

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUAH OKRA HIJAU  
(*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG  
DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG**



**Oleh:**

**Nuraini Maudini  
20144141A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUAH OKRA HIJAU  
(*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG  
DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG**

**SKRIPSI**

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

**oleh:**

**Nuraini Maudini  
20144141A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

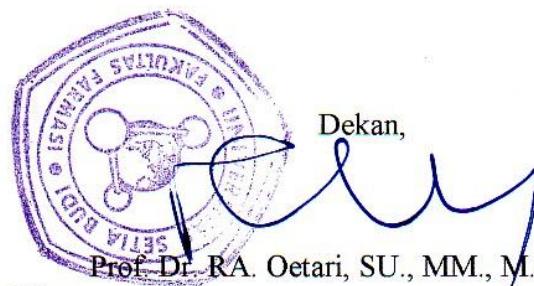
### AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUAH OKRA HIJAU *(Abelmoschus esculentus (L.) Moench)* PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG

Oleh:

Nuraini Maudini  
20144141A

Dipertahankan di Hadapan panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 29 Juni 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Yane Dila Keswara, M. Sc., Apt

#### Penguji :

1. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt
2. Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Four handwritten signatures of the examiners are placed above their respective names in the list. There are dotted lines next to each signature for a witness to sign.

## HALAMAN PERSEMBAHAN



“ Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang”

“ Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akherat, maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu “

(HR. At-Tirmidzi)

“ Barang siapa yang menempuh jalan untuk mencari suatu ilmu. Niscaya Allah memudahkannya ke jalan menuju surga”

(HR. At-Tirmidzi dan HR. Muslim)

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan kesabaran dan kekuatan yang luar biasa untuk bisa menuntut ilmu dengan ikhlas. Puji syukur yang tak terhingga kepada Allah SWT karena hanya dengan izin dan karunia-NYA skripsi ini dapat dibuat dan selesai tepat waktunya.
2. Kedua orang tua yang saya sangat cintai bapak Rohmad dan ibu Napiah yang telah memberikan dukungan baik materi dan moril, nasihat yang tidak henti-hentinya untuk saya serta do'a yang selalu menyertai kegiatan saya sehari-hari. Terima kasih untuk pengertian, perhatian, kasih sayang dan pengorbanan yang telah dilakukan untuk saya selama ini. Tidak ada cinta yang lebih besar dari cinta kalian terhadap saya, semoga sehat selalu dan panjang umur agar saya bisa selalu membahagiakan kalian. Aamiin.
3. Keluarga besar HMJ S1 farmasi yang memberikan saya pengalaman terbaik selama saya menempuh pendidikan sarjana di Universitas Setia Budi, pengalaman ini membuat saya mengerti lebih jauh tentang kehidupan bersosialisasi, paham bagaimana cara menyikapi masalah dengan baik, serta memberikan sabar yang luar biasa dalam menghadapi berbagai masalah yang ada. Semoga hubungan kekeluargaan kita tetap erat walaupun jarak antara kita jauh. Aamiin

## **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, 29 juni 2018



Nuraini Maudini

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “ **AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUAH OKRA HIJAU (*Abelmoschus esculentus (L.) Moench*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG** ” yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana Farmasi di Universitas Setia Budi, Surakarta. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, do'a, dukungan, bimbingan dan perhatian dari berbagai pihak sehingga penulis dengan kerendahan hati ingin menyampaikan rasa terima kasih 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. Dr. Rina Herowati., M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk memberikan arahan, bimbingan, nasehat, serta masukan dari awal hingga akhir penulisan skripsi ini.
4. Yane Dila Keswara., M.Sc., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, nasehat dan masukan yang maksimal dari awal hingga akhir penulisan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Kedua orang tuaku bapak Rohmad dan ibu Napiyah, juga adek-adek saya kiki, nanda, dwi, sapta yang telah memberikan dukungan, do'a dan kasih sayang kepada saya.
7. Sahabat jauh saya febrianto N.T, Annisa A, Merriel J, dan khususnya teman-teman satu sekolah yang memberikan dukungan, do'a, omelan, motivasi dan nasihat kepada saya dari jarak jauh.

8. Sahabat dan teman-teman S1 farmasi ( ka ihsan, dita, intan, puput, rizky, hendri), teman-teman keluarga besar FKK 1 farmasi dan HMJ S1 farmasi yang telah memberikan dukungan, nasihat, do'a dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Sahabat satu team saya Anis W dan Ravita S yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada saya, serta teman satu kos PEGETE Ovi A yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada saya setiap hari juga bersedia sebagai pendengar saya yang baik.
10. Dosen S1 farmasi dan seluruh staff laboratorium Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan dan informasi selama jalannya penelitian.
11. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, terima kasih telah memberikan dukungan dan do'a selama ini.

Akhir kata semoga Allah SWT membalas semua kebaikan pihak terkait yang membantu penulis menyelesaikan skripsi ini dari awal hingga akhir. Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini, semoga skripsi ini berguna untuk masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 29 juni 2018

penulis

Nuraini Maudini

## 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.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Okra ( <i>Abelmoschus esculentus (L.) Moench</i> ).....	5
1. Klasifikasi tanaman .....	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi tanaman .....	5
4. Kandungan kimia tanaman .....	7
5. Manfaat dan kegunaan.....	7
B. Simplisia .....	8
1. Simplisia .....	8
2. Pengeringan simplisia.....	8
3. Penyimpanan.....	9
C. Ekstraksi .....	9
1. Pengertian ekstraksi.....	9
2. Metode ekstraksi .....	9
2.1 Maserasi.....	10

2.2	Perkolasi .....	10
2.3	Refluks.....	10
2.4	Soxhletasi.....	10
3.	Pelarut.....	11
3.1	Air.....	11
3.2	Etanol.....	11
3.3	Kloroform.....	11
3.4	Aseton.....	11
D.	Antiinflamasi .....	11
1.	Definisi antiinflamasi .....	11
2.	Tanda-tanda inflamasi .....	12
2.1	Rubor (kemerahan).....	12
2.2	Kalor (panas).....	13
2.3	Dolor (rasa sakit).....	13
2.4	Tumor (pembengkakan) .....	13
2.5	Funsio lansea (gangguan fungsi).....	13
3.	Mekanisme antiinflamasi.....	13
4.	Obat anti inflamasi .....	16
4.1	Obat anti inflamasi non steroid .....	16
4.2	Obat antiinflamasi steroid.....	18
E.	Uji Antiinflamasi.....	18
1.	Induksi udem pada kaki tikus dengan karagenan.....	18
2.	Induksi dengan asam asetat.....	18
3.	Induksi udem pada kaki tikus dengan formalin .....	18
4.	Udema telinga diinduksi minyak croton pada tikus dan mencit .....	19
5.	Metode iritasi dengan panas .....	19
F.	Karagenan .....	19
G.	Lambung .....	20
1.	Anatomi lambung .....	20
2.	Kerusakan pada lambung .....	21
3.	Pertahanan mukosa lambung .....	22
H.	Hewan Uji.....	23
1.	Sistematika hewan uji.....	23
2.	Karasteristik utama tikus putih .....	23
3.	Jenis Kelamin.....	24
4.	Kondisi ruang hewan uji.....	24
5.	Teknik memegang dan cara penanganan.....	24
I.	Landasan Teori.....	24
J.	Hipotesis .....	26
BAB III	METODE PENELITIAN .....	27
A.	Populasi dan Sampel .....	27
B.	Variabel penelitian .....	27
1.	Identifikasi variabel utama .....	27
2.	Klasifikasi variabel utama .....	27

3. Definisi operasional variabel utama .....	28
C. Alat dan Bahan.....	29
1. Alat .....	29
2. Bahan.....	29
2.1 Bahan sampel.....	29
2.2 Bahan kimia.....	29
3. Hewan Uji .....	29
D. Jalannya Penelitian.....	29
1. Determinasi tanaman okra .....	29
2. Pengeringan dan pembuatan serbuk buah okra.....	30
3. Penetapan kadar air .....	30
4. Pembuatan ekstrak etanolik buah okra.....	30
5. Uji bebas etanol.....	30
6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk buah okra.....	31
6.1 Identifikasi flavonoid. ....	31
6.2 Identifikasi tanin. ....	31
6.3 Identifikasi saponin. ....	31
6.4 Identifikasi steroid. ....	31
7. Penentuan dosis.....	31
7.1 Dosis karagenan 1%.....	31
7.2 Dosis sediaan uji. ....	32
7.3 Dosis natrium diklofenak.....	32
8. Pembuatan sediaan uji .....	32
8.1 Pembuatan CMC-Na .....	32
8.2 Pembuatan larutan karagenan 1 %.....	32
8.3 Pembuatan suspensi natrium diklofenak. ....	32
9. Perlakuan hewan uji .....	33
10. Pengujian efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra .....	33
11. Uji keamanan lambung pada tikus secara makroskopis .....	33
12. Uji keamanan lambung pada tikus secara mikroskopis.....	34
12.1 Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan formalin 10%.....	34
12.2 Tahap dehidrasi.....	35
12.3 Tahap <i>clearing</i> . ....	35
12.4 Tahap infiltrasi paraffin. ....	35
12.5 Tahap <i>embedding</i> dan pemotongan dengan mikrotom. ....	36
12.6 Tahap <i>staining</i> dan pembacaan sampel. ....	36
E. Analisis Hasil.....	36
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	40
A. Tanaman Okra Hijau ( <i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench) ....	40
1. Hasil determinasi tanaman okra hijau .....	40
2. Pengumpulan tanaman dan pengeringan buah okra.....	40
3. Hasil pembuatan serbuk buah okra .....	41

4.	Hasil pembuatan ekstrak etanol buah okra .....	41
5.	Hasil penetapan kadar air serbuk buah okra .....	42
6.	Hasil uji bebas etanol .....	42
7.	Hasil identifikasi kandungan ekstrak buah okra .....	43
B.	Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Buah Okra .....	44
1.	Hasil uji antiinflamasi dengan metode induksi karagenan ....	44
2.	Hasil uji keamanan lambung pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis.....	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		54
A.	Kesimpulan.....	54
B.	Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA .....		55
LAMPIRAN .....		63

## **DAFTAR GAMBAR**

### **Halaman**

Gambar 1.	Buah okra <i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench .....	5
Gambar 2.	Skema mekanisme antiinflamasi.....	15
Gambar 3.	Skema uji efek antiinflamasi (karagenin) .....	38
Gambar 4.	Skema uji keamanan lambung .....	39
Gambar 5.	Hasil uji efek antiinflamasi dengan metode karagenan .....	45
Gambar 6.	Pemeriksaan lambung secara makroskopik pada kelompok normal (a), kelompok kontrol negatif (b), kelompok kontrol positif (c), kelompok 25 mg/ 200 g bb (d), kelompok 50 mg/ 200 g bb (e), dan kelompok 100 mg/ 200 g bb (f). ....	50
Gambar 7.	Pemeriksaan secara mikroskopik pada lambung tikus pada perbesaran 40x kelompok normal (1), kelompok kontrol negatif (2), kelompok kontrol positif (3), kelompok EEBO 25 mg/ 200 g bb (4), kelompok EEBO 50 mg/ 200 g bb (5), kelompok EEBO 100 mg/ 200 g bb (6).....	51

## **DAFTAR TABEL**

### **Halaman**

Tabel 1. Tabel skoring keparahan tukak .....	34
Tabel 2. Rendemen buah okra kering terhadap buah okra basah.....	40
Tabel 3. Rendemen berat serbuk terhadap buah kering.....	41
Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol buah okra .....	42
Tabel 5. Penetapan kadar air serbuk buah okra.....	42
Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah okra.....	43
Tabel 7. Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak buah okra .....	43
Tabel 8. Rata-rata volume udema.....	45
Tabel 9. Rata-rata AUC <sub>total</sub> dan rata-rata DAI (%) .....	46
Tabel 10. Hasil perhitungan skor tukak lambung pada pemeriksaan secara makroskopis.....	50

## **DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman buah okra .....	64
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji.....	65
Lampiran 3. Hasil <i>ethical clearance</i> .....	66
Lampiran 4. Foto kegiatan penelitian .....	67
Lampiran 5. Perhitungan rendemen buah okra.....	70
Lampiran 6. Perhitungan kadar air .....	71
Lampiran 7. Gambar penetapan kadar air. ....	72
Lampiran 8. Gambar uji bebas etanol .....	73
Lampiran 9. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak.....	74
Lampiran 10. Perhitungan dosis .....	76
Lampiran 11. Hasil uji metode karagenan .....	79
Lampiran 12. Hasil perhitungan AUC .....	82
Lampiran 13. Hasil perhitungan DAI ekstrak etanol buah okra.....	90
Lampiran 14. Hasil uji statistik total AUC antiinflamasi dengan metode karagenan.....	92
Lampiran 15. Hasil uji statistik persen daya antiinflamasi (% DAI) dengan metode karagenan .....	94
Lampiran 16. Hasil uji selisih waktu udema T30 .....	96
Lampiran 17. Hasil uji makroskopik keamanan lambung .....	98
Lampiran 18. Hasil pemeriksaan keamanan lambung secara mikroskopik .....	100

## INTISARI

**MAUDINI, N., 2018 AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL BUAH OKRA HIJAU (*Abelmoschus esculentus (L.) Moench*) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENAN DAN KEAMANANNYA PADA LAMBUNG, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.**

Okra (*Abelmoschus esculentus (L.) Moench*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk antioksidan, antidiabetes, disentri dan inflamasi akut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra pada tikus yang diinduksi karagenan dan mengetahui keamanan ekstrak etanol buah okra terhadap lambung tikus secara makroskopik dan mikroskopik.

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok untuk metode induksi karagenan meliputi kontrol negatif (CMC-Na), kontrol positif (Natrium diklofenak), dan kelompok uji ekstrak etanol buah okra (dosis 25 mg/kg bw, 50 mg/kg bw, dan 100 mg/kg bw), sedangkan untuk uji keamanan lambung dibagi menjadi 6 kelompok dengan ditambahkan kelompok tikus normal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah okra pada dosis 25 mg/kg bw, 50 mg/kg bw, dan 100 mg/kg bw mempunyai efek antiinflamasi pada tikus putih jantan yang diinduksi karagenan dan semua dosis ekstrak etanol buah okra aman terhadap lambung.

---

Kata kunci : Antiinflamasi, karagenan, lambung, ekstrak etanol buah okra, natrium diklofenak

## **ABSTRACT**

**MAUDINI, N., 2018 ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF GREEN OKRA (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) ETHANOL EXTRACT ON MALE WHITE RAT INDUCED BY CARRAGEENAN AND ITS SAFETY ON THE GASTRIC, THESIS, PHARMACEUTICAL FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) is one of the plants which can be used as a traditional medicine for antioxidants, antidiabetes, dysentry and acute inflammation. This study was aimed to determine the anti-inflammatory effect of Okra ethanol extract on the rats induced by carrageenan and to find out the safety of Okra ethanol extract against macroscopic and microscopic rats.

The extract was made by maceration method using 96% ethanol solvent. The experimental animals were divided into five groups for the carrageenan induction method including negative control (CMC-Na), positive control (Sodium diclofenac), and the okra ethanol extract test group (dose 25 mg / kg bb, 50 mg / kg bb, and 100 mg / kg bb), whereas the gastric safety test was divided into 6 groups by adding a normal mice group.

The result shows that Okra ethanol extract at dose 25 mg / kg bb, 50 mg / kg bb, and 100 mg / kg bb have anti-inflammatory effect on male rats induced by carrageenan and all doses of okra ethanol extract are safe on the gastric.

---

**Keywords:** *Anti-inflammatory, carrageenan, gastric, Okra ethanol extract, diclofenac sodium*

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Inflamasi merupakan respon yang ditimbulkan apabila sel-sel atau jaringan-jaringan dalam tubuh mengalami cedera atau mati. Inflamasi dapat dijelaskan sebagai reaksi vaskular yang menimbulkan pengiriman cairan, zat-zat yang terlarut, dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstisial di daerah cedera atau nekrosis. (Price & Wilson 2005). Inflamasi ditandai dengan gejala seperti rubor (kemerahan), kalor (panas), dolor (nyeri) dan tumor (pembengkakan) (Corwin & Elizabeth 2008).

Pengobatan antiinflamasi dapat mencakup dua aspek, yang pertama adalah meredakan nyeri yang sering kali menjadi gejala dan yang kedua adalah upaya menghentikan proses peradangan. Pengurangan peradangan atau respon antiinflamasi menggunakan obat golongan steroid dan obat golongan non steroid (AINS). Penggunaan obat golongan steroid secara sistemik sebagai antiinflamasi dalam waktu yang lama justru memberikan efek samping berupa penurunan sintesis glukokortikoid endogen, menurunkan respon imun tubuh terhadap infeksi, osteoporosis, *moonface* dan hipertensi. Penggunaan obat antiinflamasi non steroid (AINS) secara sistemik dalam jangka waktu yang lama juga dapat memberikan efek samping berupa gangguan saluran pencernaan seperti ulkus peptik, *analgetic nephropathy*, mengganggu fungsi platelet dan menghambat induksi kehamilan (Goodman & Gilman 2003).

Masyarakat pada umumnya masih menggunakan obat herbal atau jamu sebagai pengobatan alternatif untuk menghindari efek samping dari obat-obatan tersebut. Diharapkan dengan adanya obat tradisional tersebut dapat mengurangi efek samping yang terjadi atau memiliki efek samping yang lebih kecil. Penggunaan obat berbasis-tumbuhan merupakan suatu cara pengobatan yang penting di berbagai negara berkembang yang merupakan bagian dari berbagai sistem medis lokal seperti negara Indonesia. Senyawa murni yang berasal dari tumbuhan (bahan alam) dapat digunakan dalam obat konvensional maupun

modern, senyawa-senyawa lain kemungkinan besar berguna atau memiliki relevansi pada toksikologis manusia (Heinrich *et al.* 2005)

Tanaman di Indonesia yang terbukti secara empiris digunakan sebagai tanaman obat yaitu tanaman okra hijau. Pengujian aktivitas farmakologi dengan tanaman okra telah banyak dilakukan guna meningkatkan manfaat penggunaannya pada masyarakat. Biji okra telah diuji sebagai terapi pada penderita diabetes mellitus, pengobatan tumor, antispasmodik dan stimulant. Bunga okra efektif sebagai pengobatan bronchitis dan pneumonia, daun pada okra juga dapat bermanfaat sebagai demulsen, sedangkan buahnya berguna untuk inflamasi akut untuk diare dan disentri, pengobatan infeksi pada ginjal, dan pengobatan gonorhoea (Roy *et al.* 2014).

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Shui & Peng (2004) diduga terdapat senyawa flavonoid turunan kuersetin di dalam buah okra, contoh senyawa kuersetin yang ditemukan dalam buah okra adalah quercetin 3-O-xylosyl glucoside, quercetin 3-O-glucoside dan quercetin 3-O-(6''-O-malonyl)-glucoside. Menurut pemaparan dari Liao *et al* (2012) telah ditemukan senyawa flavonoid baru yang ada di dalam buah okra yaitu senyawa 5,7,3',4'-tetrahydroxy-4''-O-methyl flavonol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside. Senyawa flavonoid terutama turunan kuersetin memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat aktivitas siklooksigenase dan lipoksgenase, sehingga mengurangi pembentukan metabolit peradangan pada inflamasi. Kemampuan lainnya yang dimiliki oleh flavonoid sebagai antiinflamasi adalah untuk menghambat biosintesis eikosanoid, eikosanoid seperti prostaglandin merupakan produk akhir dari jalur siklooksigenase dan lipoksgenase (Nijveldt *et al.* 2001).

