792	288.8284
	Gabungan Fraksi IV	68.76177	47.23241	.869	-85.8145	223.3380
	Gabungan Fraksi V	80.13028	47.23241	.745	-74.4460	234.7065
Gabungan Fraksi III	Kontrol Negatif	213.48930	66.79671	.060	-5.1145	432.0931
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-200.29707	66.79671	.095	-418.9009	18.3068
	Kontrol Normal	-286.51070*	66.79671	.003	-505.1145	-67.9069

	Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	-45.64580	66.79671	.999	-264.2496	172.9580
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	-32.93850	66.79671	1.000	-251.5423	185.6654
	Gabungan Fraksi II	-70.22460	66.79671	.978	-288.8284	148.3792
	Gabungan Fraksi IV	-1.46283	66.79671	1.000	-220.0667	217.1410
	Gabungan Fraksi V	9.90568	66.79671	1.000	-208.6982	228.5095
Gabungan Fraksi IV	Kontrol Negatif	214.95213*	47.23241	.001	60.3759	369.5284
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-198.83424*	47.23241	.004	-353.4105	-44.2580
	Kontrol Normal	-285.04787*	47.23241	.000	-439.6241	-130.4716
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	-44.18297	47.23241	.989	-198.7592	110.3933
	Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	-31.47567	47.23241	.999	-186.0519	123.1006
	Gabungan Fraksi II	-68.76177	47.23241	.869	-223.3380	85.8145
	Gabungan Fraksi III	1.46283	66.79671	1.000	-217.1410	220.0667
	Gabungan Fraksi V	11.36851	47.23241	1.000	-143.2077	165.9448
Gabungan Fraksi V	Kontrol Negatif	203.58362*	47.23241	.003	49.0074	358.1599
	Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	-210.20275*	47.23241	.002	-364.7790	-55.6265
	Kontrol Normal	-296.41638*	47.23241	.000	-450.9926	-141.8401

Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	-55.55148	47.23241	.957	-210.1277	99.0248
Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	-42.84418	47.23241	.991	-197.4204	111.7321
Gabungan Fraksi II	-80.13028	47.23241	.745	-234.7065	74.4460
Gabungan Fraksi III	-9.90568	66.79671	1.000	-228.5095	208.6982
Gabungan Fraksi IV	-11.36851	47.23241	1.000	-165.9448	143.2077

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

Homogeneous Subsets

AUC

Tukey HSD^{a,b}

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	6	.0000			
Gabungan Fraksi V	6		203.5836		
Gabungan Fraksi III	2		213.4893		
Gabungan Fraksi IV	6		214.9521		
Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	6		246.4278	246.4278	
Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	6		259.1351	259.1351	
Gabungan Fraksi II	6		283.7139	283.7139	
Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	6			413.7864	413.7864
Kontrol Normal	6				500.0000
Sig.		1.000	.833	.059	.771

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,909.

AUC

Tukey HSD^{a,b}

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	6	.0000			
Gabungan Fraksi V	6		203.5836		
Gabungan Fraksi III	2		213.4893		
Gabungan Fraksi IV	6		214.9521		
Ekstrak Etanol Anting-Anting 200 mg/kg bb	6		246.4278	246.4278	
Ekstrak Etanol Anting-Anting 100 mg/kg bb	6		259.1351	259.1351	
Gabungan Fraksi II	6		283.7139	283.7139	
Kontrol Positif (Na. Diklofenak 10 mg/kg bb)	6			413.7864	413.7864
Kontrol Normal	6				500.0000
Sig.		1.000	.833	.059	.771

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,909.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

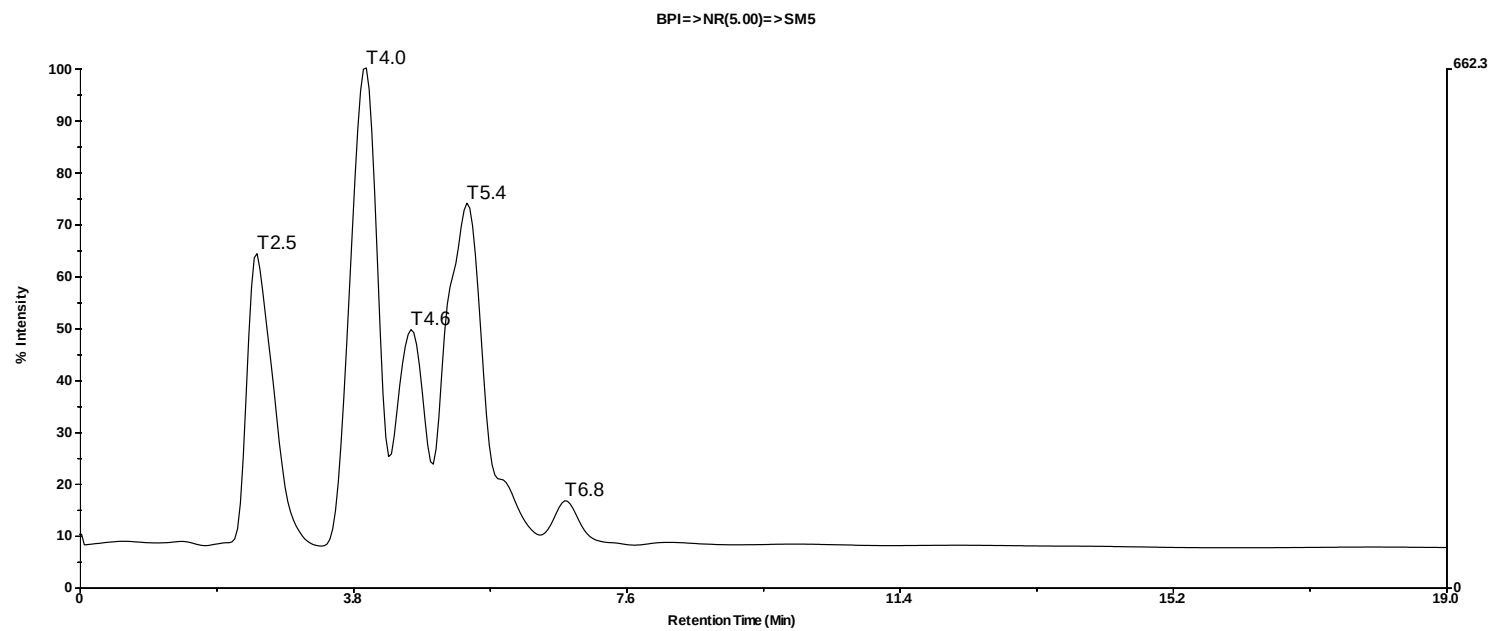
Lampiran 19. Hasil LC MS –ESI pos ion fraksi II EEAA