Khasiat buah okra sebagai antiinflamasi telah diuji dari penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak air buah okra memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap tikus yang diinduksi karagenan dan memberikan efek pada dosis 250 mg/kg BB tikus, hal ini membuktikan bahwa buah okra dapat menurunkan volume edema pada kaki tikus dengan persen inhibisi 68,85% (Shah & Seth 2010). Penelitian terkait lainnya dilakukan oleh Shabrina *et al.* (2014) menjelaskan bahwa ekstrak metanol buah okra dengan dosis 200 mg/kg BB

memiliki efek antiinflamasi dengan menurunkan volume edema pada kaki mencit yang diinduksi karagenan dengan persen inhibisi 50,8 %.

Selain dapat digunakan untuk antiinflamasi, kuersetin di dalam tanaman okra juga dapat berkhasiat sebagai antioksidan kuat. Quercetin glucoside (quercetin) telah ditemukan dalam penelitian yang dilakukan oleh Attawodi *et al.* (2009) dengan menggunakan metode *in vitro antioxidant assay* ekstrak metanol buah okra. antioksidan dalam tubuh akan mengeluarkan beberapa enzim seperti *superoxide dismutase* (SOD), *radical superoxide scavenger*, dan *glutathione peroxidase* (GSH-Px) yang mengeliminasi racun dalam tubuh seperti hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida sehingga antioksidan dapat melindungi sel-sel dalam tubuh, kuersetin yang berperan sebagai anti-oxidant agent yang paling penting akan menimbulkan efek gastroprotektif dalam tubuh (Martin *et al.* 1998).

Mengingat efek samping yang ditimbulkan oleh obat NSAID yaitu menyebabkan gangguan gastrointestinal termasuk anoreksia, mual, dispepsia, nyeri abdomen, dan diare. Gejala-gejala ini berhubungan dengan induksi ulser lambung atau usus, yang diperkirakan terjadi pada 15-30 % pengguna reguler. Ulserasi mungkin terjadi dari erosi superfisial kecil sampai perforasi seluruh kulit pada mukosa muskularis (Goodman & Gilman 2008), maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui keamanan lambung yang diberikan ekstrak etanol buah okra.

Berdasarkan penelitian yang sudah dijelaskan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol buah okra yang diperoleh dengan cara maserasi langsung dan juga untuk mengetahui dosis maksimal ekstrak etanol buah okra sebagai antiinflamasi. Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut air dengan metode sokhletasi, pelarut air memiliki kelemahan akan menarik zat yang bersifat polar saja dan dapat menyebabkan pembengkakan sel sehingga bahan aktif akan terikat kuat pada simplisia, larutan dengan menggunakan air juga akan mudah terkontaminasi (Soemardi 2004). Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 96 % dan diekstraksi menggunakan cara maserasi. Maserasi berbeda dengan sokhletasi karena tidak menggunakan pemanasan dan metode maserasi dapat

digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas sehingga dapat melindungi senyawa yang termolabil.

Pelarut etanol 96 % digunakan karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar dan non-polar serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar dari proses hidrolisis dan oksidasi (Harbone 1978; Voigt 1994).

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol buah okra memiliki efek antiinflamasi terhadap tikus putih jantan yang diinduksi karagenan?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol buah okra yang memiliki efek antiinflamasi yang paling efektif?

Ketiga, bagaimana keamanan ekstrak etanol buah okra terhadap lambung tikus putih jantan?

### **C. Tujuan Penelitian**

Pertama, mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra pada tikus putih jantan yang diinduksi karagenan.

Kedua, mengetahui berapa dosis ekstrak etanol buah okra yang memiliki efek antiinflamasi paling efektif.

Ketiga, mengetahui keamanan ekstrak etanol buah okra terhadap lambung tikus putih jantan.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat membuktikan efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) dan keamanannya pada lambung sehingga dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengembangan obat tradisional yang baru sebagai pencegahan dan terapi terhadap penyakit inflamasi.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**

##### **1. Klasifikasi tanaman**

Menurut Kumar *et al.* (2013) klasifikasi tanaman okra sebagai berikut :

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Ordo	:	Malvales
Famili	:	Malvaceae
Genus	:	<i>Abelmoschus</i>
Spesies	:	<i>Abelmoschus esculentus</i>

##### **2. Nama lain**

Kacang bendi, Qiu kui, Okra, Okura, Okro, Quiabos, Ochro, Quiabo, Gumbo, Quimgombo, Bamieh, Bamya, Quingumbo, Bania, Ladies fingers, Bendi, Bhindi, Kopi Arab (Nilesh *et al.* 2012). Dalam beberapa literatur okra disebut juga dengan *Abelmoschus turbulans*, *Hibiscus esculentus*, dan *Hibiscus longifolius* (Yudo 1991).

##### **3. Morfologi tanaman**



**Gambar 1. Buah okra *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (Luther 2012).**

Okra dikembangbiakkan dari biji yang ditanam. Tanaman okra membutuhkan suhu tinggi untuk perkecambahan (suhu lebih dari 20 °C) dan

diletakkan di bawah sinar matahari, Seringkali benih direndam selama 24 jam sebelum disemai untuk mempercepat perkecambahan. Biji ditanam 1,5-2,5 cm dengan 2-3 biji per lubang, Biji dapat disemai di persemaian dan tanamannya nanti dipindahkan, pucuk tanaman okra dapat dipetik ketika tanaman sudah mencapai tinggi 30 cm untuk mendorong percabangan tanaman. Jarak tanam yang cocok sekitar 90 x 45 cm. Satu hektar tanah biasanya memerlukan benih okra sebanyak 8-10 kg (*Food Plant Resource* 2005).

Okra merupakan tanaman tahunan tropis yang tumbuh tegak dengan batang berbulu, tanaman ini sebagian besar tumbuh dengan tinggi sekitar 1 m tetapi dapat mencapai tinggi 3,5 m, dan bagian bawah tanaman okra berkayu. Daun tanaman okra memiliki tangkai panjang dengan ukuran 30 cm dan bentuk daunnya bervariasi, tetapi secara umum bentuk daun okra adalah bentuk hati dengan cuping dan gigi di sepanjang tepinya (*Food Plant Resource* 2005).

Bunga dari tanaman okra berwarna kuning dengan jantung berwarna merah, buah tanaman okra itu sendiri berwarna hijau, panjang dan memiliki garis dan bijinya memiliki ukuran 4-5 mm, bentuk bijinya bulat dan berwarna hijau gelap (*Food Plant Resource* 2005).

Polong okra akan matang secara berurutan mulai dari yang terletak di pangkal tanaman dan berlanjut hingga mencapai pucuk tanaman. Setelah kering, polong okra cenderung pecah di sepanjang garis buah. Benih dari polong yang pecah bisa rusak karena hujan atau jatuh ke tanah, Itu sebabnya polong okra perlu dipanen secepatnya setelah matang dan sebelum pecah. Polong okra sangat mudah ditebah dengan tangan memakai pisau yang tajam (Luther 2012).

Defoliasi atau bisa juga disebut dengan pemangkasan akan memberikan hasil yang terbaik dibanding tanpa defoliasi terhadap parameter tinggi tanaman, jumlah polong muda per tanaman dan hasil per hektar. Pemangkasan bertujuan untuk membentuk tanaman dengan percabangan yang seimbang sehingga distribusi daun merata memudahkan penyemprotan pada tanaman dan pemanenan serta mempertinggi hasil dan menjamin pertukaran udara serta menekan perkembangan hama dan penyakit. Defoliasi dapat juga mengatur keseimbangan

antara pertumbuhan vegetatif dan generatif sehingga tanaman lebih siap memasuki fase generatif (Nadira *et al.* 2009).

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

Tanaman okra diduga mengandung flavonoid turunan kuersetin, Senyawa turunan kuersetin dan epigalokatekin merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan utama dalam tanaman okra. 70 % aktivitas antioksidan total dalam buah okra terjadi karena adanya derivat kuersetin (Shui & Peng 2004).

Dari senyawa tersebut yang berfungsi sebagai antiinflamasi adalah senyawa flavonoid turunan kuersetin, kuersetin akan menghambat aktivitas jalur siklooksigenase dan lipoksigenase dengan cara menurunkan pembentukan metabolit inflamasi (Kristina 2012).

Tanaman okra memiliki banyak kandungan protein dan asam amino terutama pada biji okra, penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak akar tanaman okra mengatakan bahwa ekstrak akar dari buah okra terdapat karbohidrat, flavonoid glikosida, dan zat-zat yang dapat bekerja sebagai antioksidan. Bunga dari tanaman okra itu sendiri telah ditemukan 11 jenis turunan flavonoid glikosida dan antosianin (Roy *et al.* 2014)

#### **5. Manfaat dan kegunaan**

Okra dapat digunakan sebagai antispasmodik, demulsien, diaporetik, diuretik, emolien, stimulant, pengobatan pada luka, peradangan pada paru, iritasi usus, dan radang tenggorokan. Akar tanaman okra mengandung banyak lendir yang digunakan sebagai pengganti plasma, pengobatan sifilis, kolesterol, pengobatan pada luka. Daun okra dapat digunakan dalam pengobatan disuria dan gonorrhoea (Nilesh *et al.* 2012).

Selain berguna dalam bidang kesehatan, tanaman okra digunakan dalam pembuatan kertas dan tekstil. Tanaman okra memiliki serat dengan panjang 2,4 mm. Dalam pembuatan kertas serat okra dimasak selama 2 jam dengan alkali dan dimasukan ke dalam *ball mill* selama 3 jam (Nilesh *et al.* 2012).

## B. Simplisia

### 1. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang dapat digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami perubahan proses apapun, kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu simplisia nabati, hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati merupakan simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya, simplisia hewani yaitu simplisia berupa hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni dan 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.

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan-tahapan : pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Gunawan & Mulyani 2004).

### 2. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan proses pengeluaran air dari bahan secara termal untuk menghasilkan produk kering. Proses ini dipengaruhi dari kondisi eksternal seperti oleh suhu, kelembaban, kecepatan, dan tekanan udara dari pengering serta dapat juga dipengaruhi oleh kondisi internal seperti kadar air, bentuk atau geometri, luas permukaan, dan keadaan fisik bahan.

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak oleh enzim yang terdapat di dalam bahan baku, pengeringan juga dapat bertujuan untuk mencegah timbulnya jamur atau mikroba lainnya. Tujuan dasar pengeringan produk pertanian adalah pengurangan kadar air dalam bahan sampai tingkat tertentu, di mana mikroba pembusuk dan kerusakan akibat reaksi kimia lainnya dapat diminimalisasi (Gunawan & Mulyani 2004).

Pengeringan dapat dilakukan secara tradisional yaitu menggunakan sinar matahari atau secara modern yaitu dengan menggunakan oven, rak pengering atau menggunakan *fresh dryer* yang membutuhkan waktu sekitar 6 sampai 8 jam (Balitetro 2008).

### **3. Penyimpanan**

Dalam penyimpanan simplisia, maka harus dipastikan bahwa simplisia benar-benar kering atau kadar airnya kurang dari 10 %. Simplisia di simpan dalam wadah yang tidak bersifat racun dan tidak bereaksi dengan bahan lain, terhindar dari cemaran mikroba, kotoran, dan serangga sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta perubahan warna, bau, dan rasa pada simplisia, mampu melindungi simplisia dari penguapan kandungan aktif, pengaruh cahaya, oksigen, uap air, dan suhu penyimpanan simplisia yang terbaik tergantung dari sifat simplisia (Gunawan & Mulyani 2004).

## **C. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah pemisahan bagian aktif sebagai obat dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan (Tiwari *et al.* 2011). Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat dari tumbuhan dan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya (Tiwari *et al.* 2011). Dalam mengekstraksi suatu tumbuhan sebaiknya menggunakan jaringan tumbuhan yang masih segar, namun kadang-kadang tumbuhan yang akan dianalisis tidak tersedia di tempat sehingga untuk itu jaringan tumbuhan yang akan diekstraksi dapat dikeringkan terlebih dahulu (Kristanti *et al.* 2008).

### **2. Metode ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Tiwari *et al.* 2011).

Berikut contoh metode dengan menggunakan ekstraksi :

**2.1 Maserasi.** Maserasi adalah suatu cara penyarian simplisia yang sederhana dengan prinsip merendam serbuk simplisia tersebut ke dalam cairan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Agoes 2007).

Keuntungan cara maserasi adalah penggerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugian dari maserasi adalah cara penggerjaanya yang lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Metode ini cocok digunakan untuk senyawa yang bersifat termolabil (Tiwari *et al.* 2011).

**2.2 Perkolasi.** Pada metode perkolası, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel selalu dialiri oleh pelarut baru, sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan cara penggerjaannya lama (Mukhriani 2014).

**2.3 Refluks.** Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Mukhriani 2014).

**2.4 Soxhletasi.** Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel di dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dan dimasukkan klonson yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani 2014).

### **3. Pelarut**

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan 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 toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat (Tiwari *et al.* 2011).

Berbagai pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi antara lain :

**3.1 Air.** Air adalah pelarut yang bersifat universal, biasanya digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba (Tiwari *et al.* 2011).

**3.2 Etanol.** Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air dapat dikaitkan dengan adanya jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air. Konsentrasi yang lebih tinggi dari senyawa flavonoid terdeteksi dengan etanol 70 % karena polaritasnya yang lebih tinggi daripada etanol murni (Tiwari *et al.* 2011).

**3.3 Kloroform.** Terpenoid lakton telah diperoleh dengan ekstraksi berturut-turut menggunakan n-heksan, kloroform dan metanol dengan konsentrasi aktivitas tertinggi terdapat dalam fraksi kloroform. Terkadang tanin dan terpenoid ditemukan dalam fase air, tetapi lebih sering diperoleh dengan pelarut semipolar (Tiwari *et al.* 2011).

**3.4 Aseton.** Pelarut aseton dapat melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan lipofilik dari tumbuhan. Keuntungan pelarut aseton yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap, dan memiliki toksisitas rendah (Tiwari *et al.* 2011).

## **D. Antiinflamasi**

### **1. Definisi antiinflamasi**

Inflamasi adalah respon perlindungan normal terhadap cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya, atau agen

mikrobiologi. Inflamasi juga merupakan usaha tubuh untuk menginaktifkan atau menghancurkan organisme penginvasi, menghilangkan iritan, dan persiapan tahapan untuk perbaikan jaringan (Richard & Pamela 2009).

Lima ciri khas inflamasi yang dikenal sebagai tanda utama inflamasi yaitu eritema, edema, panas, nyeri, dan hilangnya fungsi. Eritema (kemerahan) terjadi pada tahap pertama dari inflamasi, darah akan berkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, dan histamin) mendilatasi arteriol. Edema (pembengkakan) merupakan tahap kedua dari inflamasi, pada edema plasma merembes ke dalam jaringan intestinal pada tempat cedera sehingga dapat mendilatasi arteriol dan meningkatkan permeabilitas kapiler. Panas dapat disebabkan karena bertambahnya pengumpulan darah atau karena pirogen (substansi yang menimbulkan demam) yang menganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus. Nyeri disebabkan oleh penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan dan karena rasa nyeri, keduanya mengurangi mobilitas pada daerah yang terkena antiinflamasi (Kee & Hayes 1996).

Inflamasi atau radang dibagi menjadi 3 fase yaitu inflamasi akut, respon imun, dan inflamasi kronis. Inflamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan. Respon imun terjadi apabila sejumlah sel yang mampu menimbulkan kekebalan diaktifkan untuk merespon organisme asing untuk substansi antigenetik yang terlepas selama respon inflamasi akut dan inflamasi kronis melibatkan keluarnya sejumlah mediator yang tidak menonjol dalam respon akut (Katzung 2002).

## 2. Tanda-tanda inflamasi

Tanda-tanda inflamasi menurut (Price & Wilson 2005) adalah sebagai berikut :

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

**2.2 Kalor (panas).** Sama dengan mekanisme terjadinya Rubor yaitu karena disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah (banyaknya darah yang disalurkan), atau mungkin karena pirogen yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus.

**2.3 Dolor (rasa sakit).** Dolor disebabkan dengan banyak cara, perubahan lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung saraf, timbulnya keadaan hiperalgesis akibat pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin atau zat kimia bioaktif lainnya dapat merangsang saraf, pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan peningkatan tekanan lokal juga dapat merangsang saraf.

**2.4 Tumor (pembengkakan).** Gejala yang paling mencolok dari peradangan akut adalah tumor atau pembengkakan yang ditandai adanya aliran plasma ke daerah jaringan yang cedera.

**2.5 Funsio lansea (gangguan fungsi).** Adanya perubahan, gangguan dan kegagalan fungsi telah diketahui pada daerah yang Bengkak dan sakit disertai adanya sirkulasi yang abnormal akibat penumpukan dan aliran darah yang meningkat juga menghasilkan lingkungan lokal yang abnormal sehingga tentu saja jaringan yang terdapat inflamasi tersebut tidak berfungsi secara normal.

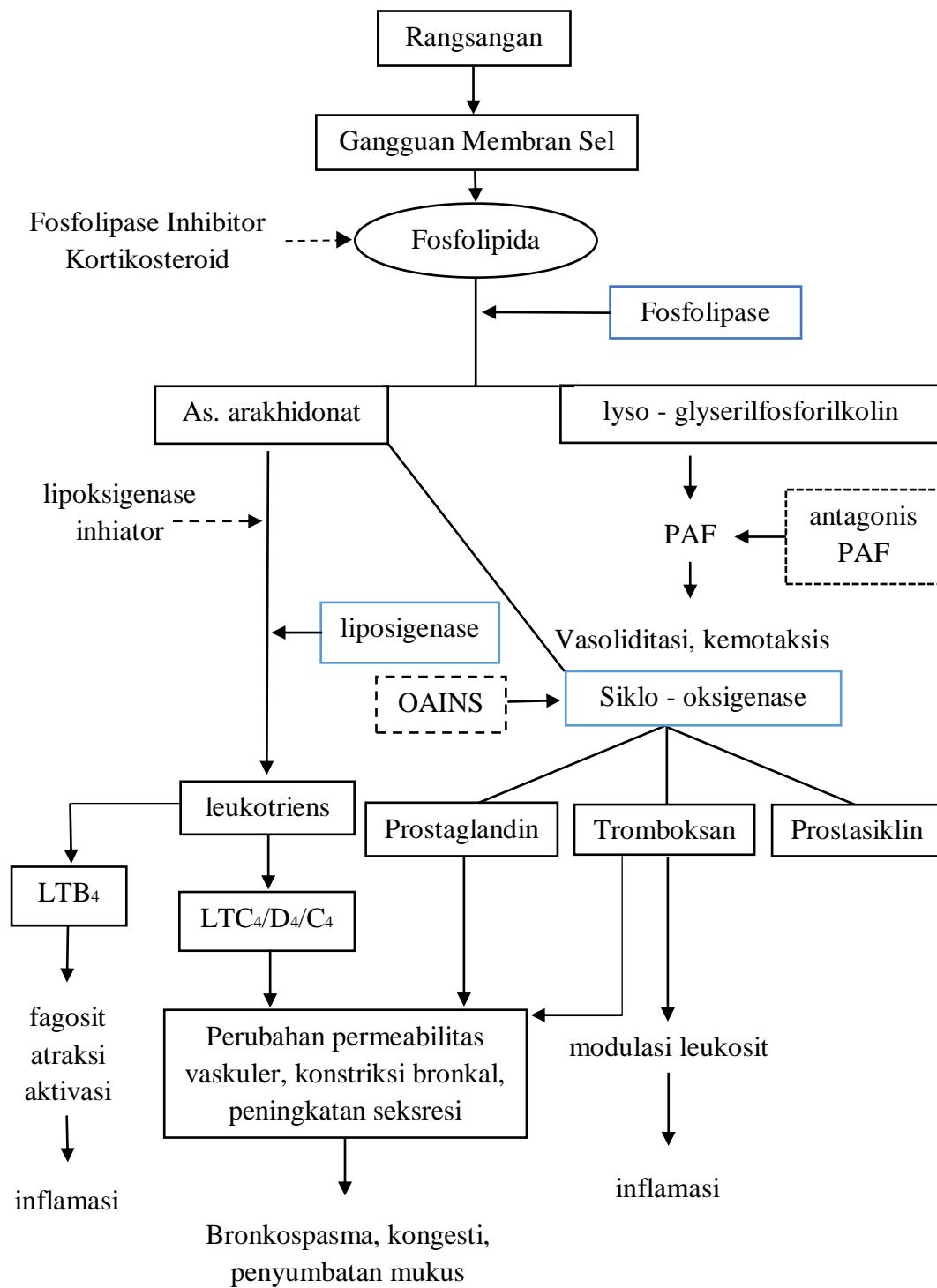
### 3. Mekanisme antiinflamasi

Bila membran sel mengalami gangguan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis maka enzim fosfolipase akan diaktifkan untuk mengubah enzim fosfolipida yang terdapat disitu menjadi asam arakhidonat. Fosfolipida selain diubah menjadi arakhidonat oleh enzim fosfolipase juga diubah menjadi lyso-glyseril-fosforilkolin yang kemudian diubah lagi menjadi *platelet activating factor* (PAF). *Platelet activating factor* menyebabkan agregasi dan pelepasan trombosit, vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler, peningkatan adhesi leukosit, dan kemotaksis leukosit. Asam arakhidonat dimetabolisme menjadi dua jalur utama yaitu jalur siklooksigenase (COX) dan jalur lipooksigenase. Enzim siklooksigenase yang terlibat dalam reaksi ini terdiri dari dua isoenzim, yakni siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Enzim siklooksigenase-1 kebanyakan terdapat di dalam jaringan antara lain pelat-pelat

darah, ginjal, dan saluran cerna, sedangkan enzim siklooksigenase-2 dalam keadaan normal tidak terdapat pada jaringan, tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang dan kadarnya dalam sel meningkat sampai 80 kali (Tjay & Raharja 2002).

Asam arakhidonat yang dikatalisis oleh siklooksigenase diubah menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi zat prostaglandin. Peroksida melepaskan radikal bebas oksigen yang juga memegang peranan timbulnya nyeri. Prostaglandin yang dibentuk ada tiga kelompok yaitu prostaglandin (PG), prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), dan tromboksan (TXA<sub>2</sub>, TXB<sub>2</sub>). Prostaglandin dapat dibentuk oleh semua jaringan, yang terpenting adalah PGE<sub>2</sub> dan PGF<sub>2</sub> yang berdaya vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas dinding pembuluh dan membran sinovial sehingga terjadi radang dan nyeri. Prostasiklin terutama dibentuk di dinding pembuluh dan berdaya vasodilatasi. Tromboksan khusus dibentuk dalam trombosit berdaya vasokonstriksi (antara lain di jantung) (Tjay & Rahardja 2002).

Bagian lain dari asam arakhidonat diubah oleh enzim lipoksgenase menjadi zat leukotrien (LT). LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, dan LTE<sub>4</sub> dibentuk sebagai hasil dari metabolisme ini. LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, dan LTE<sub>4</sub> terutama dibentuk dalam eosinofil dan menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler. LTB<sub>4</sub> khusus disintesis di makrofag dan neutrofil alveolar dan bekerja kemotaksis yaitu menstimulasi migrasi leukosit (Tjay & Rahardja 2002).



Gambar 2. Skema mekanisme antiinflamasi (Katzung 2002; Rang, Dale, Roter dan Moore 2003).

#### **4. Obat anti inflamasi**

**4.1 Obat anti inflamasi non steroid.** Aktivitas antiinflamasi OAINS diperantarai terutama melalui inhibisi biosintesis prostaglandin. Berbagai macam OAINS memiliki kemungkinan mekanisme kerja tambahan, termasuk inhibisi kemotaksis, penurunan produksi interleukin-1, penurunan produksi radikal bebas dan superokksida, dan gangguan dengan kejadian intrasel yang diperantarai kalsium.

Selektivitas COX-1 dan COX-2 bervariasi dan tidak komplit pada obat-obat lama, tapi penghambat COX-2 yang sangat selektif, yakni celecoxib, saat ini sudah sedia dan sedang dikembangkan coxib lain yang juga sangat selektif. Penghambat COX-2 yang sangat selektif tidak mempengaruhi fungsi pada trombosit pada dosisnya yang normal. Pada uji coba menggunakan darah lengkap manusia, aspirin, indometasin, piroxicam, dan sulindak ternyata lebih selektif dalam menghambat COX-1. Ibuprofen dan meclofenamate setara dalam menghambat kedua isoenzim (Katzung 2007).

**4.1.1 Celekoksib.** Celekoksib merupakan penghambat COX-2 selektif. Celekoksib menyebabkan lebih sedikit ulkus endoskopik daripada kebanyakan OAINS lainnya, Celekoksib juga tidak mempengaruhi agregasi trombosit pada dosis biasa dan hanya berinteraksi sesekali dengan warfarin (Katzung 2007).

Penyerapannya dikurangi 20-30 % oleh makanan dan waktu paruh efektifnya kira-kira 11 jam. Celekoksib efektif pada dosis 100-200 mg dengan pemakaian dua kali sehari untuk terapi artritis rematoid dan osteoarthritis (Katzung 2002).

**4.1.2 Na diklofenak.** Diklofenak adalah derivat sederhana dari *phenylacetic acid* (asam fenilasetat) yang menyerupai fibrinogen dan meclofenamate. Obat ini termasuk penghambat non selektif dan kuat, juga dapat mengurangi bioavailabilitas asam arakhidonat. Diklofenak biasa digunakan untuk antinflamasi, analgesik, dan antipiretik. Obat ini cepat diserap sesudah pemberian oral, tetapi bioavailabilitas sistemiknya hanya antara 30-70 % karena metabolisme lintas pertama dan memiliki waktu paruh 1-2 jam (Katzung 2002).

Efek samping terjadi pada 20 % pasien yang meliputi gangguan saluran cerna, pendarahan samar saluran cerna, dan ulkus lambung meskipun ulkus

lambung lebih jarang terjadi pada beberapa OAINS lainnya. Diklofenak pada dosis 150 mg/hari tampaknya mengganggu aliran darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus, peningkatan aminotransferase serum dapat terjadi lebih sering pada obat ini daripada OAINS lainnya (Katzung 2007).

**4.1.3 Aspirin.** Aspirin adalah asam organik lemah yang unik diantara OAINS, yaitu aspirin mengasetilasi secara ireversibel (sehingga menginaktifkan) siklooksigenase. Aspirin di deasetilasi secara cepat oleh esterase dalam tubuh yang menghasilkan salisilat yang berefek sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan analgesik. Aspirin juga dapat menekan rangsangan nyeri pada area subkorteks (yaitu talamus dan hipotalamus) (Richard & Pamela 2009).

**4.1.4 Meloksikam.** Meloksikam digunakan untuk mengobati RA, *ankylosing spondilitis*, dan osteoarthritis. Meloksikam memiliki waktu paruh yang panjang sehingga dapat diberikan satu kali sehari kepada pasien. Meloksikam menghambat baik COX-1 dan COX-2 tetapi lebih terikat kepada COX-2. Pada dosis rendah meloxicam menunjukkan iritasi yang lebih kecil dari piroksikam. Meloksikam pada dosis tinggi termasuk OAINS non selektif sehingga dapat menghambat COX-1 dan COX-2. Ekskresi pada meloksikam lebih dominan dalam bentuk metabolit dan terjadi secara seimbang dalam urine dan feses (Richard & Pamela 2009).

**4.1.5 Indometasin.** Indometasin merupakan penghambat COX non selektif yang poten dan dapat juga menghambat fosfolipase A dan C, menurunkan migrasi neutrofil, dan menurunkan poliferasi sel T dan sel B. Indometasin diindikasikan untuk keadaan reumatik dan khususnya populer untuk gout dan spondilitis ankilosa (Katzung 2007).

**4.1.6 Naproksen.** Naproksen merupakan suatu turunan asam naftilpropionat. Obat ini merupakan penghambat COX non selektif. Fraksi bebas naproksen secara bermakna lebih tinggi pada perempuan daripada laki-laki, meskipun ikatan albumin sangat tinggi pada kedua jenis kelamin. Naproksen efektif untuk indikasi reumatologik yang biasa dan tersedia dalam bentuk suspensi oral. Suatu sediaan topikal dan larutan oftalmik juga tersedia (Katzung 2007).

**4.2 Obat antiinflamasi steroid.** Obat golongan ini bekerja dengan cara menghambat fosfolipase, suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakhidonat dari membran lipid. Contoh obat yang termasuk ke dalam golongan obat ini adalah : prednison, hidrokortison, deksametason, dan betametason (Katzung 2007).

## E. Uji Antiinflamasi

### 1. Induksi udem pada kaki tikus dengan karagenan

Induksi karagenan menghasilkan peradangan akut pada hewan uji, fase awal inflamasi menyebabkan udem (0-1 jam) dengan melepaskan histamin, 5-hidroksitriptamin dan bradikinin. Kemudian reaksi lambat (1-6 jam) melepaskan prostaglandin dan sitokin agen proinflamasi (Corsini *et al.* 2005). Obat ini dapat diberikan secara oral. Volume udem kaki diukur dengan alat pletismometer dan aktivitas inflamasi obat akan ditunjukkan oleh kemampuan obat uji mengurangi udem yang diinduksi pada telapak kaki hewan uji (Suralkar *et al.* 2008).

### 2. Induksi dengan asam asetat

Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas inhibisi obat terhadap peningkatan permeabilitas vaskular yang diinduksi oleh asam asetat secara intraperitoneal. Evan's blue 10 % (pewarna) disuntikkan secara intravena, aktivitas inhibisi obat uji terhadap peningkatan permeabilitas vaskular ditunjukkan oleh kemampuan obat uji dalam mengurangi konsentrasi pewarna yang menempel dalam ruang abdomen yang disuntikkan sesaat setelah induksi asam asetat (Suralkar *et al.* 2008).

### 3. Induksi udem pada kaki tikus dengan formalin

Metode ini dilakukan dengan mengukur perenggangan kaki tikus setelah diberi induksi formalin. Hewan uji diberi bahan obat yg dilarutkan dalam tween 80 dan 0,9 % (b/v) larutan Salin sebagai kontrol positif dan diberikan secara intraperitoneal. Tikus tersebut ditempatkan pada kandang yang digunakan sebagai tempat observasi satu jam sebelum pengujian. Kontrol positif diberikan 30 menit sebelum injeksi formalin dan sampel diberikan secara peroral 60 menit sebelum injeksi formalin. Formalin 1 % diinjeksikan pada permukaan dorsal dari telapak

kaki kanan. Waktu telapak kaki meregang dicatat 5 menit dan pada saat 15-40 setelah injeksi formalin. Waktu yang dibutuhkan untuk meregangkan telapak kaki dihitung dengan stopwatch (John & Shobana 2012).

#### **4. Udemai telinga diinduksi minyak croton pada tikus dan mencit**

Hewan yang digunakan adalah tikus jantan Sprague-dawley dengan berat badan 160-200 g, bagian perut tikus dicukur bulunya. 5 ml/kg dari 1 % cairan evan's blue disuntikkan secara intravena, satu jam kemudian tikus diinjeksi secara peritoneal atau oral dengan senyawa yang diujikan. Tiga puluh menit setelahnya tikus diberikan anastetik menggunakan eter dan 0,05 ml dari 0,01 % cairan dari campuran 48/80 diinjeksikan secara intrakutan pada tiga tempat di bagian kiri dan bagian perut. Sembilan puluh menit kemudian tikus dikorbankan, kulit abdominal diambil dan area inflirtasi dye dicukur. Evaluasi hasil yaitu diameter dari area infiltrasi dye dicukur dalam milimeter dari dua arah tegak lurus dan nilai rata-rata seluruh tempat injeksi dari satu hewan uji dihitung. Presentase penghambatan pada hewan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol (Vogel *et al.* 2002).

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

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

### **F. Karagenan**

Karagenan merupakan polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut famili eucheua, chondrus, dan gigartina. Bentuknya berupa serbuk berwarna putih

hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentukan gelnya, karagenan dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu lamda karagenan, iota karagenan, dan kappa karagenan. Karagenan memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80 °C (Rowe *et al.* 2006).

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. Karagenan dapat menyebabkan edema melalui tiga fase, yang pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi 1,5 jam hingga 2,5 jam setelah induksi dan fase terakhir pada 3 jam setelah induksi terjadi pelepasan prostaglandin, pembentukan udem yang diinduksi oleh karagenan akan berkembang dengan cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi (Lumbanraja 2009; Morris 2003).

## G. Lambung

### 1. Anatomi lambung

Lambung merupakan organ gabungan eksokrin dan endokrin yang mencernakan makanan dan mensekresi hormon. Lambung merupakan segmen saluran pencernaan yang melebar, fungsi utama dari lambung adalah menambah cairan pada makanan yang dimakan dan mengubahnya menjadi bubur yang liat dan melanjutkan proses pencernaan karbohidrat yang diawali di daerah mulut, menambah cairan asam untuk mencerna makanan, mengubahnya dengan aktivitas otot menjadi massa yang viskus (*chyme*), dan memulai pencernaan protein dengan enzim pepsin. Lambung juga dapat memproduksi enzim lipase lambung yang akan mencerna trigliserida dengan bantuan lipase ludah (Fitrie 2004).

Pada pemeriksaan histologi kemanan lambung dapat dibedakan menjadi 4 anatomi yaitu kardia, fundus, korpus dan pilori. Bagian fundus dan korpus memiliki struktur, mikroskopis yang hampir sama sehingga secara histologi hanya akan diperiksa tiga daerah saja yaitu bagian pertama adalah kardia yang berbentuk sabuk melingkar sempit selebar 1,5-3 cm yang terletak diantara esofagus dan

lambung. Bagian lambung kedua adalah fundus dan korpus yang terdapat sel-sel utama mukosa (*chief cells*) yang bertugas mensekresi prekursor enzim pepsinogen. Sel-sel parietal yang melalui histamin akan melepaskan HCL (asam lambung) dan hormon instrinsik faktor. Bagian ketiga yang akan diperiksa 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 kalenjer lambung, di lokasi ini terdapat pula sel-sel mucus yang mensekresi lendir (Junquiera & Carneiro 2007; Tjay & Raharja 2007).

Secara mikroskopis lambung terdiri dari tiga lapisan, yaitu lapisan mukosa, lapisan submukosa, dan muskularis eksterna ( Bloom & Fawcett 2002). Mukosa terdiri atas lipatan-lipatan longitudinal disebut *rugae* yang memungkinkan terjadinya distensi lambung sewaktu diisi makanan. Submukosa tersusun atas jaringan areolar longgar yang menghubungkan lapisan mukosa dan lapisan muskularis eksterna. Jaringan ini memungkinkan mukosa bergerak dengan gerakan peristaltik. Lapisan ini juga mengandung pleksus saraf, pembuluh darah, dan saluran limfe. Bagian muskularis eksterma tersusun dari tiga lapis otot polos yaitu lapisan longitudinal di bagian luar, lapisan sirkuler di bagian tengah, dan lapisan oblik di bagian dalam (Price & Wilson 2005).

## 2. Kerusakan pada lambung

Pada keadaan normal, asam lambung dan pepsin tidak akan menyebabkan kerusakan mukosa lambung dan duodenum. Bila ketahanan mukosa rusak maka akan terjadi difusi balik  $H^+$  dari lumen masuk ke dalam mukosa. Difusi balik  $H^+$  akan menyebabkan reaksi berantai yang akan menyebabkan kerusakan pada mukosa (Enaganti 2006).

Pada gangguan lambung didapatkan gambaran mukosa tampak memerah, edema, ditutupi oleh mukus yang melekat serta sering disertai erosi kecil dan pendarahan. Gastritis akut mereda jika agen penyebab dihilangkan (Price & Wilson 2006). Tukak peptik merupakan suatu defek mukosa/submukosa yang berbatas tegas dapat menembus muskularis mukosa sampai lapisan serosa sehingga dapat terjadi peforasi (Akil 2006).

Patofisiologi terjadinya gastritis dan tukak peptik adalah ketidak seimbangan antara faktor agresif yang dapat merusak mukosa lambung dan faktor defensif yang memelihara keutuhan mukosa lambung. Contoh dari faktor agresif adalah asam lambung, pepsin, refluks asam empedu, nikotin, OAINS, kortikosteoid, dan kuman *Helicobacter pylori* sedangkan faktor defensif adalah aliran darah mukosa, sel epitel permukaan, prostaglandin, fosfolipid atau surfaktan, musin atau mukus, bikarbonat, motilitas, impermeabilitas mukosa terhadap ion H<sup>+</sup>, dan regulasi pH intrasel. Telah diketahui bahwa OAINS menyebabkan kerusakan mukosa gastroduodenal, usus halus, dan kolon. Yang perlu diketahui dalam klinik adalah 40-60 % penderita dengan lesi mukosa tidak mengalami gejala atau keluhan sama sekali (Simadibrata 2005).

Terdapat 2 mekanisme utama patogenik kerusakan mukosa gastrointestinal karena OAINS. Yang pertama adalah efek topikal yang menyangkut pada “uncoupling of mitochondrial oxidative phosphorylation” dan peningkatan permeabilitas. *Oxidative phosphorylation* adalah jalur metabolismik yang menggunakan energi dari suatu reaksi kimia untuk memproduksi ATP. Selama proses *oxydative phosphorylation*, elektron ditransfer dari donor ke akseptor melalui reaksi redoks. Reaksi redoks akan membebaskan energi yang digunakan untuk membentuk ATP. Aliran elektron melalui rantai transport elektron merupakan reaksi eksnergonik yang akan menghasilkan energi, sedangkan sintesis ATP merupakan suatu reaksi endogenik yang membutuhkan input energi. Dua reaksi ini akan terjadi secara berpasangan (Dimroth *et al* 2000).

Mekanisme kedua merupakan efek sistemik yang menginhibisi *cyclooxygenase-1* (COX-1). OAINS dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas yang memperberat kerusakan mukosa gastrointestinal melalui kerusakan membran sel, perubahan kode genetik, dan kerusakan DNA (Simadibrata 2005).

### 3. Pertahanan mukosa lambung

Faktor pertama dari pertahanan lambung adalah faktor preepitelial yang terletak secara merata lapisan permukaan sel epitel mukosa saluran pencernaan, cairan mukus dan bikarbonat yang disekresikan oleh kalenjer-kalenjer dalam mukosa lambung berfungsi sebagai faktor preepitelial untuk pertahanan lapisan

epitel terhadap enzim-enzim proteolitik dan asam lambung. Bikarbonat berfungsi sebagai menetralisir keasaman di sekitar lapisan sel epitel. Suasana netral pada lambung dibutuhkan agar enzim-enzim dan transpor aktif di sekeliling dan dalam lapisan sel epitel mukosa dapat bekerja dengan baik (Guyton 1995).

Integritas mukosa lambung terjadi akibat penyediaan glukosa dan oksigen secara terus menerus. Aliran darah pada mukosa akan mempertahankan mukosa lambung melalui oksigenasi jaringan yang memadai dan sebagai sumber energi. Selain sebagai mempertahankan mukosa lambung, fungsi aliran darah pada mukosa juga dapat berfungsi sebagai buffer difusi balik ion H<sup>+</sup>.

Pada selaput lendir pencernaan juga terdapat komponen protektif mukosa lambung yaitu prostaglandin (PG) (Julius 1992). Prostaglandin merupakan kelompok senyawa turunan asam lemak arakhidonat yang dihasilkan melalui jalur siklooksigenase (COX). Prostaglandin dapat meningkatkan resistensi selaput lendir terhadap iritasi mekanis, osmotis, termis atau kimiawi dengan cara regulasi sekresi asam lambung, sekresi mukus, bikarbonat, dan aliran darah pada mukosa. Pengurangan prostaglandin pada selaput lendir dapat memicu terjadinya ulcer.