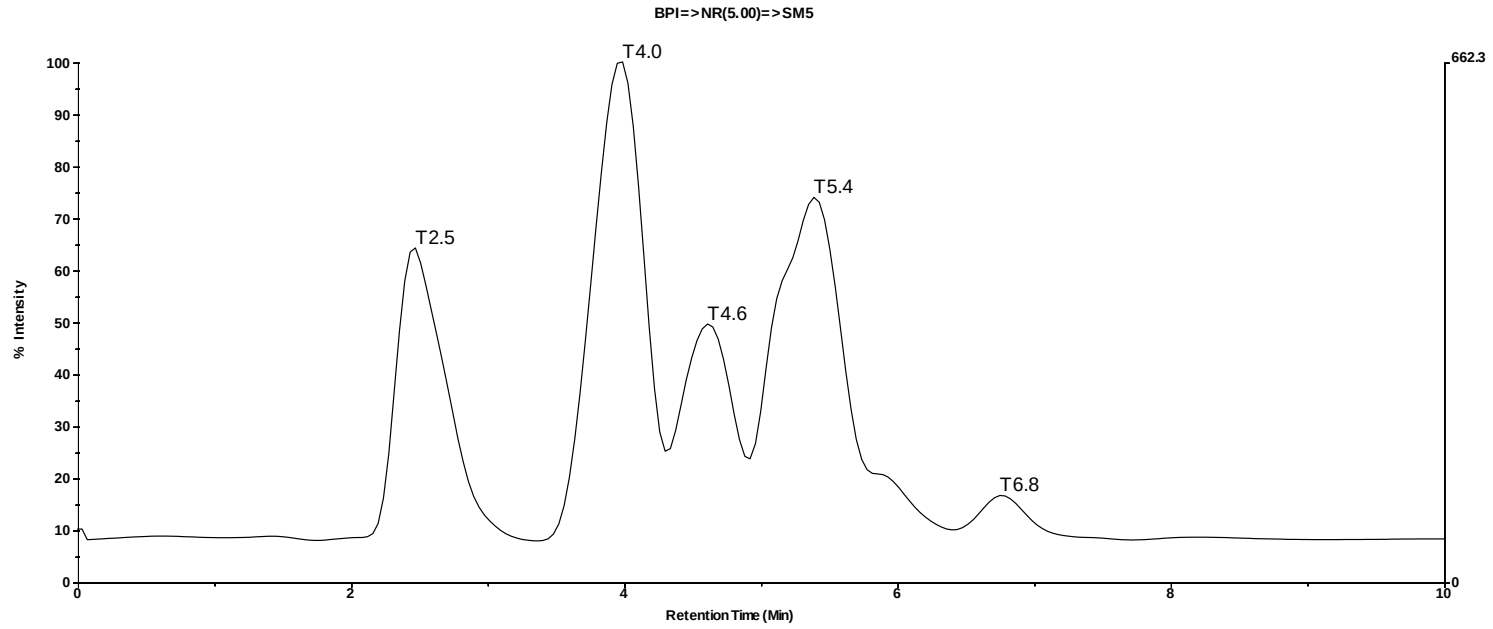
Vol injection 20 ul

Flow 1 ml/min

Eluent MeOH

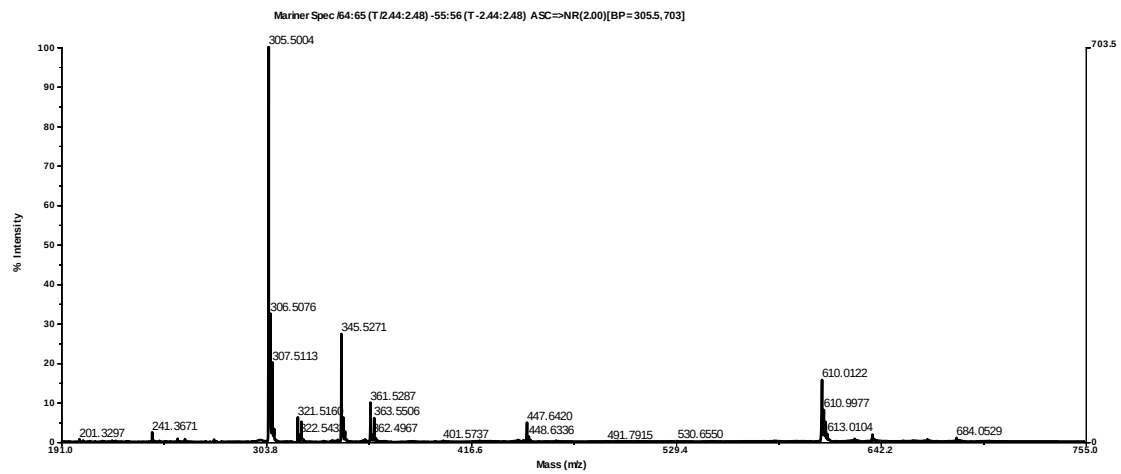
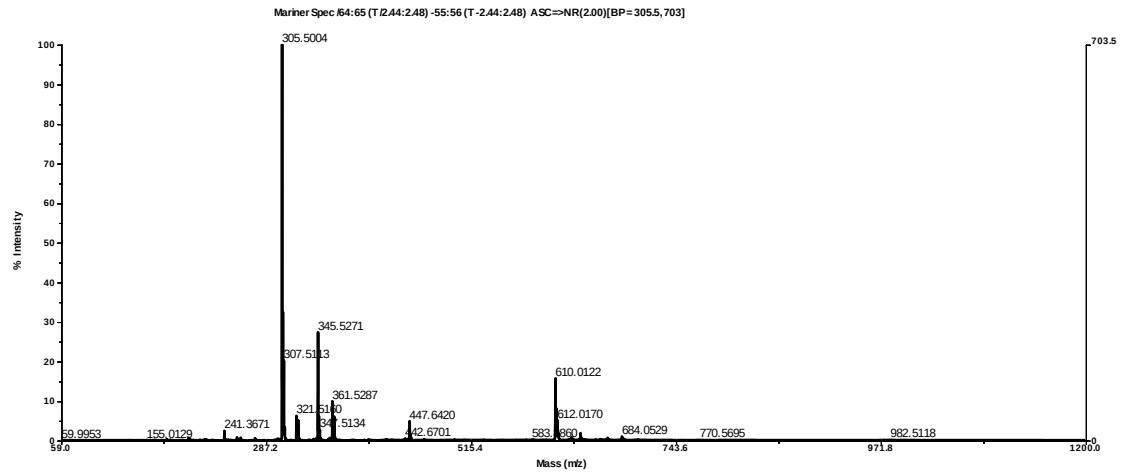
Operating by : Puspa D N Lotulung

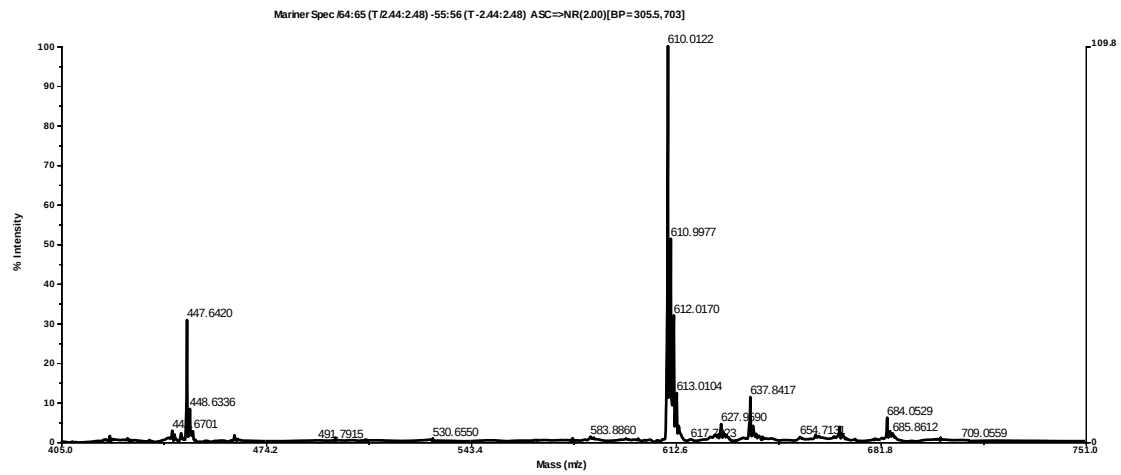
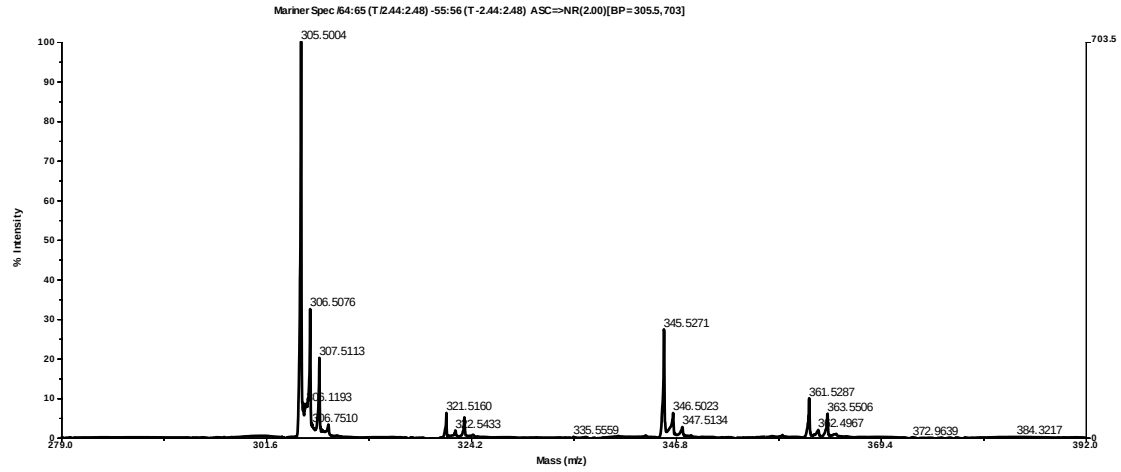