## H. Hewan Uji

### 1. Sistematika hewan uji

Sistematika hewan uji yang digunakan dalam percobaan ini menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut :

Filum	:	Chordata
Sub filum	:	Vertebrata
Kelas	:	Plasentalia
Bangsa	:	Rodentina
Suku	:	Muidae
Marga	:	Ratus
Jenis	:	Rattus norvegicus

### 2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus relatif resisten terhadap infeksi dan tikus merupakan hewan yang cerdas. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus tersebut bersifat

fotofobik seperti halnya mencit dan cenderung untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar, hal ini sangat berbeda dengan mencit. Suhu tubuh normal  $37,5^{\circ}\text{C}$ , hewan ini hendaknya tidak diperlakukan kasar karena tikus akan menjadi lebih kasar, sehingga tikus dapat menjadi agresif bahkan dapat menyerang pemegangnya (Sugiyanto 1995).

### **3. Jenis Kelamin**

Tikus jantan memiliki kondisi biologis serta sistem hormonal yang lebih stabil dibanding tikus betina, lebih tenang dan mudah ditangani. Tikus jantan juga memiliki kecepatan metabolisme obat lebih cepat daripada tikus betina. Perbedaan tersebut dikarenakan hormon testosteron menyebabkan peningkatan aktivitas metabolisme obat, sementara hormon estradiol mengurangi kecepatan metabolisme obat tertentu (Blodinger 1994).

### **4. Kondisi ruang hewan uji**

Kondisi ruang hewan uji harusnya memenuhi persyaratan seperti suhu, kelembaban, cahaya, dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, suhu yang digunakan dalam ruang hewan uji adalah  $22^{\circ}\text{C}-30^{\circ}\text{C}$  dengan kelembaban relatif 30-70% dan penerangan 12 jam terang dan 12 jam gelap.

Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan. Luas alas kandang yang digunakan untuk tikus adalah  $148,4 \text{ cm}^2$  dengan tinggi 17,8 cm (BPOM nomor 7 2014).

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

Teknik memegang dilakukan dengan cara mengangkat pangkal ekor tikus dengan menggunakan tangan kanan, lalu tikus diletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan di atas punggung tikus kearah kepala. Kepala tikus diletakkan diantara ibu jari dan jari tengah, kemudian jari manis dan kelingking disekitar perut sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantara jari-jari (Harmita & Radji 2005).

## **I. Landasan Teori**

Inflamasi merupakan respon pertahanan tubuh dari organisme penginvasi, menghilangkan iritan pada tubuh, dan persiapan tahapan untuk perbaikan

jaringan. Inflamasi dihubungkan dengan 3 fase yaitu, fase pertama diawali oleh degranulasi sel mast dan pelepasan histamin dan serotonin, fase kedua dikarakterisasi oleh pelepasan bradikinin dan nyeri, selanjutnya produksi eukosanoid pada fase terakhir (Mitul *et al.* 2012).

Pengobatan pasien dengan antiinflamasi pada umumnya untuk memperlambat atau membatasi proses kerusakan jaringan yang terjadi pada daerah inflamasi. Obat-obat modern yang banyak digunakan sebagai antiinflamasi adalah golongan non steroid (AINS) yang dapat menimbulkan efek samping merugikan tubuh salah satunya tukak lambung (Tan & Rahardja 2002). Oleh karena itu penggunaan tumbuhan dengan khasiat antiinflamasi perlu dikembangkan untuk pengobatan dan meminimalkan efek samping pada penggunaan obat antiinflamasi.

Salah satu tanaman yang digunakan untuk mengobati antiinflamasi adalah buah okra, menurut Shui & Peng (2004) kandungan dalam buah okra banyak mengandung flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi, flavonoid yang terkandung dalam buah okra salah satunya adalah derivat kuersetin (quercetin 3-O-xylosyl glucoside, quercetin 3-O-glucoside dan quercetin 3-O-(6'-O-malonyl)-glucoside). Menurut penelitian Liao *et al* (2012) telah ditemukan kandungan senyawa flavonol glikosida yang baru yaitu 5, 7, 3', 4'-tetrahydroxy-4''-O-methyl flavonol-3-O-β-D-glucopyranoside.

Flavonoid memiliki efek antiinflamasi dengan mekanisme menghambat aktivitas enzim sikloksigenase atau lipooksigenase secara langsung sehingga menyebabkan penghambatan biosintesis eicosanoid dan leukotrien (Nijveldt *et al.* 2001). Dari hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Shah & Seth 2010), buah okra diekstrak secara soxhletasi menggunakan pelarut metanol dan air dengan dosis masing-masing 250 mg/kg bb tikus, hasil dari ekstrak air buah okra tersebut dengan dosis 250 mg/kg bb dapat memberikan efek antiinflamasi yang bagus dibanding ekstrak metanol ditinjau dari penurunan volume edema telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi dengan karagenan.

Khasiat tanaman okra sebagai antiinflamasi juga didukung dengan adanya penelitian yang dilakukan Zannatul *et al* (2015) yang menguji ekstrak metanol

kulit buah okra yang berkhasiat sebagai antiinflamasi dan efektif menurunkan volume edema pada dosis 200 mg/kg bb tikus, dengan adanya penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa tanaman okra memiliki khasiat sebagai antiinflamasi.

Selain berkhasiat sebagai antiinflamasi, flavonoid turunan C Menurut Coskun *et al.* (2004) kuersetin dapat berguna sebagai proteksi terhadap tukak lambung yang telah diinduksi etanol dengan menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas enzim-enzim antioksidan, sehingga dengan adanya khasiat buah okra sebagai antioksidan maka dapat diuji keamanannya terhadap lambung apakah dapat memberi efek samping seperti obat NSAID atau tidak.

Pengujian antiinflamasi akan dilakukan dengan menggunakan dua metode, metode yang pertama yaitu metode pembuatan edema dengan menggunakan lamda karagenan karena paling cepat menyebabkan inflamasi dan memiliki bentuk gel yang baik. Metode kedua yang diuji adalah dilakukan penelitian terhadap keamanan histologi lambung, namun penelitian keamanan lambung dengan ekstrak etanol buah okra jarang dilakukan sehingga dilakukan observasi dan pemeriksaan terhadap keamanan mukosa lambung hewan uji tikus setelah perlakuan untuk mengetahui seberapa besar keamanan ekstrak etanol buah okra terhadap tikus yang diuji.

### **J. Hipotesis**

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

Pertama, ekstrak etanol buah okra memiliki aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenan.

Kedua, ekstrak etanol buah okra pada dosis tertentu memiliki efek antiinflamasi paling efektif pada tikus putih jantan galur wistar.

Ketiga, ekstrak etanol buah okra aman terhadap lambung tikus putih jantan galur wistar.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran pada penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) yang diperoleh di daerah kota Batu, Jawa Timur.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah okra segar berwarna hijau muda berumur 1,5 bulan dan dipetik pada bulan Januari tahun 2018 yang diperoleh di daerah kota Batu, Jawa Timur.

#### **B. Variabel penelitian**

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol buah okra dengan menggunakan pelarut etanol 96 %, efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra pada tikus jantan putih, kondisi peneliti, kondisi fisik hewan uji, kondisi laboratorium dan metode uji, serta keamanan terhadap lambung.

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

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

Variabel bebas adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol buah okra yang diinduksi pada hewan uji.

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian dan merupakan akibat dari variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antiinflamasi dengan berbagai konsentrasi pada volume udem telapak kaki tikus dan keamanannya pada lambung.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang secara tepat. Variabel terkendali yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kondisi fisik hewan uji meliputi usia, berat badan, jenis kelamin, lingkungan hidup, perlakuan oleh peneliti, metode kerja, jaringan yang diamati pada tungkai kaki belakang tikus, ekor, dan bagian lambung tikus.

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

Pertama, buah okra hijau adalah buah okra yang diperoleh dalam kondisi segar, berwarna hijau yang berumur 1,5 bulan dan diperoleh dari kota Batu, Jawa timur yang tidak dikupas kulitnya dan telah dipisahkan dari bijinya.

Kedua, serbuk buah okra adalah serbuk kering buah okra yang didapat dari buah okra yang telah melalui proses pengeringan dalam oven pada suhu 50 °C, dan diblender kemudian diayak dengan derajat halus nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol buah okra adalah ekstrak kental buah okra yang dihasilkan dari metode maserasi serbuk buah okra dengan pelarut etanol 96 % kemudian dipekatkan dengan alat *vaccum rotary evaporator*.

Keempat, tikus putih jantan adalah tikus putih dengan jenis kelamin jantan galur wistar dengan berat badan tikus antara 150-200 gram dan usia tikus 2-3 bulan.

Kelima, aktivitas antiinflamasi adalah kemampuan sediaan uji dalam menghambat volume udema kaki tikus yang diinduksi karagenan berdasarkan nilai AUC volume udem dan daya antiinflamasinya.

Keenam, keamanan pada lambung adalah kemampuan sediaan uji memberikan keamanan pada lambung yang ditunjukkan dengan tidak adanya tukak pada lambung yang dilihat melalui gambaran makroskopis dan gambaran mikroskopik pada lambung tikus.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat yang digunakan untuk maserasi yaitu mesin penyerbuk, corong kaca, gelas ukur, pisau untuk merajang, ayakan no.40, *beaker glass*, botol kaca gelap untuk maserasi, *rotary evaporator*, *waterbath*, *aluminium foil*, dan *sterling-Bidwell*. Alat yang digunakan untuk uji antiiflamasi yaitu alat suntik peroral, timbangan tikus, pletismometer, neraca analitik, alat bedah tikus, *cold plate*, *tissue processor*, *alat imbeding*.

### 2. Bahan

**2.1 Bahan sampel.** bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah okra hijau yang masih segar dan diperoleh dari kota Batu, Jawa Timur.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan adalah larutan etanol 96 % (pelarut), karagenan 1 %, (penginduksi edema), serbuk murni Natrium Diklofenak 50 mg (kontrol positif), CMC-Na yang sudah ditambahkan Air suling (kontrol negatif). Bahan kimia yang digunakan untuk pemeriksaan lambung adalah NaCl 0,9 %, formalin 30 % larutan salin, larutan Bouin, alkohol 70 %, alkohol 80 %, alkohol 90 %, alkohol 95 %, alkohol 98 %, xylen, paraffin, *hematoxyln*, gliserol, eosin. Bahan kimia yang digunakan sebagai identifikasi serbuk adalah serbuk Mg, HCl pekat 1 ml, amil alkohol, FeCl<sub>3</sub>, kloroform, asam asetat anhidrat H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, air suling.

### 3. Hewan Uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih berjenis kelamin jantan galur wistar, usianya 2-3 bulan dengan berat badan 150-210 gram.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. Determinasi tanaman okra

Determinasi tanaman okra bertujuan untuk menetapkan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini sudah sesuai dengan cara mencocokan morfologi tanaman terhadap kepustakaan dan dibuktikan. Determinasi dilakukan di dilakukan di Laboratorium Biologi fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

## **2. Pengeringan dan pembuatan serbuk buah okra**

Buah okra yang sudah diperoleh kemudian dicuci dengan air mengalir, pencucian dilakukan bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada buah okra. Buah okra yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 24 jam, setelah itu bahan yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender menjadi serbuk lalu diayak dengan menggunakan pengayak no. 40.

## **3. Penetapan kadar air**

Ditimbang sebanyak 20 gram serbuk kering daun okra kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *sterling-Bidwell* kemudian ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam dan dipanaskan sampai air tidak menetes lagi (kurang lebih 1 jam), kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume tetesan tadi dan dihitung % air dari berat contoh (Sudarmadji *et al.* 1997).

## **4. Pembuatan ekstrak etanolik buah okra**

Tanaman okra yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 800 gram dan dimasukkan ke dalam bejana atau botol kaca gelap, basahi serbuk dengan 75 bagian cairan penyari (6 L pelarut etanol 96 %) kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 hari disimpan terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Diperas kemudian ampasnya dicuci kembali dengan 25 bagian cairan penyari (2 L pelarut etanol 96 %), hingga diperoleh sarinya dan dipindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian disaring. Selanjutnya hasil ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dalam evaporator pada suhu 40 °C dan di oven sampai ekstrak mengental.

## **5. Uji bebas etanol**

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol buah okra sudah benar-benar tidak mengandung etanol. Uji bebas etanol dapat dilakukan dengan cara disiapkan dua beaker glass, wadah pertama diisi ekstrak dan wadah kedua diisi etanol. Setelah itu kedua wadah ditambahkan dengan CH<sub>3</sub>COOH dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kemudian dipanaskan, diamati hasil dari kedua wadah

apabila wadah pertama tidak menimbulkan bau ester seperti pada wadah kedua maka, ekstrak buah okra dapat dinyatakan bebas dari etanol.

## **6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk buah okra**

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk membuktikan kebenaran bahan atau zat aktif yang terkandung di dalam buah okra yang berperan sebagai antiinflamasi.

**6.1 Identifikasi flavonoid.** Ekstrak ditimbang 0,5 mg ditambahkan 5 ml etanol dimasukkan ke dalam tabung, serbuk Mg ditimbang sebanyak 2 mg dan dimasukkan ke dalam tabung, ditambahkan larutan alkohol : asam klorida (1:1) sebanyak 2 ml dan pelarut amil alkohol. Selanjutnya campuran dikocok kuat lalu dibiarkan memisah. Reaksi positif dilanjutkan dengan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Zaini 2016).

**6.2 Identifikasi tanin.** Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam cawan dan ditambah dengan 2 ml etanol 70 % dan diaduk, setelah diaduk ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 3 tetes, terbentuknya warna biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan menunjukkan adanya tanin (Mojab *et al.* 2003).

**6.3 Identifikasi saponin.** Ekstrak ditimbang 5 mg kemudian ditambahkan air panas 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dikocok vertikal selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil menunjukkan adanya saponin (Walidah 2014).

**6.4 Identifikasi steroid.** Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diberikan larutan etanol, kemudian ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat dan 2 ml asam asetat anhidra dan diamati. Adanya perubahan warna dari ungu menjadi biru atau larutan berwarna hijau menandakan adanya steroid (Mustikasari & Aryani 2008).

## **7. Penentuan dosis**

**7.1 Dosis karagenan 1%.** Karagenan ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9 % steril dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas. Larutan tersebut diinkubasi dalam suhu 37 °C selama 24 jam.

**7.2 Dosis sediaan uji.** Dosis uji berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh (Shah & Seth 2010) yang menggunakan ekstrak metanol dan ekstrak air pada buah okra sebagai antiinflamasi terbukti pada dosis 250 mg/kg dapat menurunkan volume edema pada kaki tikus. Volume maksimal larutan uji secara peroral yang dapat diberikan kepada tikus dengan berat 150-200 gram adalah 5 ml.

**7.3 Dosis natrium diklofenak.** Dosis yang digunakan pada manusia adalah 50 mg/kg BB manusia. Pemberian dosis dilakukan berdasarkan pada berat badan rata-rata manusia yaitu 70 kg. Faktor konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018 ml. Maka dosis natrium diklofenak manusia dengan bobot 70 kg dikonversikan ke tikus dengan bobot 200 g adalah 0,9 mg/200 g bb tikus.

## 8. Pembuatan sediaan uji

**8.1 Pembuatan CMC-Na.** Pembuatan larutan CMC-Na dibuat dengan cara ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan ke dalam cawan penguap yang berisi air panas secukupnya dan diaduk hingga mengembang. Ekstrak buah okra ditimbang sesuai dosis kemudian di gerus dalam mortir dan ditambahkan mucilago CMC-Na sampai volume yang diinginkan, aduk sampai terlihat homogen.

**8.2 Pembuatan larutan karagenan 1 %.** Pelarut yang digunakan untuk membuat larutan karagenan 1 % adalah larutan garam fisiologis konsentrasi 0,9 % dibuat dengan cara 0,9 gram NaCl dilarutkan dengan air suling hingga volume 100 ml. Setelah itu membuat larutan uji udem dengan cara menimbang sejumlah 1 gram karagenan lalu dilarutkan dalam 100 ml NaCl 0,9 % dalam *beaker glass*, sebelum disuntikkan larutan lamda karagenan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Bule 2014).

**8.3 Pembuatan suspensi natrium diklofenak.** CMC-Na ditimbang 100 mg kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam mortir yang berisi air panas dan diaduk tunggu sampai homogen dan mengembang. Natrium diklofenak ditimbang 100 mg dan dimasukkan ke dalam mortir yang berisi mucilago CMC-Na, digerus sambil ditambahkan air suling sampai volume 10 ml.

## **9. Perlakuan hewan uji**

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih berjenis kelamin jantan galur wistar, usianya 3-5 bulan dengan berat badan 150-210 g. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda, tikus yang digunakan sebanyak 25 ekor kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang sebelumnya sudah dipuaskan selama 16-24 jam.

## **10. Pengujian efek antiinflamasi ekstrak etanol buah okra**

Prosedur pengujian efek antiinflamasi ekstrak buah okra terhadap tikus putih jantan galur wistar setiap kelompok diberikan perlakuan sebagai berikut :

Kelompok 1. Tikus putih jantan galur wistar diberikan larutan CMC-Na secara peroral 1 jam sebelum pemberian karagenan 1 % secara intraplantar.

Kelompok 2. Tikus putih jantan galur wistar diberikan larutan natrium diklofenak sebanyak 0,9 mg/200 g bb tikus.

Kelompok 3. Tikus putih jantan galur wistar diberikan ekstrak etanol buah okra secara peroral dalam dosis 25 mg/kg bb, 1 jam sebelum pemberian karagenan 1 % secara intraplantar.

Kelompok 4. Tikus putih jantan galur wistar diberikan ekstrak etanol buah okra secara peroral dalam dosis 50 mg/kg bb, 1 jam sebelum pemberian karagenan 1 % secara intraplantar.

Kelompok 5. Tikus putih jantan galur wistar diberikan ekstrak etanol buah okra secara peroral dalam dosis 100 mg/kg bb, 1 jam sebelum pemberian karagenan 1 % secara intraplantar.

Masing-masing kaki diberi tanda dan dilakukan pengukuran  $V_0$  pada kaki tikus sebelum pemberian karagenan 1 % untuk mengetahui perubahan kaki tikus. Satu persatu dari salah satu kaki tikus diukur volume udemnya dengan cara mencelupkan kaki tikus ke dalam pletismometer untuk setiap selang waktu 1 jam selama 5 jam setelah penyuntikan suspensi karagenan.

## **11. Uji keamanan lambung pada tikus secara makroskopis**

Uji keamanan lambung dilakukan pada kelompok yang sama pada uji anttinflamasi dengan karagenan. Pemberian sediaan uji dilakukan secara terus menerus hingga hari ke-5 sebanyak 1 kali sehari secara peroral sesuai dengan dosis yang ditentukan. Pada hari ke-5, tikus-tikus tersebut dipuaskan selama 18

jam (diberi air seperlunya) dan pada hari ke-6 semua tikus dikorbankan dan diangkat lambungnya. Lambung tikus diperiksa secara makroskopik dan histologi untuk melihat adanya kerusakan atau ulkus pada lambung (Dewantara 2011; Kavitha 2012). Pemeriksaan makroskopis pada lambung dapat dilakukan dengan mengambil bagian perut tikus dan diletakkan pada kertas penyaring yang direndam larutan salin. Diiris membujur dengan gunting bedah sepanjang lekungan terbesar perut tikus. Bagian perut kemudian dibalik dan diletakkan di atas jari telunjuk dan diperiksa ada atau tidaknya iritasi pada lambung.