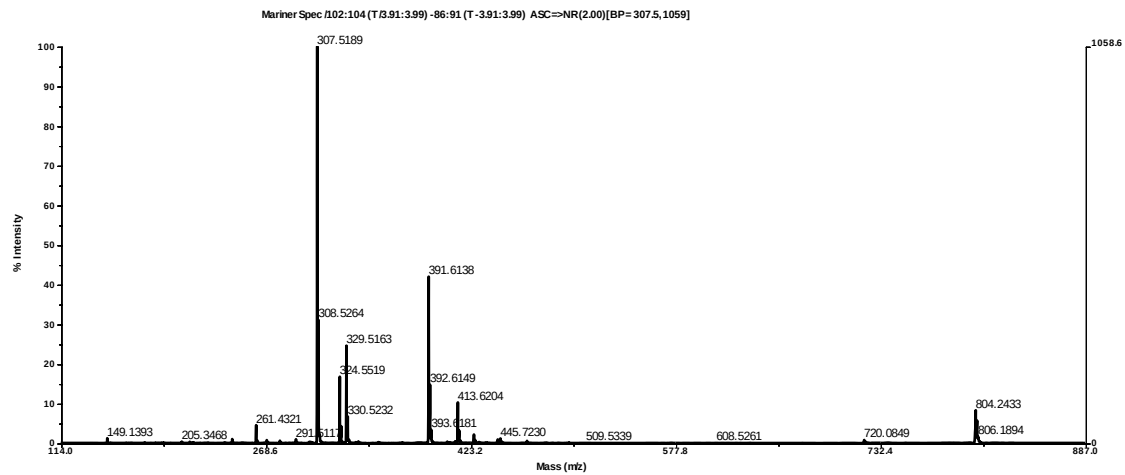
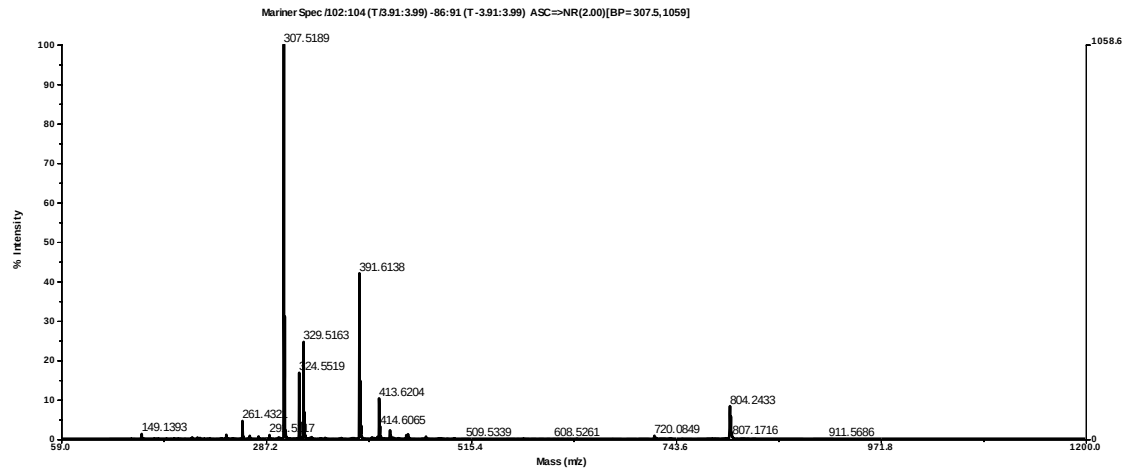
Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	2.475900	1.813950	3.330967	425	4094.76
2	3.992750	3.408750	4.264800	662	6781.62
3	4.614483	4.342417	4.886867	328	1411.35
4	5.392767	4.964650	6.364500	490	6515.85
5	6.753217	6.442267	7.684217	110	651.93

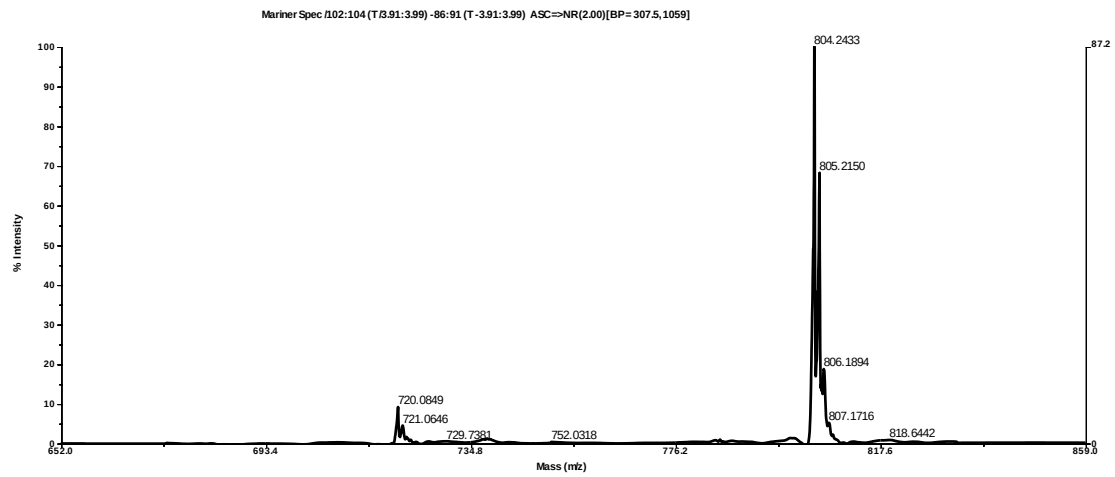
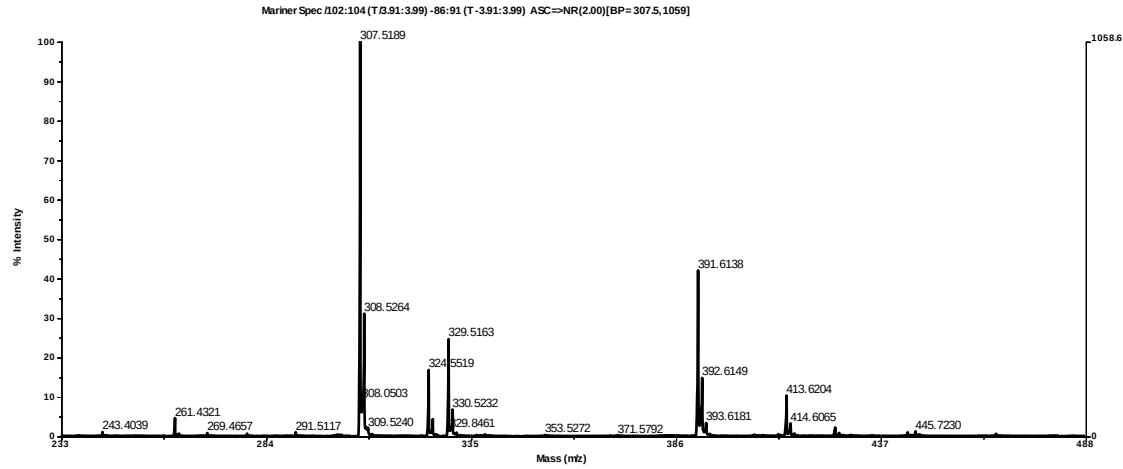
Rt 2.47



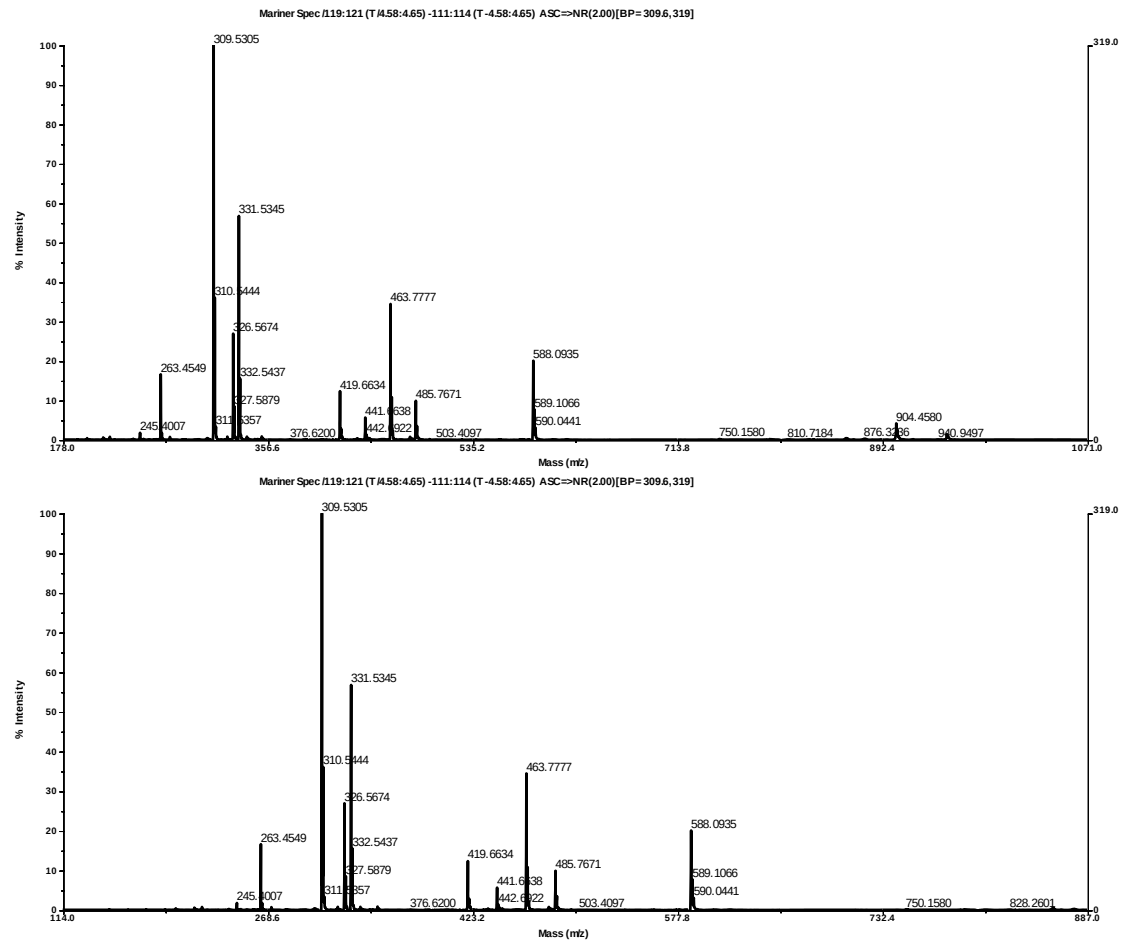


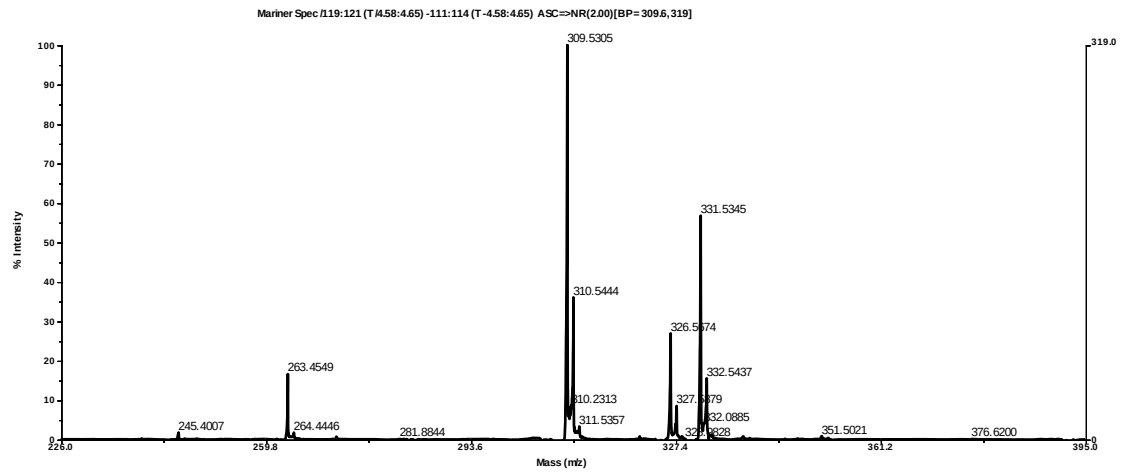
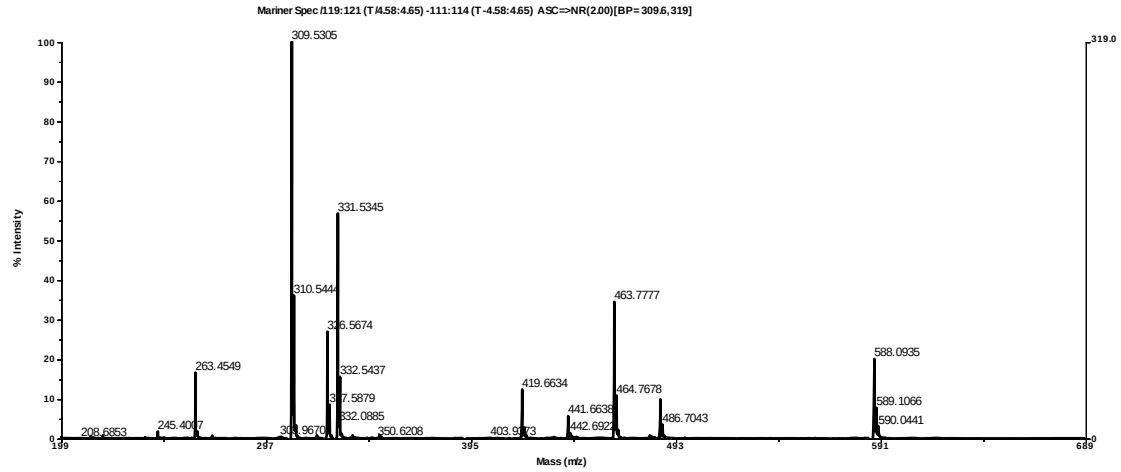
Rt 3.99