Kerusakan lambung dapat dihitung secara makroskopik dan diberi skor seperti pada tabel berikut :

**Tabel 1. Tabel skoring keparahan tukak (Gusdinar *et al.* 2009; Vogel *et al.* 2002)**

Jumlah Tukak	Kondisi Tukak	Skor
Lambung Normal	Lambung Normal	1
Bintik Berdarah	Bintik Berdarah	2
Jumlah Tukak 1-3 buah	Diameter tukak 0,5-1,5 mm	3
Jumlah Tukak 4-6 buah	Diameter tukak 1,6-4,0 mm	4
Jumlah Tukak 7-9 buah	Diameter tukak > 4,0 mm	5
Jumlah Tukak > 9 buah	Perforasi	6

Lambung yang telah mengalami tukak diambil gambarnya dan dihitung jumlah tukak serta pengukuran diameter tukak, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tingkat keparahan tukak dinyatakan sebagai indeks tukak kemudian dianalisa secara statistik dengan cara :

$$\text{Indeks tukak} = A + B$$

Keterangan :

A= rata-rata skor jumlah tukak  
B= rata-rata skor diameter tukak

## 12. Uji keamanan lambung pada tikus secara mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis dapat dilakukan setelah pemeriksaan makroskopis, organ lambung yang telah diambil kemudian di awetkan dengan cara diberi formalin untuk menjaga organ lambung agar tetap awet selama pemeriksaan mikroskopis. Setelah diawetkan pemeriksaan mikroskopis dapat dilakukan dengan tahapan-tahapan sesuai buku ajar histologi sebagai berikut :

### 12.1 Tahap fiksasi organ lambung dengan larutan formalin 10%.

Pada proses ini, organ lambung difiksasi dengan larutan formalin pada tabung 1

selama 2 jam dalam *tissue processor*. Kemudian lambung dipindahkan kedalam larutan alkohol 70 %. Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan struktur sel sehingga menjadi stabil secara fisik dan kimiawi juga dapat mencegah terjadinya dialisis atau pembengkakan pada ruptur. Setelah fiksasi jaringan, jaringan akan mengeras sehingga akan memudahkan dalam pemotongan makroskopis. Proses fiksasi yang sempurna akan mempercepat kerja alkohol dalam tahap dehidrasi, keuntungan dari fiksasi adalah dapat mengurangi resiko terkena infeksi bagi yang mengerjakannya.

**12.2 Tahap dehidrasi.** Proses berikutnya adalah proses dehidrasi menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat. Alkohol bertingkat yaitu proses dengan alkohol konsentrasi 70 %, 80 %, 95 % dan alkohol absolut. Alkohol pada tabung 2, 3 dan 4 diberikan masing-masing selama 1,5 jam, kemudian dimasukkan ke dalam alkohol absolut pada tabung 5 selama 1 jam, pada tabung 6 selama 1,5 jam dan tabung ke 7 selama 2 jam. Dehidrasi berfungsi untuk menghilangkan/ menarik kadar air dalam jaringan dengan cara mulai konsentrasi rendah sampai konsentrasi tinggi.

**12.3 Tahap clearing.** Jaringan yang sudah melalui tahap dehidrasi kemudian dilakukan tahap *clearing* menggunakan pelarut xylol pada tabung 8, 9 dan 10 masing-masing selama 1 jam dan 1,5 jam. Tahap *clearing* berfungsi untuk menarik keluar kadar alkohol yang berada dalam jaringan, memberikan warna yang bening pada jaringan dan juga sebagai zat perantara masuknya paraffin ke dalam jaringan.

**12.4 Tahap infiltrasi paraffin.** Pada tabung ke 11 dan 12 jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair masing-masing selama 1,5 jam dan 2 jam. Infiltrasi paraffin pada suhu 57 °C-59 °C berfungsi untuk mengisi rongga-rongga yang ada pada jaringan setelah melalui tahap *clearing*, tahap infiltrasi paraffin sebaiknya dilakukan tidak lebih dari 4 jam dan suhu melebihi 60 °C karena dapat mengakibatkan jaringan menjadi keras dan kering, jika dipotong dengan mikrotom akan mendapatkan hasil potongan pecah-pecah atau bergelombang dan pada saat pengecatan dimungkinkan akan lepas dari *objeck glass*.

**12.5 Tahap *embedding* dan pemotongan dengan mikrotom.** Jaringan yang telah selesai dalam alat *tissue processor* kemudian dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam cetakan blok yang sebelumnya sudah diisi dengan paraffin cair kemudian didinginkan di atas *cold plate*. Setelah itu blok paraffin yang sudah jadi dipotong dengan mikrotom memakai pisau disposable, culter tertentu, dan pisau kemudian dimasukkan ke dalam *waterbath* yang telah diisi air hangat dan diletakkan di dalam *objeck glass* dan diinkubasi di atas hot plate untuk mengeringkan menguapkan kadar air yang terbawa oleh hasil potongan/ pita sehingga jaringan menempel kuat pada *object glass*.

**12.6 Tahap *staining* dan pembacaan sampel.** Tahap staining jaringan meliputi deparafinasi yang berfungsi untuk menghilangkan paraffin pada preparat, rehidrasi yang berfungsi melarutkan/ melepaskan xylol yang terbawa oleh preparat, pengecatan dengan hematoksisilin yang berfungsi memberikan warna biru pada inti sel dan eosin yang berfungsi sebagai memberikan warna merah pada sitoplasma dan lainnya, dehiradrasi, *clearing*, dan mounting. Setelah itu dilakukan pembacaan sampel, pembacaan sampel bertujuan untuk mengamati letak kerusakan sel-sel epitel dan chef sel permukaan pada jaringan mukosa lambung dan menginterpretasikan parameter perubahan histologi jaringan mukosa lambung pada preparat uji (Mustaba *et al.* 2012). Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya terhadap sediaan histologi dengan pembesaran 10x dan 40x, lambung tikus diamati pada sel mukosanya apakah terdapat nekrosis atau tidak.

#### E. Analisis Hasil

Pengaruh pemberian ekstrak etanol buah okra terhadap efek antiinflamasinya diperoleh dengan menghitung volume udemnya. Data yang diperoleh berupa volume udem rata-rata pada waktu tertentu. Berikut cara menghitung volume udem :

$$V_u = V_t - V_0$$

Keterangan:

$V_u$  : Volume udem kaki tikus tiap waktu (t)

$V_t$  : Volume udem kaki tikus setelah diradangkan dengan karagenin 1% pada waktu ( $t$ )

$V_0$  : Volume udem kaki sebelum diradangkan dengan karagenin 1%

Setelah diperoleh volume udem, kemudian dibuat kurva perbandingan volume udem dengan waktu. AUC (*Area Under the Curve*) adalah luas daerah rata-rata di bawah kurva yang merupakan hubungan antara volume udem rata-rata tiap satuan waktu dengan lama waktu perlakuan. Rumus AUC adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

$V_{tn-1}$  : Volume udem rata-rata pada  $t_{n-1}$

$V_{tn}$  : volume udem rata-rata pada  $t$

Presentase daya uji antiinflamasi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

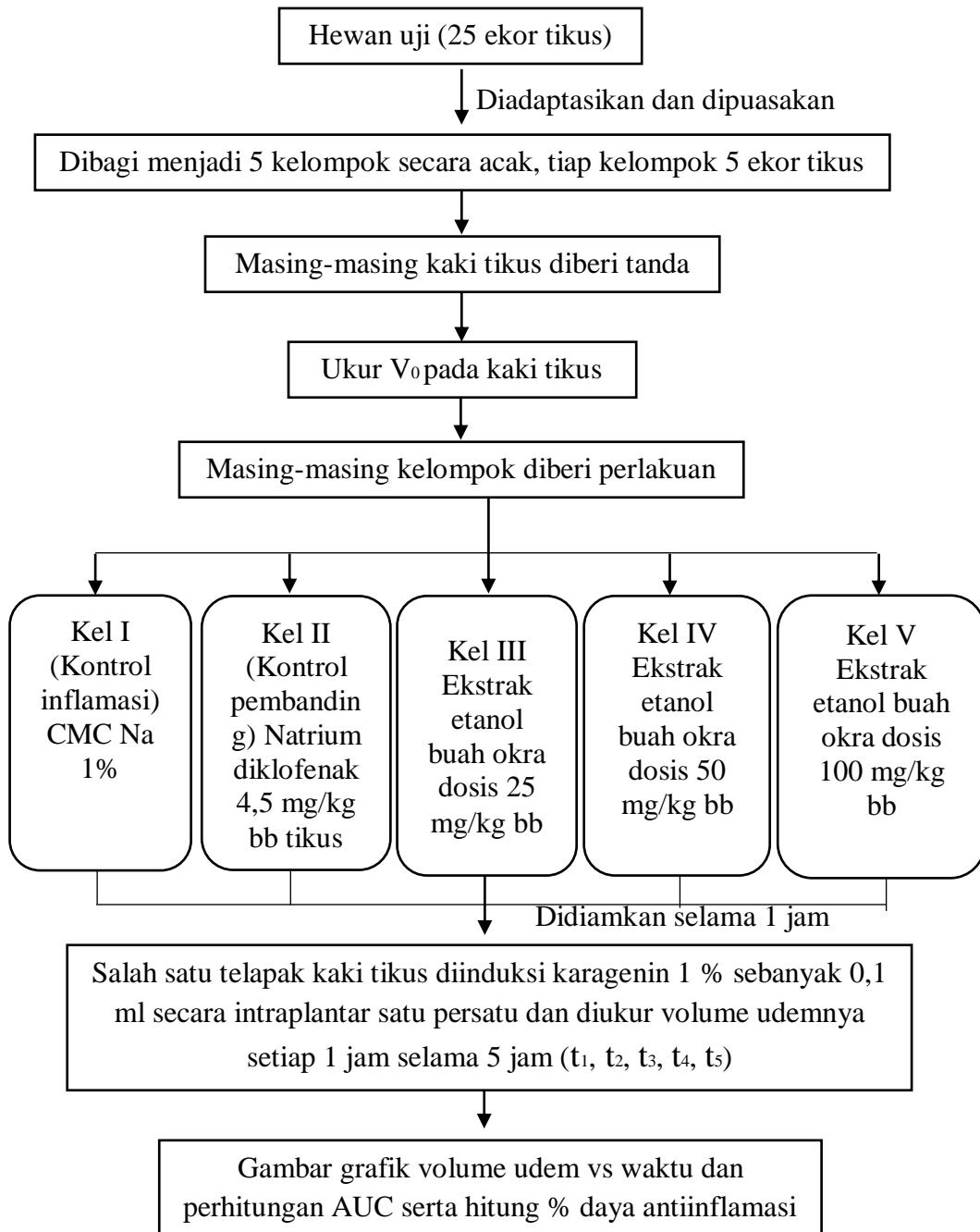
$$\% \text{ daya antiinflamasi} = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Keterangan:

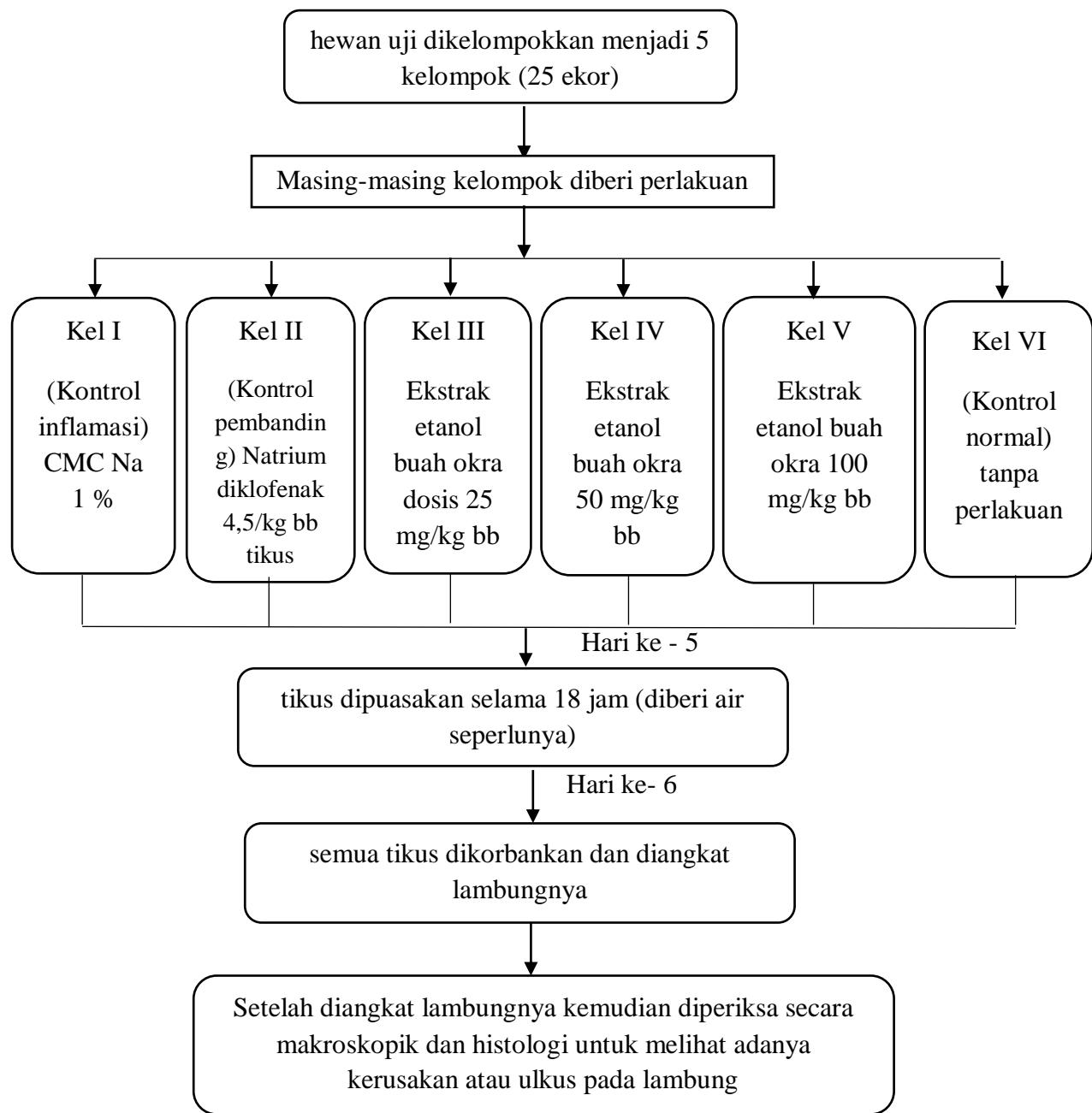
$AUC_k$  : AUC kurva volume udem rata-rata terhadap waktu untuk kontrol negative

$AUC_p$  : AUC kurva volume udem rata-rata terhadap waktu untuk kelompok perlakuan individu

Dari hasil pengukuran telapak kaki tikus dianalisis secara statistik dengan uji *Sapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, jika data terdistribusi normal ( $p>0,05$ ) maka akan dilanjutkan dengan menggunakan metode ANOVA *one away* kemudian dilanjutkan dengan uji *Student-Newman-Keuls<sup>a</sup>* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. Jika data tidak terdistribusi normal ( $p<0,05$ ) maka bisa dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan. Apabila terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji Mann-Whiteney untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan. Analisis statistik ini menggunakan program SPSS for windows release 17.



**Gambar 3. Skema uji efek antiinflamasi (karagenin)**



Gambar 4. Skema uji keamanan lambung

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Tanaman Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**

##### **1. Hasil determinasi tanaman okra hijau**

Determinasi terhadap tanaman okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) bertujuan untuk memastikan kebenaran bahan uji tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman okra dilakukan di Laboratorium Biologi fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan berpedoman pada buku C.A. Backer & R.C. Bachuizen Van dan Brink Jr (1963). Hasil determinasi tanaman okra sebagai berikut :

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32a - 33a - 34a - 35a - 36d - 37b - 38b - 39b - 41b - 42b - 44b - 45b - 46e - 50b - 51b - 53b - 54b - 56b - 57b - 58b - 59d - 72b - 73b - 74b - 631b - 632b - 633a - 634b - 635b - 637b - 638a - 639b - 640b - 652d - 653b - 655b - 656b - 656a - 657b - 658a - 659b -

660a \_\_\_\_\_ 96. *Malvaceae*

1b - 3b - 5b - 13b - 14b - 15b - 16a \_\_\_\_\_ 14. *Abelmoschus*

1b - 2b - 4b - 5b \_\_\_\_\_ *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench

Berdasarkan hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwa tanaman yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman okra. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

##### **2. Pengumpulan tanaman dan pengeringan buah okra**

Buah okra yang sudah didapatkan dari petani sebanyak 22.000 gram kemudian dilakukan sortasi basah, dirajang dan dikeringkan di bawah sinar matahari atau menggunakan oven. Hasil rendemen buah okra kering terhadap buah okra basah dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Rendemen buah okra kering terhadap buah okra basah**

<b>Berat buah basah (g)</b>	<b>Berat buah kering (g)</b>	<b>Rendemen (%) b/b</b>
22.000	3550	16,13

Pengeringan buah okra dilakukan untuk mencegah kerusakan kandungan zat aktif yang ada di dalam buah okra, mengurangi kadar air dalam buah okra, mencegah timbulnya mikroorganisme lain seperti jamur pada buah okra dan simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Depkes 2008). Setelah dikeringkan diperoleh berat buah okra kering sebanyak 3550 gram dan hasil rendemen yang didapatkan adalah 16,13 %. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5.

### **3. Hasil pembuatan serbuk buah okra**

Buah okra yang telah dikeringkan akan dihaluskan dan diayak dengan menggunakan ayakan mesh 40, pengayakan buah okra dilakukan untuk menghasilkan serbuk yang seragam dan homogen sehingga proses ekstraksi tanaman buah okra dapat berlangsung efektif

**Tabel 3. Rendemen berat serbuk terhadap buah kering**

<b>Berat buah kering (g)</b>	<b>Berat serbuk (g)</b>	<b>Rendemen (%) b/b</b>
3550	1800	50,70

Berdasarkan tabel 3 di atas diperoleh hasil rendemen berat serbuk buah okra terhadap berat buah okra adalah 50,70%. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5.

### **4. Hasil pembuatan ekstrak etanol buah okra**

Serbuk buah okra yang telah dihaluskan dan diayak, diambil sebanyak 800 gram untuk pembuatan ekstrak buah okra. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 96%, pelarut etanol 96% digunakan karena merupakan pelarut yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (Arifin *et al.* 2006). Serbuk okra yang telah halus diekstraksi dengan cara maserasi di dalam botol kaca gelap untuk menghindari sinar matahari langsung. Maserasi digunakan karena prosedur dan peralatannya sederhana, tidak melalui pemanasan sehingga bahan alam tidak terurai sehingga memungkinkan banyak senyawa terekstraksi (Heinrich 2004). Hasil maserasi kemudian diuapkan menggunakan evaporator yang bertujuan untuk memekatkan konsentrasi larutan sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi lebih tinggi dan

mengurangi kadar air yang ada di dalam tanaman okra. Hasil rendemen ekstrak etanol buah okra dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol buah okra**

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%) b/b
800	52,76	6,6

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat hasil ekstrak dari 800 gram serbuk buah okra adalah 52,76 gram dengan persen rendemen 6,6 %, hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol buah okra dapat dilihat pada lampiran 5.