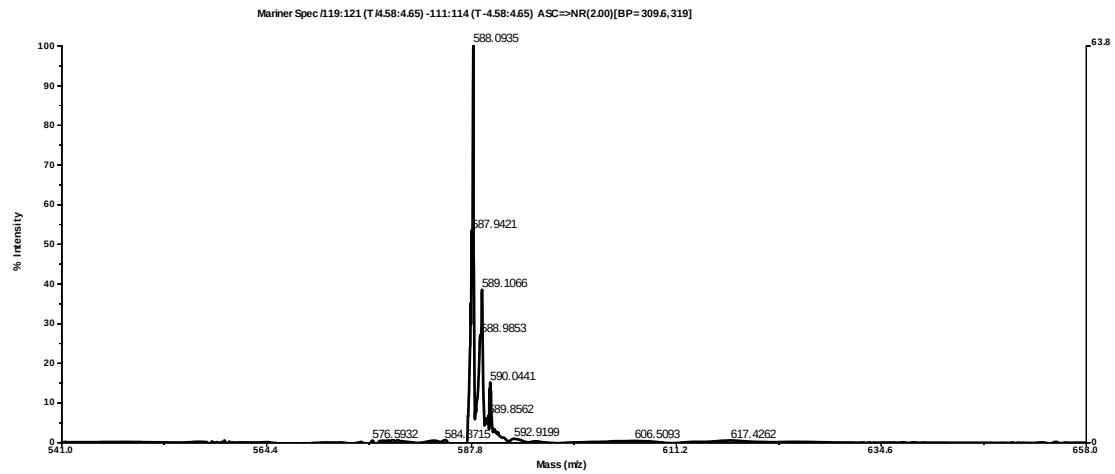
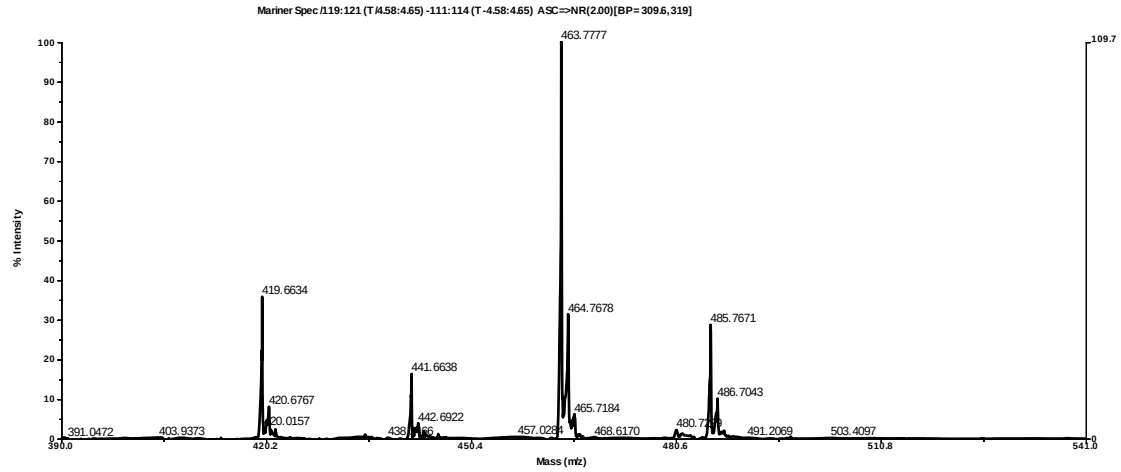