### 5. Hasil penetapan kadar air serbuk buah okra

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan pelarut pembawa *xylene* yang bertujuan agar mutu dan khasiat serbuk buah okra tetap terjaga dan untuk mengetahui kelayakan sampel dalam pengujian, penetapan kadar air dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

**Tabel 5. Penetapan kadar air serbuk buah okra**

Penimbangan (g)	replikasi	Volume terbaca(ml)	Kadar air (%)
20.002	1	1,1	5,4
20.012	2	1,5	7,4
20.006	3	1,2	5,9
<b>Rata-rata</b>			
20.007		1,26	6,2

Hasil penetapan kadar air dari tabel 5 menunjukan bahwa kadar air serbuk buah okra memiliki persentase rata-rata sebesar 6,2%, hal ini membuktikan serbuk buah okra telah memenuhi persyaratan menurut BPOM RI nomor 12 (2014) yaitu tidak lebih dari 10%. Apabila kadar air buah okra lebih dari 10% akan menghambat proses ekstraksi, kualitas dari zat aktif yang terdapat dalam buah okra seperti falvonoid, tanin dan lain-lain akan menurun serta serbuk buah okra akan menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme lain seperti jamur dan bakteri karena air merupakan media yang disukai jamur untuk tumbuh dan berkembang biak. hasil perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 6 dan gambar pada lampiran 7.

### 6. Hasil uji bebas etanol

Ekstrak kental yang sudah didapatkan dari buah okra akan dilakukan uji bebas etanol atau biasa disebut dengan uji esterifikasi dengan tujuan untuk

mengetahui apakah ekstrak buah okra sudah benar-benar tidak mengandung etanol yang dapat mempengaruhi dalam pengujian ke hewan uji.

**Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah okra**

Prosedur	Hasil	Pustaka
Wadah 1 = ekstrak+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH	Wadah pertama tidak menimbulkan bau ester etil	Wadah pertama tidak menimbulkan bau ester etil
Wadah 2= etanol+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + CH <sub>3</sub> COOH	asetat seperti wadah kedua	asetat seperti wadah kedua
Kedua wadah dipanaskan		

Hasil dari tabel 6 bisa dilihat bahwa wadah pertama yang berisi ekstrak etanol buah okra tidak menimbulkan bau ester etil asetat seperti pada wadah kedua, wadah kedua berisi etanol yang berguna sebagai pembanding untuk mengetahui bagaimana bau dari ester etil asetat. Hasil lainnya dari uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 8

## 7. Hasil identifikasi kandungan ekstrak buah okra

Uji kualitatif pada serbuk dan ekstrak buah okra dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk buah okra dapat dilihat pada tabel 8 di bawah ini.

**Tabel 7. Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak buah okra**

Kandungan kimia	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Steroid	+	+

Hasil uji identifikasi kualitatif dapat dilihat pada tabel 7 dan menunjukkan bahwa buah okra memiliki kandungan flavonoid, tanin dan saponin. Hal ini berkaitan dengan penelitian yang dilakukan Susilawati *et al.*(2016) terhadap gedi hijau atau buah okra hijau secara kualitatif menunjukkan adanya reaksi positif untuk flavonoid dan saponin. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Shui & Peng (2004) mengatakan bahwa di dalam buah okra terdapat flavonoid turunan kuersetin, kuersetin di dalam buah okra dapat berkhasiat sebagai antioksidan seperti penelitian yang dilakukan oleh Attawodi (2009) mengatakan bahwa terdapat kuersetin sebanyak 1 mg/kg di dalam ekstrak metanol buah okra hijau. Gemedé *et al.* (2014) juga mengatakan bahwa tanaman okra juga mengandung

flavonoid, karbohidrat, protein dan vitamin. Lendir dari okra sendiri banyak mengandung protein dan mineral.

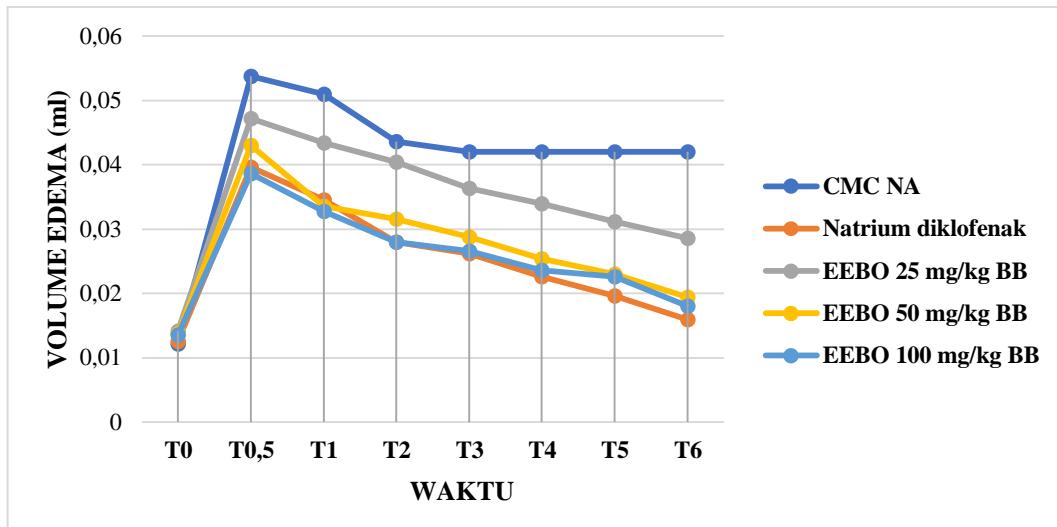
## B. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Buah Okra

### 1. Hasil uji antiinflamasi dengan metode induksi karagenan

Pengujian antiinflamasi ekstrak etanol buah okra ini menggunakan metode pembuatan udem pada telapak kaki tikus yang telah diinduksi dengan karagenan 1% sebanyak 1 ml. Metode pengujian dengan karagenan dipilih karena metode ini dapat menyebabkan udem pada telapak kaki tikus dan cedera sel yang selanjutnya akan dilepaskan mediator yang mengawali proses inflamasi, setelah pelepasan mediator inflamasi maksimal akan terjadi udem yang mampu bertahan selama 6 jam dan selanjutnya berangsurg-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Posadas *et al.* 2004). Mediator lain yang dapat menyebabkan inflamasi akut adalah mediator Nitrit Oxida (NO) yang diproduksi dalam 3 isoform yang berbeda nitric oxide synthase (NOS): NOS endotel (eNOS), NOS neuronal (nNOS) dan NOS yang dapat diinduksi (iNOS), Karagenan menyebabkan produksi dan pelepasan NO di lokasi yang terluka. Produksi dan pelepasan NO diduga berkontribusi terhadap kerusakan jaringan dan edema yang diinduksi inflamasi (Necas & Bartosikova 2013). Kontrol positif yang digunakan dalam uji ini adalah natrium diklofenak. Penggunaan natrium diklofenak sebagai kontrol positif karena obat ini termasuk obat antiinflamasi non selektif, bersifat kuat dan absorpsi diklofenak berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini dapat terikat 99% pada protein plasma dan mengalami *first-pass effect* sebesar 40-50% (Katzung 2002; Wilmana 2007).

Alat yang digunakan untuk pengukuran udem pada telapak kaki tikus adalah pletismometer, prinsip alat ini berdasarkan hukum Archimedes yaitu benda yang dimasukkan ke dalam zat cair akan memberi gaya atau tekanan ke atas sebesar volume yang dipindahkan. Telapak kaki tikus dicelupkan ke dalam air raksa sebelum dan sesudah induksi, kelompok uji dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing berisi 5 ekor tikus putih jantan. Kelompok uji antiinflamasi terdiri dari kontrol negatif (Cmc-Na), kontrol positif ( Natrium Diklofenak) dan variasi 3 dosis ekstrak etanol buah okra (25 mg/kg bb tikus, 50 mg/kg bb tikus, dan 100 mg/kg bb tikus). Pengamatan dilakukan selama 6 jam dengan rentang waktu 1

jam, Hasil dari pengamatan sebelum dan sesudah induksi secara intraplantar dari jam 0,5 sampai jam ke 6. Hasil uji rata-rata volume udema dan efek antiinflamasi sebelum dikurang T0 dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel 9.



**Gambar 5. Hasil uji efek antiinflamasi dengan metode karagenan**

Keterangan:

EEBO :Ekstrak etanol buah okra

**Tabel 8. Rata-rata selisih waktu udema**

Perlakuan	Rata-rata volume udema (ml) ± SD							
	T0	T0,5	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Kontrol (-)	0±0	0,0416±	0,0388±	0,0314±	0,0298±	0,0298±	0,0298±	0,0298±
CMC-Na		0,0046 <sup>b</sup>	0,0023 <sup>b</sup>	0,0026 <sup>b</sup>	0,0011 <sup>b</sup>	0,0011 <sup>b</sup>	0,0011 <sup>b</sup>	0,0011 <sup>b</sup>
Kontrol (+) Na-dik	0±0	0,027±	0,022±	0,0154±	0,0136±	0,01±0	0,007±	0,0034±
EEBO 25 mg/kg bb		0,0034 <sup>a</sup>	0,0044 <sup>a</sup>	0,0053 <sup>a</sup>	0,0046 <sup>b</sup>	,0035 <sup>b</sup>	0,0034 <sup>b</sup>	0,0023 <sup>b</sup>
EEBO 50 mg/kg bb	0±0	0,033±	0,0292±	0,0262±	0,0222±	0,0198±	0,017±	0,0144±
EEBO 100 mg/kg bb		0,0038 <sup>ab</sup>	0,0046 <sup>ab</sup>	0,0055 <sup>b</sup>	0,0048 <sup>ab</sup>	0,0048 <sup>ab</sup>	0,0054 <sup>ab</sup>	0,0043 <sup>ab</sup>
EBBO 100 mg/kg bb	0±0	0,0292±	0,0198±	0,0178±	0,015±	0,0116±	0,0092±	0,0056±
		0,0046 <sup>a</sup>	0,0039 <sup>a</sup>	0,0043 <sup>a</sup>	0,0031 <sup>a</sup>	0,0055 <sup>a</sup>	0,0046 <sup>a</sup>	0,0030 <sup>a</sup>

Keterangan:

a :berbeda bermakna dengan kontrol positif pada uji LSD

b :berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada uji LSD

Hasil dapat dilihat dari gambar 5, kontrol negatif menunjukkan peningkatan daripada kontrol positif dan kelompok ekstrak. Peningkatan pada kontrol negatif terjadi karena pada CMC-Na tidak ada efek antiinflamasi sehingga proses penghilangan mediator-mediator inflamasi dalam tubuh hanya terjadi secara

alamiah, kelompok negatif mengalami peningkatan hingga jam ke 2 dan stabil hingga jam ke 6. Karagenan yang telah diinduksi pada telapak kaki tikus memiliki 3 fase yaitu 90 menit pertama untuk pelepasan histamin dan serotonin, 1,5 jam untuk pelepasan bradikinin, dan 3 jam setelah induksi bradikinin dan bertahan paling lama hingga 6 jam setelah induksi (Morris 2003). Hal ini juga dapat memberikan pengaruh terhadap kontrol negatif sehingga terjadi peningkatan udem dan stabil hingga jam ke 6. Gambar 5 juga menunjukkan adanya penurunan udem terhadap kontrol positif dan kelompok esktrak etanol buah okra, pada kontrol positif menunjukkan penurunan pada jam ke 2, mengalami peningkatan sedikit dari jam ke 3 dan menurun hingga jam ke 6. Kontrol positif memiliki kurva paling rendah yang artinya Natrium diklofenak memiliki kemampuan menurunkan volume udem paling baik dari yang lain, Natrium diklofenak memiliki daya antiinflamasi lebih kuat dibanding AINS yang lain dan memiliki mekanisme kerja yang menghambat aktivitas enzim siklooksigenase yang berperan dalam metabolisme asam arakhidonat menjadi prostaglandin yang merupakan salah satu mediator inflamasi (Kertia 2009).

Kelompok esktrak etanol buah okra pada dosis 25 mg/kg bb mengalami penurunan yang stabil dari jam ke 2 hingga jam ke 6 dan memiliki perbedaan bermakna dari kontrol positif, ini artinya ekstrak etanol buah okra pada dosis 25 mg/kg bb memiliki efek antiinflamasi tetapi tidak sebaik dengan kontrol positif. Kelompok ekstrak 50 mg/kg bb dan 100 g/kg bb mengalami penurunan kurva dari jam ke 2 hingga jam ke 6, dapat dilihat pada gambar bahwa ekstrak etanol buah okra dengan dosis 50 dan 100 hampir setara dengan Natrium diklofenak. Hal ini membuktikan bahwa kandungan kimia yang ada di dalam ekstrak mampu bekerja dengan baik setara dengan Natrium diklofenak.

**Tabel 9. Rata-rata AUC<sub>total</sub> dan rata-rata DAI (%)**

Perlakuan	Rata-rata AUC <sub>total</sub> ± SD	Rata-rata % DAI ± SD
Kontrol negatif (CMC-Na)	0,185±0,0044 <sup>b</sup>	-
Kontrol positif (Na-diklofenak)	0,077±0,0196 <sup>a</sup>	58,04±10,79
Ekstrak dosis 25 mg/kg bb	0,130±0,026 <sup>ab</sup>	29,54±13,85 <sup>b</sup>
Ekstrak dosis 50 mg/kg bb	0,085±0,022 <sup>a</sup>	53,44±12,75
Ekstrak dosis 100 mg/kg bb	0,075±0,0151 <sup>a</sup>	59,23±8,45

Keterangan:

a :berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada uji LSD

b :berbeda bermakna dengan kontrol positif pada uji LSD

Data volume udem yang telah didapatkan akan digunakan untuk menghitung AUC dan persen daya antiinflamasi (% DAI). Penelitian ini menggunakan parameter AUC (*Area Under the Curve*) yaitu daerah di bawah kurva, semakin besar nilai di bawah kurva maka dapat dikatakan bahan uji dapat menghambat udem secara maksimal dan sebaliknya semakin kecil nilai dibawah kurva maka bahan uji tersebut minimal dalam menghambat volume udem. Hasil uji *Shapiro-wilk* data total AUC menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi ( $p>0,5$ ) dan homogen dengan nilai signifikansi 0,387 ( $>0,05$ ) kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dengan hasil nilai signifikansi 0,000 ( $<0,05$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, setelah itu dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil dari uji statistik menunjukkan bahwa kelompok negatif berbeda bermakna dengan kelompok positif dan kelompok ekstrak (25 mg/kg bb, 50 mg/kg bb, 100 mg/kg bb), hal ini membuktikan bahwa kelompok ekstrak etanol buah okra dengan variasi 3 dosis tersebut memiliki efek antiinflamasi sama dengan Natrium Diklofenak. Pada kelompok positif dapat dilihat dalam uji statistik yang menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol negatif dan ekstrak etanol buah okra dengan dosis 25 mg/kg bb yang berarti bahwa kontrol positif tidak sebanding dengan kelompok negatif dan kelompok ekstrak 25 mg/kg bb. Persen daya antiinflamasi untuk kontrol positif diperoleh sebesar 58,07% hal ini sebanding dengan penelitian yang dilakukan oleh Anggraini (2008) yang menunjukkan persen daya antiinflamasi Natrium Diklofenak sebesar 79,46% untuk dosis 2,25 mg/kg bb, hal ini membuktikan bahwa Natrium Diklofenak mampu bekerja sebagai antiinflamasi yang baik dengan cara menurunkan volume udema yang telah diinduksi oleh karagenan.

Berdasarkan uji *shapiro wilk* data DAI menunjukkan data terdistribusi normal ( $p>0,05$ ) dan homogen dengan nilai signifikansi 0,833 ( $>0,05$ ) kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dengan nilai signifikansi 0,03 ( $<0,05$ ) yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok, setelah itu dilakukan uji LSD dengan hasil yang sama dengan AUC yaitu adanya perbedaan

bermakna antara kontrol positif dengan ekstrak etanol 25 mg/kg bb yang berarti bahwa kontrol positif tidak sebanding dengan ekstrak 25 mg/kg bb sedangkan pada dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb menunjukkan efek antiinflamasi yang sebanding dengan kontrol positif.

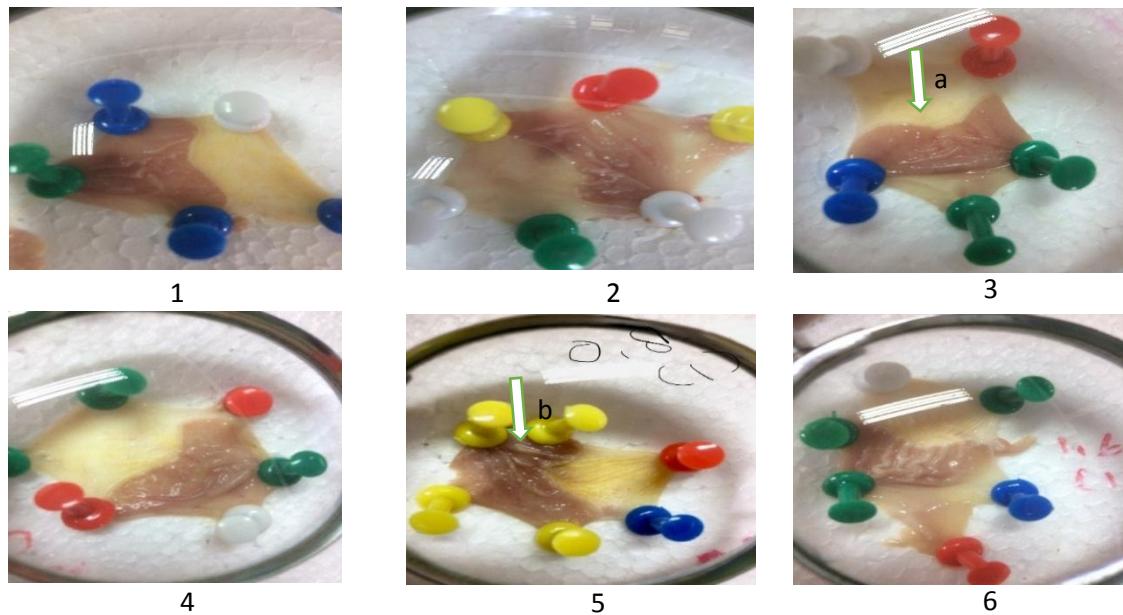
Efek yang sebanding ekstrak etanol buah okra pada dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb terhadap kontrol positif dikarenakan memiliki lebih banyak kandungan senyawa aktif dan jumlah yang terabsorbsi lebih banyak sehingga dapat memberikan efek antiinflamasi yang sebanding dengan kontrol positif, hasil identifikasi senyawa serbuk dan ekstrak buah okra mengandung flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Senyawa yang memberikan efek paling besar terhadap 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 O<sub>2</sub> sehingga dapat memicu terjadinya inflamasi (Gomes *et al.* 2008). Pada penelitian sebelumnya juga telah diteliti aktivitas kuersetin pada dosis 10 mg/kg dengan metode karagenan, efek antiinflamasi diketahui dari pengurangan radang pada mediator seperti COX-2, PGE2 pada hewan uji yang diinduksi karagenan. Kuersetin pada penelitian tersebut efektif ketika diberikan bersamaan atau satu jam setelah induksi karagenan sehingga dapat mencegah fase awal dan akhir dari respon inflamasi (Morikawa 2003).

Flavonoid yang ada di dalam buah okra dapat menghambat degranulasi netrofil sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil, efek flavonoid sebagai antiinflamasi juga dapat didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Senyawa saponin diduga mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid seperti fosfolipid yang merupakan prekursor prostaglandin dan mediator-mediator inflamasi lainnya sehingga saponin dapat berperan sebagai antiinflamasi (Gomes *et al.* 2008; Hidayati 2008). Steroid yang terdapat di dalam buah okra hijau dapat bersifat sebagai antiinflamasi dengan mekanisme kerja menghambat fosfolipase A2, mencegah pembentukan prostaglandin, mengurangi

respon antiinflamasi, menghambat nitrit oksida sintase eksogen dan mencegah pelepasan TNF dan IL-1 dari sel mononuklear (Widodo & Tumbelaka 2010).

## **2. Hasil uji keamanan lambung pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis**

Penggunaan obat antiinflamasi non steroid (AINS) telah diketahui dapat menyebabkan kerusakan mukosa gastroduodenal, usus halus, dan kolon. Obat AINS juga dapat menyebabkan tukak peptik untuk pemakaian jangka lama (Simadibrata 2005). Ekstrak etanol buah okra dapat diketahui melalui pengujian dengan metode karagenan pada dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb memiliki aktivitas antiinflamasi yang sebanding dengan obat Natrium Diklofenak sehingga akan diuji efek ekstrak etanol buah okra pada lambung tikus jika digunakan dalam jangka waktu yang lama. Lambung tikus yang telah diambil kemudian dipotong membujur dan diperiksa apakah terdapat tukak pada lambung atau tidak, setelah lambung tikus diperiksa secara makroskopik, lambung tikus akan melalui beberapa tahap hingga pewarnaan untuk diuji secara mikroskopik, tujuan dilakukan uji mikroskopik pada lambung tikus adalah untuk mengetahui adanya nekrosis pada lambung tikus atau tidak. Nekrosis merupakan proses kematian sel atau kematian kelompok sel yang masih merupakan bagian dari organisme hidup dengan penyebab yang bervariasi. Nekrosis dapat terjadi akibat bahan beracun, aktivitas mikroorganisme, defisiensi pakan, dan kadang-kadang terjadi akibat gangguan metabolisme. Sitoplasma dari sel nekrosis akan terlihat lebih asidofilik (merah) yang disebabkan denaturasi protein sitoplasma dan kerusakan lisosom. Khromatin inti yang meggumpal, inti sel mengecil dan berwarna biru sering disebut dengan proses piknosis (Javad 2007; Tommy 2014), inti piknosis dipecah menjadi bagian-bagian kecil yang disebut karyohexis atau menghilang yang disebut karyolisis. Karyohexis yaitu fragmen inti sel piknotik yang selanjutnya dalam 1-2 hari inti dalam sel yang mati akan benar-benar hilang. Karyolisis (basofilia kromatin memudar) dapat disebabkan oleh aktivitas DNA (Atchariya *et al.* 2014; Robbins 2007). Hasil dari pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis lambung tikus semuanya bisa dilihat pada gambar 6 dan 7.

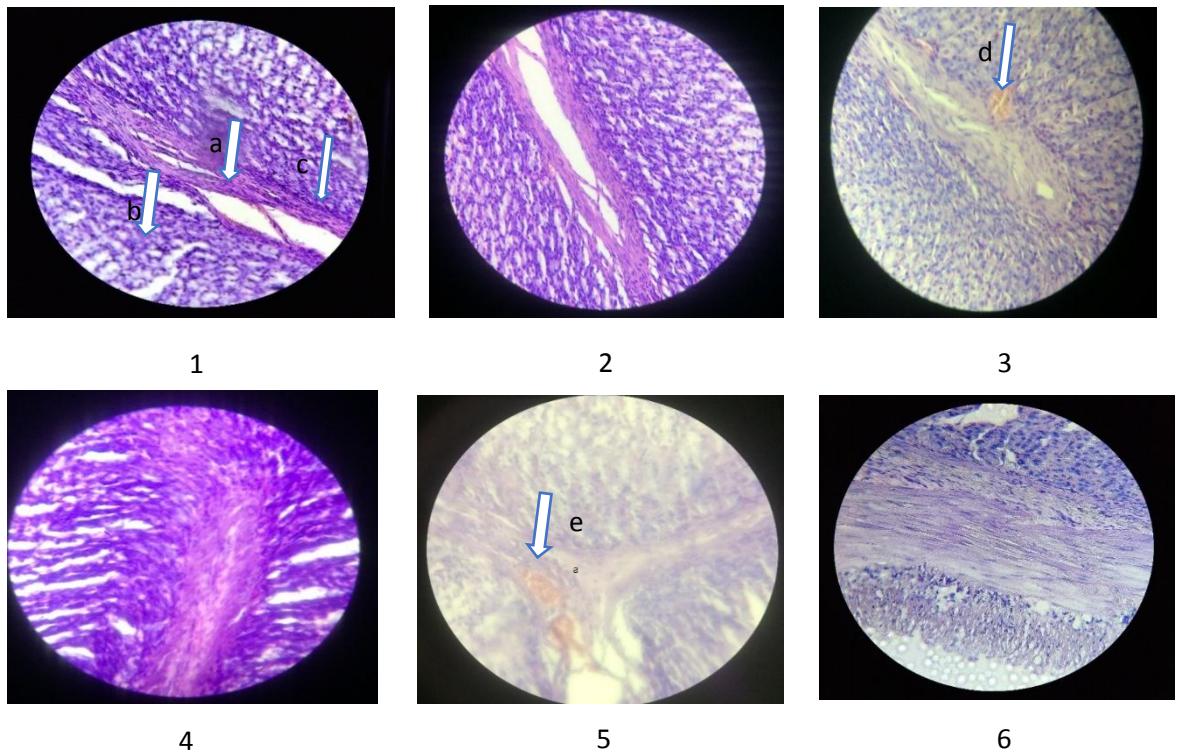


**Gambar 6.** Pemeriksaan lambung secara makroskopik pada kelompok normal (1), kelompok kontrol negatif (2), kelompok kontrol positif (3), kelompok 25 mg/kg bb (4), kelompok 50 mg/kg bb (5), dan kelompok 100 mg/kg bb (6).

\*Keterangan : panah (a) : adanya bintik merah yang terdapat pada mukosa lambung, panah (b) menunjukkan adanya kerusakan pada mukosa lambung, gambar a,b,d dan f merupakan gambar lambung yang normal.

**Tabel 10. Hasil perhitungan skor tukak lambung pada pemeriksaan secara makroskopis.**

kelompok uji	tikus	skor jumlah tukak	skor kondisi luka	indeks tukak
Kelompok normal	1	1	1	A+B=2
	2	1	1	A+B=2
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1±0,00	2±0,00
Kelompok negatif (CMC-Na)	1	1	1	A+B=2
	2	1	1	A+B=2
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1±0,00	2±0,00
Kelomok positif (Natrium diklofenak)	1	1	1	A+B=2
	2	1	2	A+B=3
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1,33± 0,57	2,33±0,57
EEBO 25 mg/kg bb	1	1	1	A+B=2
	2	1	1	A+B=2
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1±0,00	2±0,00
EEBO 50 mg/kg bb	1	1	1	A+B=2
	2	1	1	A+B=2
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1±0,00	2±0,00
EEBO 100 mg/kg bb	1	1	1	A+B=2
	2	1	1	A+B=2
	3	1	1	A+B=2
Rata-rata		1±0,00	1±0,00	2±0,00



**Gambar 7.** Pemeriksaan secara mikroskopik pada lambung tikus pada perbesaran 40x kelompok normal (1), kelompok kontrol negatif (2), kelompok kontrol positif (3), kelompok EEBO 25 mg/kg bb (4), kelompok EEBO 50 mg/kg bb (5), kelompok EEBO 100 mg/kg bb (6)

\*Keterangan: Panah (a) : lapisan muskularis, Panah (b) : lapisan mukosa, Panah (c): lapisan submukosa, Panah (d): adanya kerusakan sel mukosa, Panah (e) : adanya pendarahan

Pada gambar 6 dapat dilihat bahwa kelompok normal lambung terlihat bersih dan tidak menunjukkan efek apapun, hal ini disebabkan karena tidak terdapat induksi atau faktor agresif yang dapat menyebabkan kerusakan pada lambung begitu juga dengan kelompok kontrol negatif yang tidak menunjukkan adanya kerusakan pada mukosa lambung tikus. Pemeriksaan mikroskopik pada kelompok normal dan kelompok kontrol negatif juga menunjukkan hal yang serupa dengan pemeriksaan secara makroskopik yaitu tidak terdapat kerusakan sel lambung antar kedua kelompok. Skor tukak lambung dihitung setelah pemeriksaan secara makroskopik, hasil skor tukak dapat dilihat pada tabel 11 diatas bahwa semua kelompok menunjukkan hasil yang normal (angka 1), pada kelompok kontrol positif sampel ke 2 menunjukkan hasil bintik berdarah (angka 2).

Pemeriksaan makroskopik pada kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa lambung tikus yang diberikan Natrium Diklofenak terdapat bintik berdarah pada sampel ke 2, begitu juga dengan uji mikroskopik kelompok kontrol positif yang menunjukkan adanya kerusakan sel atau pendarahan pada sampel kedua, ini membuktikan bahwa Natrium Diklofenak dapat memberikan efek samping pada penggunaan jangka lama. Pemberian kontrol positif lakukan sebagai faktor agresif pada lambung sehingga dapat menjadi pembanding antar kelompok perlakuan.

Pendarahan yang terjadi pada sampel kedua kontrol positif dapat disebut sebagai nekrosis ringan pada sel mukosa lambung, nekrosis ringan ini dapat berhubungan dengan sifat Natrium diklofenak yang tidak selektif dimana kedua jenis COX dihambat, sehingga dapat menghambat produksi prostaglandin yang berperan sebagai agen proteksi mukosa lambung. COX-1 sebagian besar terdapat pada sel-sel epitel lambung dan merupakan sumber utama pembentukan prostaglandin sitoprotektif, COX-1 mensitesis prostaglandin di lambung, ginjal, dan trombosit, sehingga jika enzim ini terhambat akan mengganggu fungsi normal lambung, ginjal dan trombosit. Inhibisi sintesis prostaglandin dalam mukosa saluran cerna sering menyebabkan kerusakan gastrointestinal dan efek samping utamanya berupa pendarahan gastrointestinal dan perforasi (Nugroho 2010; Dapiro 2005; Soelistiono 2008).

Pemeriksaan lambung secara makroskopik pada kelompok ekstrak etanol 25 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb tidak menunjukkan adanya bintik berdarah atau tukak lambung, begitu juga pada pemeriksaan secara mikroskopik pada dosis tersebut sel-sel lambung terlihat utuh dan tidak mengalami kerusakan sel sama sekali. Hal ini diduga karena adanya senyawa yang bekerja baik dalam gastroprotektif lambung seperti flavonoid, tanin, dan saponin.

Flavonoid yang terdapat dalam buah okra adalah turunan quercetin, quercetin yang 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 quercetin 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.

Senyawa lain seperti tanin di dalam buah okra memiliki aktivitas sebagai astringen dan dapat mengendapkan protein pada membran mukosa (Vasconcelos *et al.* 2008), sedangkan saponin memberikan aktivitas gastroprotektif melalui peningkatan fibronektin, gumpalan fibrin yang sudah terbentuk akan menjadi dasar dalam proses repitelisasi pada jaringan. Oleh karena itu bila gumpalan fibrin cepat terbentuk, maka fibroblas akan segera berproliferasi ke area luka untuk melakukan pemulihan pada jaringan (Indraswary 2011).

Pada kelompok ekstrak etanol 50 mg/kg bb sampel pertama mukosa lambung tikus terdapat iritasi ringan, hal ini dapat dilihat pada mukosanya yang terlihat berbeda dari kelompok normal dan kelompok ekstrak etanol buah okra pada dosis 25 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb. Mukosa lambung tikus pada dosis 50 mg/kg bb tersebut berwarna kecoklatan dan mukosanya terlihat sedikit mengalami kerusakan tidak seperti lambung pada kelompok ekstrak yang lain. Pemeriksaan secara mikroskopik ekstrak etanol buah okra pada dosis 50 mg/kg bb juga menunjukkan salah satu sampel mengalami pendarahan atau nekrosis ringan serupa dengan kontrol positif. Hal ini diduga adanya faktor agresif yang bekerja di dalam lambung tikus, contoh faktor agresif yang dapat menimbulkan kerusakan pada lambung meliputi asam lambung, pepsin, refluks asam empedu, dan kuman *Helicobacter pylori* (Simadibrata 2005). Ekstrak etanol buah okra pada dosis 50 mg/kg bb dari hasil pemeriksaan secara makroskopik dan mikroskopik masih aman digunakan walaupun menyebabkan iritasi ringan pada lambung dalam penggunaan pada jangka panjang.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Hasil penelitian aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol buah okra pada tikus putih jantan dengan metode karagenan dan keamanannya pada lambung dapat disimpulkan bahwa

Pertama, ekstrak etanol buah okra dosis 25 mg/kg bb, 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb memiliki efek antiinflamasi terhadap tikus putih jantan yang diinduksi karagenan.

Kedua, ekstrak etanol buah okra dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb memiliki aktivitas antiinflamasi yang sebanding dengan kontrol positif Natrium Diklofenak.

Ketiga, ekstrak etanol buah okra 25 mg/kg bb, 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb aman terhadap lambung tikus putih jantan.

#### **B. Saran**

Penelitian ini masih banyak kekurangan maka perlu penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian aktivitas antiinflamasi buah okra dengan menggunakan metode pengujian yang lain seperti menggunakan kontrol positif obat AINS dan steroid, juga penelitian dengan pelarut yang berbeda, namun dengan dosis yang sama.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan senyawa buah okra yang memiliki aktivitas antiinflamasi.

Ketiga, perlu dilakukan uji toksisitas untuk lebih mengetahui keamanan pada lambung tikus yang diberikan ekstrak etanol buah okra pada dosis yang sama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G. 2007. *Teknologi bahan alam*. Bandung. ITB. Hlm 38-39
- Akil, H.A.M., 2006. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jakarta: FKUI.
- Anggraini W. 2008. Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn) pada tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Atchariya S, Machalin D, Akkarawit IWP, Naraid S. 2014. Pathological Manifestations and Immune Responses of serotypes Ia and III Streptococcus Agalatiae Infections in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Songklanakarin J. Sci Technol* 499-506,36 (5).
- Atawodi SE *et al.* 2009. Polyphenol composition and antioxidant potential of *hibiscus esculentus* L. Fruit cultivated in Nigeria. *Journal of medicinal food* 1316-1320.
- Bandyukova VA, Ligai LV. 1987. A chemical investigation of the fruit of *Abelmoschus esculentus*, *Chemistry of natural compounds*, 23,376-7.
- Blodinger J. 1994. *Formulasi Bentuk Sediaan Veteriner*. Drs. Sugiharto Hadimoelj, penerjemah; Surabaya: Airlangga University Press. Terjemahan dari: *Formulation of Veterinary Dosage Forms*.
- Bloom & Fawcett. 2002. Buku ajar histologi. Edisi 9. Jakarta : EGC. pp : 531-50
- [BPOM RI]. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Nomor 12.
- [BPOM RI]. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In vivo*. Nomor 7.
- Bule DE. 2014. Uji Aktivitas Antiinflamasi Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Buah Takokak (*Solanum torvum Swartz*) pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Corwin, Elizabeth J. 2008. *Handbook of Pathophysiology 3th edition*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Corsini E *et al.* 2005. Increased Carragenan-Induced Acute Lung Inflammation in Old Rats. *Immunology*. 115(2):253-261.
- Coskun, O., Kanter, M., Armutcu, F., Cetin, K., Kaybolmaz, B., and Yazgan, O., 2004, Protective effects of quercetin, a flavonoid antioxidant, in absolute ethanolinduced acut gastric ulcer. Eur. J. Gen. Med., 1(3), 37-42
- [DepKes RI]. 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

- [DepKes RI]. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewantara Candra. 2011. Efek analgetik ekstrak etanol gandarusa (*Justicia gendarusa*) pada mencit swiss Webster Jantan yang diinduksi rangsang termis. [KTI]. Bandung: Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha.
- Dimroth P, Kaim G, Matthey U. 2000. *Crucial role of the membrane potential for ATP synthesis by F(1)F(o) ATP synthases*. J. Exp. Biol. 203 (Pt 1): 51–9.
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey L. 2005. *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach*. 6th ed. New York: McGraw-Hill.
- Enaganti S. 2006. peptic ulcer disease-the disease and non-drug treatment. Hospital pharmacist. Vol.13.
- Fawcett DW. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Ed ke-12. Jakarta : EGC. hlm: 536-537.
- Fitrie AA. 2004. *Histologi lambung*. Fakultas kedokteran : universitas Sumatera Utara.
- Gemedé *et al.* 2014. Nutritional Quality and Health Benefits of Okra (*Abelmoschus esculentus*):A review. Volume ke-14. Ethiopia: *Global Journal of Medical Research*.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gusdinar T, Herowati R, Kartasasita RE, Adnyana IK. 2009. Sintesis kuersetin teklorinasi dan aktivitas Perlindungan terhadap tukak lambung. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20 (4). 163-169.
- Goodman & Gilman. 2003. *Dasar farmakologi terapi*. Edisi ke-10. Jakarta : EGC.
- Goodman & Gilman. 2008. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : EGC.
- 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.
- Ghosal M, Mandal P. 2012. Phytomedical screening and antioxidant activities of two selected ‘Bihi’ fruits used as vegetables in darjeeling Himalaya. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. ISSN : 0975-1491-4(2).
- Guyton CA. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-7. Jakarta: ECG.

- Harbone. 1973. *Metode Fitokimia*. Cetakan v. Bandung: ITB
- Harbone JB. 1978. *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Ed ke-11. Penerjemah; Bandung : ITB. Terjemahan dari: K Padmawinata.
- Harmita S, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Ed ke-2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Heinrich M Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2004. *fundamental Of Pharmacology and Phytotherapi*. Jakarta : ECG.
- Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2005. *Farmakognosi dan fitoterapi*. Jakarta : ECG.
- Hidayati NA, Listyawati S, Setyawan AD. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara* L. Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi* 5 (1): 10-17.
- Indraswary R. 2011. Efek Konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill) Topikal Pada Epitelisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Tikus Sparague Dwaley in Vivo. Majalah Ilmiah Sultan Agung. Vol.XLIX. Juli 2011 : Unissula.
- Javad A. 2007. Anatomical and histological Studies of Accessory Adrenal Nodules in Caspian miniature Horses. *Turk J Ver Anim Sci* 31 (4): 275-278.
- John NAG, Shobana G. 2012. Anti-inflammatory activity of *Talinum fruticosum* L. On formalin induces paw edema in albino rats. *Journal of applied pharmaceutical science*. ISSN: 2231-3354.
- Junquiera LC, Carneiro J. 2007. *Basic Histology Text and Atlas*. Ed ke-11. Department of Cell and Development Biology Institute of Biomedical. Brazil: Sciences University of São Paulo. 1-42.
- Julius. 1992. *Patogenesis Tukak Peptik*. Cermin dunia kedokteran. 79:9-13.
- Kristina S. 2012. Peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. 23:135-140.
- Katzung, Bertram G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Buku 2 ed ke- 8. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga, penerjemah; Jakarta; Salemba Medika, Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Katzung Bertram G. 2007. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-10. Jakarta: EGC.

- Kavitha S, Kumar, Vijayan V, Baskhar S, Krishnan K, Shalini V, Helen A. 2012. Anti-inflammatory potential of an ethyl acetate fraction isolated from *justicia gendarussa* roots toward inhibition of iNOS and COX-2 Expression via NF- $\kappa$ B Pathway. *Elsevier Cellular Immunology*. Vol 272 issues 2; 283-289.
- Kee JL, Hayes ER. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. penerjemah: Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: Peter A.
- Kertia N. 2009. Aktivitas Antiinflamasi Kurkumin Ekstrak Rimpang Kunyit (*curcuma domesticae* Val) Kajian klinis dan Laboratories Pengaruhnya terhadap Respon Inflamasi di dalam Cairan sinovia Sendi Osteoarthritis. Yogyakarta: fakultas kedokteran, universitas Gadjah Mada
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kumar DS, Tony DE, Kumar AP, Kumar KA, Rao DBS, Nadendla R. 2013. A Review On: *Abelmoschus esculentus*. India: Chalapathi Institute of Pharmaceutical Sciences, Guntur, Andhra Pradesh.
- Liao H, Liu H, Yuan K. 2012. A New Flavonol Glycoside from the *Abelmoschus esculentus L*. *Pharmacognosy Magazine* 8: 12-5.
- Luther K. 2012. *Panen dan menyimpan benih sayur-sayuran* : Buku Panduan Untuk Petani. Taiwan : AVRDC Publication.
- Lumbanraja LB. 2009. Skrining Fitokima dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap Radang pada Tikus. [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Martin MJ, La Casa C, Alarco'n de la Lastra C, Cabeza, J, Villegas I, Motilva V. 1998. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch* 53c. 82-88.
- Mitul P, Muruganathan, Gowda KPS. 2012. In vivo animal models in preclinical evaluation of Anti-inflammatory Activity- A review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*. Vol. 1 issues 2. 01-05.
- Mojab F, Kamalinejad M, Ghaderi N & Vahidipour HR. 2003. Phytochemical Screening of some species of iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 77-32.
- Morikawa K et al. 2003. *Inhibitory Effect of Quercetin on Carrageenan-Induced Inflammation in rats*. Japan: Department Of Nutrition Sagami Woman University.