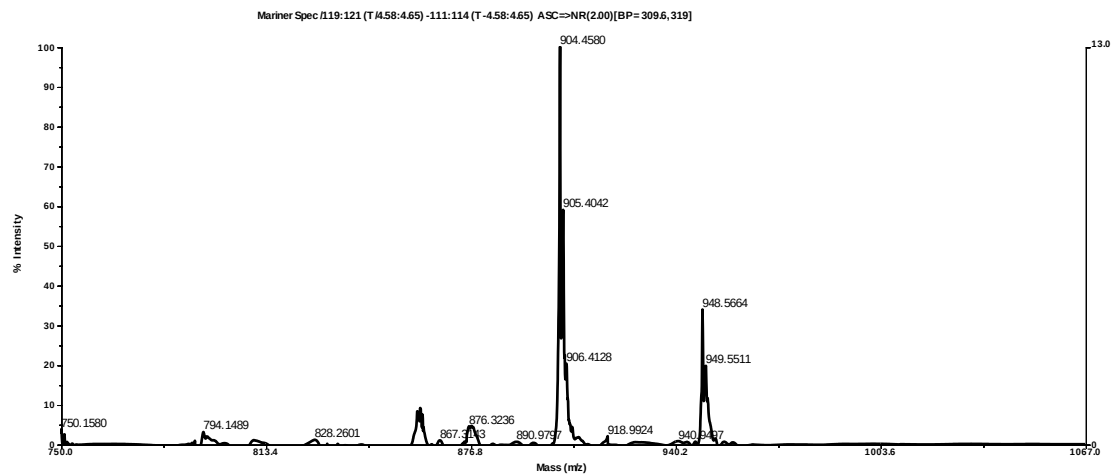


Rt 4.61

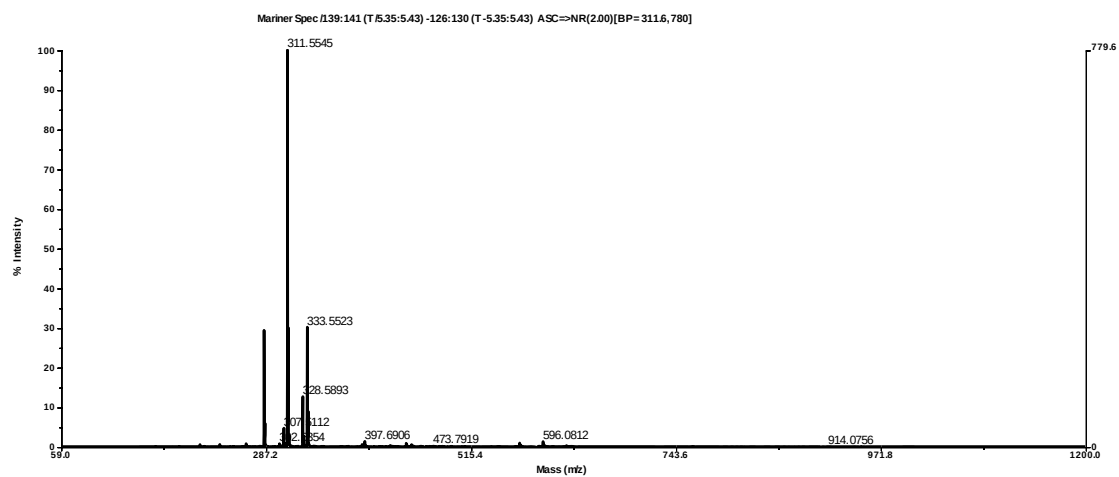


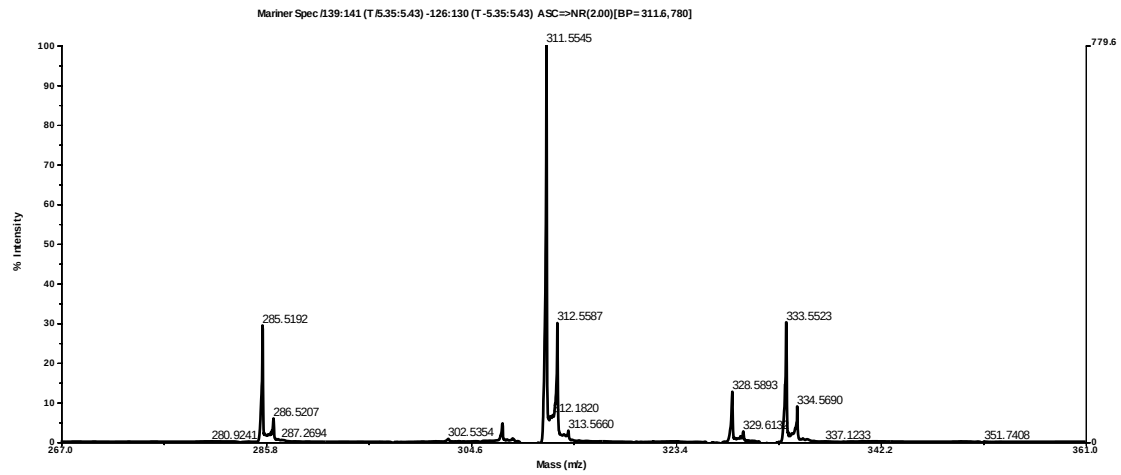
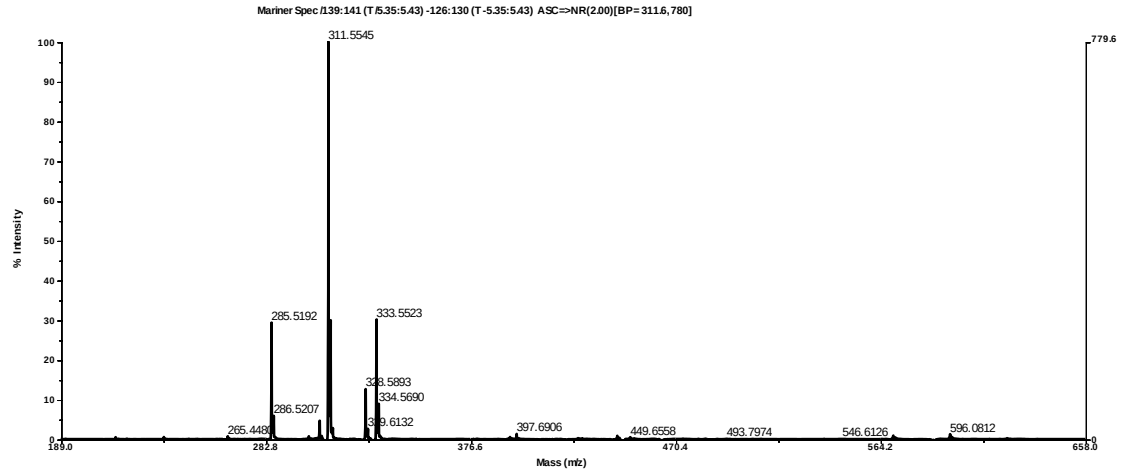




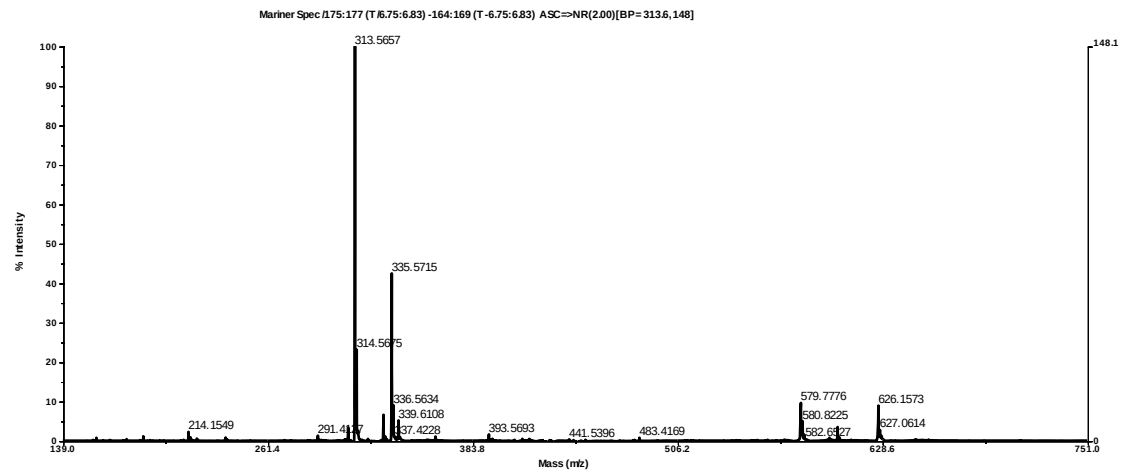
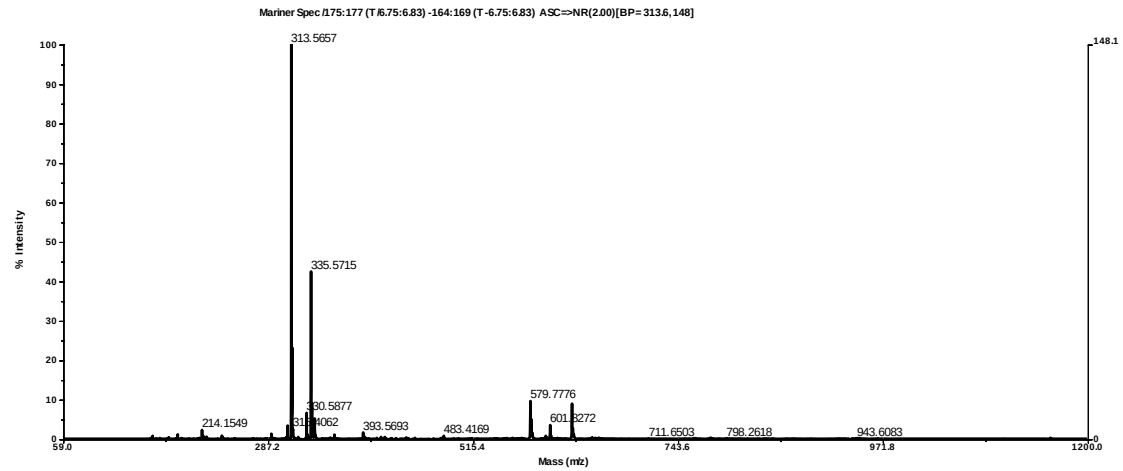


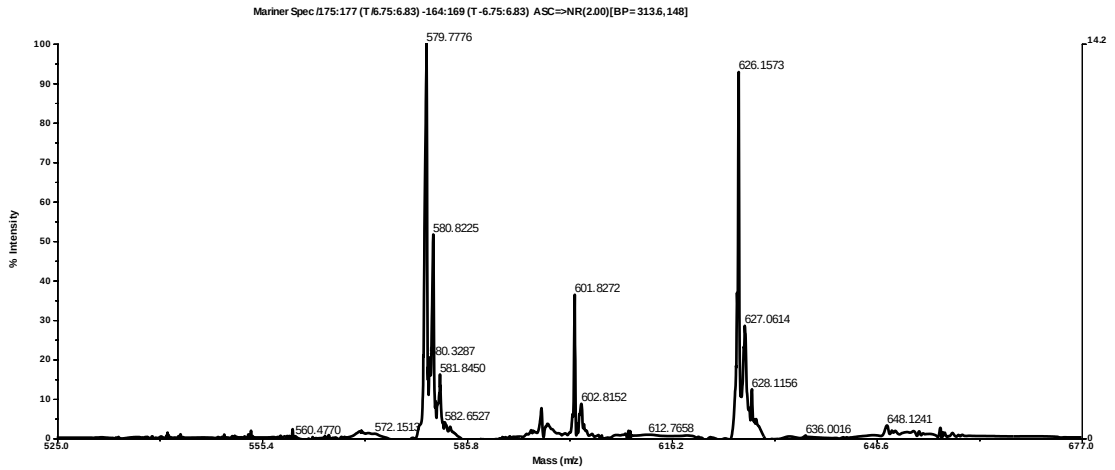
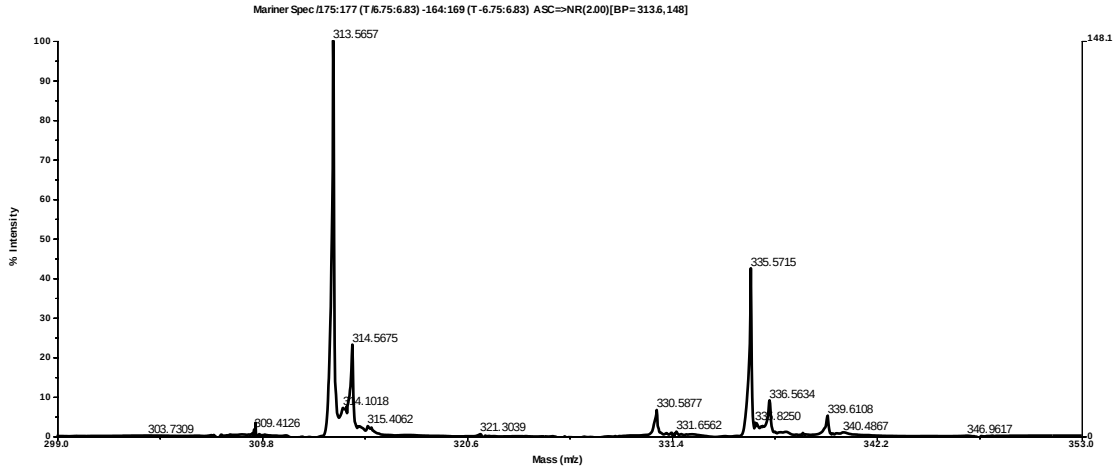
Rt 5.39





Rt 6.75





Spesifikasi Metode

Sample
Vol injection 20 ul
Flow rate 0.5 ml/min
Eluent Methanol
LC-MS : Mariner Biospectrometry
LC: Hitachi L 6200
System ESI (Electrospray Ionisation)
Positive ion mode
Kolom C18 (RP 18) Phenomenex
Column length : 150 mm
ID : 2 mm
Particle size : 5 µm
Analysis by : Puspa .D. Lotulung, Pusat Penelitian Kimia – LIPI

BPI = Base Peak Intensity
BP = Base Peak
TIC = Total Ion Current
NR = NoiseRemoval
BC = Base Correction
MC = Mass Calibration
BP = Base Peak
CT = Centroiding
SM = Gaussian smooth

Temperatur kolom = temp ruangan ; isokratik, Detector massa

Method : positive ion

LC-MS Analysis

LC-MS analysis was performed using an Mariner Biospectrometry equipped with a binary pump. The HPLC was interfaced with a Q-tof mass spectrometer fitted with an ESI source. Full-scan mode from m/z 100 to 1200 was performed with a source temperature of 140 °C. HPLC column (Phenomenex 5μ C18, 150×2 mm i.d.,) was used for the analysis. Solvent was Methanol with 0.3% acetic acid. Solvents were delivered at a total flow rate of 0.5 mL/min. The solvent running by isocratic elution