- Morris CJ. 2003. Carrageenan-Induces Paw Edema in the Rat and Mouse. In P. G. Winyard and D. A. Willoughby. *Methods in Molecular Biology*, vol. 225: *Inflammation Protocols*. Ttowa, NJ: Humana Press Inc.
- 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.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi senyawa aktif. Jurnal kesehatan. Alaudin Makassar: Program studi farmasi fakultas ilmu kesehatan, UIN.
- Mustaba R., Winaya IBO, Berata IK. 2012. Studi Histopatologi Lambung Pada Tikus Putih yang Diberi madu sebagai Pencegah Ulkus Lambung yang diinduksi Aspirin. *Indonesia Medicus Veterinus* 1 (4) 471-482.
- Mustikasari K, Ariyani D. 2008. Studi Potensi Binjai (*Mangifera caesia*) dan Kasturi (*Mangifera casturi*) Sebagai Antidiabetes melalui Skrining Fitokimia pada Akar dan Batang. *Sains dan Terapan Kimis* (2) 64-73.
- Nadira S, Hatidjah B, Nuraeni. 2009. Pertumbuhan dan hasil tanaman okra (*abelmoschus esculentus*) pada pelakuan pupuk dekaform dan defoliasi. ISSN : 1412-3657.
- Necas J, Bartosikova L. 2013. Carrageenan : A review. Czech republic: Fakulty of Medicine and Density. Palacky University Olomouc.
- Ncube NS, Aafolayan Sj, Okoh Al. 2008. Review: Assesment technology antimicrobial prperties of natural compound of plant original methods and future trend. *African Journal of Biotechnology* vol. 7 (12) pp. 1797-1806.
- Nilesh J *et al.* 2012. A Review on: *Abelmoschus esculentus*. *pharmacia* Vol. 1 ISSN 0976-9692.
- Nijveldt R J, E Van Nood, D Van Hoorn, P G Boelens, K Van Norren, P Van Leeuwen. 2001. Flavonoids : 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 Framasi dan Kesehatan*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- [Food Plant Solutions rotarian action group]. 2015. *Tanaman pangan berpotensi penting di Indonesia*. Indonesia: Panduan Lapangan Food Plant Solutions.
- Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L. 2004. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight

- dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British Journal of Pharmacology* 142:331-38.
- Price SA, Wilson LM. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Ed ke-4. Cetakan Pertama. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. 2003. *Pharmacology*. Ed ke-5. USA: Bath press.
- Robbins *et al.* 2007. *Pathologic Basic Disease*. Ed ke-8. Phennsylvania: Elseiver
- Rowe, Raymond C, Paul JS, Sian CO. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Ed ke-5. London : Pharmaceutical Press.
- Roy A, Shrivastava SL, Mandal SM. 2014. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L (Moench): traditional claims and scientific evidences. ISSN: 2348-1900.
- Richard AH, Pamela CC. 2009. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta : ECG
- Shui G, Peng LL. 2004. An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. *Journal of Chromatography A* 1048 pp.17-24.
- Shabrina JM *et al.* 2014. comparative Pharmacological Studies of *abelmoschus esculentus* Linn. Fruits and Seeds. *Global journal of Pharmacology*. ISSN 1992-0075.
- Shah NB, Seth AK. 2010. Anti-inflammatory Activity of fruits of *abelmoschus esculentus* Linn. *Pharmacology online* 1:208-212
- Silva GL, Kinghorn AD. 1998. Special Problem with Extraction of Plants in Chanell R.JP. (ed) methods in Biotechnology 4. *Natural Product isolation* human Press. USA: Totowa, New Jersey.
- Simadibrata M. 2005. Kelainan Saluran Cerna Sebagai Efek Samping Obat Antiinflamasi non Steroid. *Acta medica Indoneisana*.
- Soelistiono. 2008. *Analgesic in dental pain*. Yogyakarta: Bagian ilmu bedah mulut fakultas kedokteran gigi, Universitas Gadjah Mada.
- Soemardi E. 2004. Isolasi Identifikasi dan Standarisasi Sinensetin Sebagai Parameter Pada Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.). [Tesis]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Sudamadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberti.

- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Ed ke-6. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.
- Suralkar *et al.* 2008. In-vivo Animal Models for Evaluation Antiinflammatory Activity: Article Review. Vol. 6 Issue 2.
- Susilawati NM, Yuliet, Khaerati K. 2016. Aktivitas gastroprotektif ekstrak etanol daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin. *Online jorunal of Natural Science* vol. 5. Palu: Fakultas MIPA Universitas Tadulako.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scienca* Vol. 1 issue 1.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat penting: Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed ke-5. Jakarta: PT. Elex media komputindo kelompok gramedia. Hlm. 308-315.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-obat penting*. Ed ke-6. Jakarta: PT. Elex media komputindo kelompok gramedia
- Tommy B. 2014. *Introduction to: exerchise physiology*. United States of America.
- Vasconcelos PCP, Andreo MA, Vilegas W, and Pellizzon CH. 2008. Effect Mouri Pusa Tannins and Flavonoids on Prevention and Treatment Against Experimental Gastric Ulcer. *J.Etnopharmacol* 131(1). 146-153.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed ke-5. Penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Vogel HG, Wolfgang HV, Bernward AS, Jurgen S, Gunter M, Wolfgang FV. 2002. *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay Second Edition*. New York: Springer. Hlm. 751-772.
- Walidah C. 2014.Uji efek antiinflamasi ekstrak etil asetat lumut hati *Mastigophora dicladas* secara in vivo.[Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah.
- Wilmania P F, Sulistia G G. 2007. *Analgesik-Antipiretik, Analgesik-Anti-inflamasi non steroid dan Obat-obat Pirai*. Dalam: Sulistia G G. 2007. Farmakologi dan Terapi, ed. 5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Wilson LM., Price SA. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinik dan proses-Proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm. 56-80.

- Yudo K. 1991. *Bertanaman okra*. Yogyakarta: penerbit kanisius.
- Zaini M, Agung B, Khoerul A. 2016. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol herba lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz) terhadap mencit jantan yang diinduksi karagenan- $\gamma$ . *Jurnal Pharmascience* 03.02 hlm. 119-130.
- Zannatul N *et al.* 2015. Anti-Inflammatory, Analgesic and Anti-Nociceptive Efficacy of peel of *Abelmoschus esculentus* Fruits in Laboratory Animal. Bangladesh: Bentham Science Publishers. 10: 113-121.

L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman buah okra



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 : 87/UN27.9.6.4/Lab/2018  
 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
 Lampiran : -  
 Nama Pemesan : Nuraini Maudini  
 NIM : 20144141A  
 Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench  
 Synonym : *Hibiscus esculentus* L.  
*Abelmoschus longifolius* (Willd.) Kostel.  
 Familia : Malvaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :  
 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-  
 34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-  
 631b-632b-633a-634b-635b-636b-637b-638a-639b-640b-652d-653b-655b-656a-657b-658a-659b-  
 660a \_\_\_\_\_ 96. Malvaceae  
 1b-3b-5b-13b-14b-15a-16a \_\_\_\_\_ 14. *Abelmoschus*  
 1b-2b-4b-5b \_\_\_\_\_ *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.5-2 m. Akar : tunggang, bercabang-cabang, kuning muda hingga kuning keputihan. Batang : bulat, berkayu, bercabang-cabang, percabangan monopodial, permukaan batang muda sedikit berambut tetapi gundul pada batang dewasa. Daun : tunggal, tersebar, helaian daun bulat hingga bulat telur memanjang, panjang 9-25 cm, lebar 11-30 cm, pangkal berlekuk seperti jantung atau rata, tepi berbagi 5-7 taju, ujungnya membulat, permukaan berambut hingga gundul, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, pertulangan menjari; taju daun berbentuk segitiga atau lanset memanjang atau bulat telur memanjang atau garis, ujungnya runcing hingga meruncing, tepi bergerigi-bergigi kasar; tangkai daun bulat, panjang 5-35 cm, sedikit berambut hingga gundul, hijau; daun penumpu sepasang, terletak bebas di kanan kiri pangkal tangkai daun, berbentuk lanset, ujungnya rata atau berbagi 2, hijau. Bunga : tunggal, berkelamin 2 (biseksual), berbentuk lonceng, tumbuh di ketiak daun; tangkai bunga bulat, hijau, panjang 1.5-2.5 cm, permukaan sedikit berambut; daun kelopak tambahan (*epicalyx*) seringkali 5, panjang 2-3 cm, lebar 0.2-1cm, hijau, berambut; kelopak bunga berbentuk tabung, berbagi 5, tajunya bentuk lanset, berambut, warna hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 3.5-4.5 cm, lebar 3-4 cm, tepi rata, berwarna putih cerah dan bagian tengahnya ungu; benang sari bentuk tabung, panjang 1.5-2 cm, kepala sari hampir duduk, putih; kepala putik berwarna ungu gelap. Buah : buah kapsul, berbentuk garis memanjang, seringkali melengkung, panjang 10-25 cm, diameter 1.5-3 cm, hijau muda hingga hijau tua. Biji : kecil, banyak, berbentuk seperti ginjal, berambut.

Surakarta, 11 Mei 2018

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

Mengetahui  
 Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

## Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

### "ABIMANYU FARM"

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

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 : Nuraini Maudini  
 Nim : 20144141 A  
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar  
 Umur : 2-3 bulan  
 Jumlah : 36 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 Mei 2018

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

### Lampiran 3. Hasil *ethical clearance*

4/13/2018

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 : 464 / IV / HREC / 2018

*The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas  
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 :  
Bawha usulan penelitian dengan judul*

aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol buah okra (*Abelmoschus esculentus*) pada tikus putih jantan dengan metode karagenin dan keamannya pada lambung

Principal investigator : Nuraini Maudini  
Peneliti Utama 20144141A

Location of research : universitas setia budi  
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved  
Dinyatakan layak etik



**Lampiran 4. Foto kegiatan penelitian**

Tumbuhan buah okra



Serbuk kering buah okra

*Rotarry evaporator*

Ekstrak kental buah okra

alat pletismometer



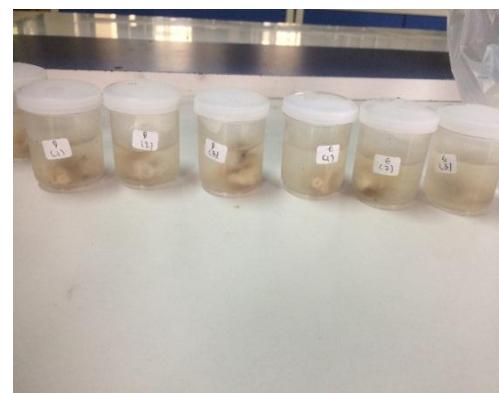
Pemberian oral hewan uji



Pemberian induksi karagenan



Pembedahan hewan uji



Organ lambung tikus



Tahap imbeding





Tissue processor



Tahap coldplate



Hasil blok paraffin



Tahap pewarnaan



Tahap pencucian

### **Lampiran 5. Perhitungan rendemen buah okra**

#### **1. Rendemen buah kering terhadap buah okra basah**

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{3550 \text{ gram}}{22000 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 16,13 \%\end{aligned}$$

#### **2. Rendemen serbuk terhadap buah kering**

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat serbuk}}{\text{Berat kering}} \times 100 \% \\ &= \frac{1800 \text{ gram}}{3550 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 50,70 \%\end{aligned}$$

#### **3. Rendemen ekstrak etanol terhadap serbuk kering**

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100 \% \\ &= \frac{52,76 \text{ gram}}{800 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 6,6\%\end{aligned}$$

### Lampiran 6. Perhitungan kadar air

No	Serbuk okra (g)	Pelarut toluene (ml)	Kandungan air (ml)	Kadar (%)
<b>Replikasi I</b>	20,002	100	1,1	5,4
<b>Replikasi II</b>	20,012	100	1,5	7,4
<b>Replikasi III</b>	20,006	100	1,2	5,9
<b>Rata-rata</b>	<b>20,007</b>	<b>100</b>	<b>1,2</b>	<b>6,2</b>

#### Replikasi 1

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,1 \text{ ml}}{20,002 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 5,4 \%\end{aligned}$$

#### Replikasi 2

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5 \text{ ml}}{20,012 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 7,4 \%\end{aligned}$$

#### Replikasi 3

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,2 \text{ ml}}{20,006 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 5,9 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata kadar air serbuk buah okra} &= \frac{5,4\% + 7,4\% + 5,9\%}{3} \\ &= 6,2\%\end{aligned}$$

**Lampiran 7. Gambar penetapan kadar air.**

**Lampiran 8. Gambar uji bebas etanol**

**Lampiran 9. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak**

Uji flavonoid serbuk okra (kuning)



Uji flavonoid ekstrak okra (jingga)



Uji tanin serbuk okra (hijau)



Uji tanin ekstrak okra (hijau kehitaman)



Uji saponin serbuk okra (ada busa)



Uji saponin ekstrak okra (ada busa)



Uji steroid serbuk okra (hijau)



Uji steroid ekstrak okra (hijau)

## Lampiran 10. Perhitungan dosis

### 1. 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

### 2. Kontrol positif (Natrium Diklofenak)

Dosis natrium diklofenak = 50 mg

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

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

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

### Metode induksi karagenan

- Tikus 1 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,81 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{0,81 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,081 \text{ ml}$
- Tikus 2 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,855 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{0,855 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,085 \text{ ml}$
- Tikus 3 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,855 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{0,855 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,085 \text{ ml}$
- Tikus 4 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,81 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{0,81 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,081 \text{ ml}$
- Tikus 5 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,9 \text{ mg} = 0,81 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{0,81 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,081 \text{ ml}$

### 3. Ekstrak etanol buah okra

Dosis ekstrak etanol buah okra diambil berdasarkan penelitian sebelumnya  
yaitu 250 mg/kg bb dan di konversi menjadi 50 mg/kg bb tikus

Variasi dosis yang digunakan :

$$\frac{1}{2} \times \text{DE} = 25 \text{ mg/kg bb tikus}$$

$$\text{DE} = 50 \text{ mg/kg bb tikus}$$

$$2 \times DE = 100 \text{ mg/kg bb tikus}$$

$$\text{Larutan stok } 6\% = 6000 \text{ mg / 100 ml}$$

Volume dosis yang diberikan masing-masing tikus :

### Metode induksi karagenan

#### Dosis ekstrak 25 mg/kg bb tikus

- Tikus 1 dengan bb 200 gram =  $\frac{200 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 25 \text{ mg} = 25 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{25 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
- Tikus 2 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 25 \text{ mg} = 23,75 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{23,75 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$
- Tikus 3 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 25 \text{ mg} = 22,5 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{22,5 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,37 \text{ ml}$
- Tikus 4 dengan bb 200 gram =  $\frac{200 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 25 \text{ mg} = 25 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{25 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
- Tikus 5 dengan bb 205 gram =  $\frac{205 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 25 \text{ mg} = 25,62 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{25,62 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$

#### Dosis ekstrak 50 mg/kg bb tikus

- Tikus 1 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 47,5 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{47,5 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$
- Tikus 2 dengan bb 200 gram =  $\frac{200 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 50 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{50 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$
- Tikus 3 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 47,5 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{47,5 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$
- Tikus 4 dengan bb 175 gram =  $\frac{175 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 43,75 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{43,75 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,72 \text{ ml}$
- Tikus 5 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 45 \text{ mg}$   
Volume oral =  $\frac{45 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml}$

### Dosis ekstrak 100 mg /kg bb tikus

- Tikus 1 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 95 \text{ mg}$   
 Volume oral =  $\frac{95 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,58 \text{ ml}$
- Tikus 2 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 95 \text{ mg}$   
 Volume oral =  $\frac{95 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,58 \text{ ml}$
- Tikus 3 dengan bb 200 gram =  $\frac{200 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 100 \text{ mg}$   
 Volume oral =  $\frac{100 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$
- Tikus 4 dengan bb 190 gram =  $\frac{190 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 95 \text{ mg}$   
 Volume oral =  $\frac{95 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,58 \text{ ml}$
- Tikus 5 dengan bb 180 gram =  $\frac{180 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 90 \text{ mg}$   
 Volume oral =  $\frac{90 \text{ mg}}{6000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$

## Lampiran 11. Hasil uji metode karagenan

### 1. Sebelum dikurangi T0

Perlakuan	Replikasi	Volume edema (ml)							
		T0	T0,5	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Kontrol negatif (CMC-Na)	1	0,01	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	2	0,012	0,058	0,05	0,48	0,04	0,04	0,04	0,04
	3	0,019	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
	4	0,01	0,045	0,045	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	5	0,01	0,056	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
	Rata-rata	0,012	0,053	0,051	0,043	0,042	0,042	0,042	0,042
Kontrol positif (Na Diklofenak)	sd	0,0039	0,006	0,0055	0,005	0,045	0,045	0,0045	0,045
	1	0,01	0,04	0,038	0,03	0,028	0,02	0,02	0,015
	2	0,01	0,035	0,03	0,025	0,028	0,025	0,02	0,015
	3	0,018	0,04	0,035	0,025	0,025	0,23	0,02	0,02
	4	0,01	0,038	0,03	0,025	0,022	0,02	0,018	0,01
	5	0,015	0,045	0,04	0,035	0,028	0,025	0,02	0,02
Ekstrak dosis 25 mg/kg bb	Rata-rata	0,012	0,039	0,034	0,028	0,026	0,022	0,019	0,016
	SD	0,0037	0,036	0,046	0,0045	0,0045	0,0025	0,0009	0,0042
	1	0,013	0,045	0,042	0,04	0,035	0,035	0,03	0,03
	2	0,01	0,04	0,04	0,038	0,03	0,03	0,028	0,25
	3	0,01	0,048	0,045	0,042	0,04	0,035	0,035	0,03
	4	0,02	0,056	0,05	0,047	0,042	0,04	0,035	0,03
Ekstrak dosis 50 mg/kg bb	5	0,018	0,047	0,04	0,035	0,035	0,03	0,028	0,028
	Rata-rata	0,014	0,047	0,043	0,040	0,036	0,03	0,031	0,028
	SD	0,0046	0,0058	0,0042	0,0045	0,0047	0,0042	0,0036	0,0022
	1	0,01	0,04	0,035	0,033	0,03	0,03	0,025	0,02
	2	0,016	0,045	0,038	0,035	0,03	0,03	0,028	0,02
	3	0,018	0,04	0,035	0,03	0,03	0,025	0,022	0,02
	4	0,01	0,045	0,03	0,03	0,026	0,02	0,02	0,017
	5	0,015	0,045	0,03	0,03	0,028	0,022	0,02	0,02
	Rata-rata	0,013	0,043	0,033	0,031	0,028	0,025	0,023	0,19
	SD	0,0036	0,0027	0,0035	0,0023	0,0018	0,0046	0,0035	0,0013

Perlakuan	Replikasi	Volume edema (ml)							
		T0	T0,5	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Ekstrak dosis 100 mg/kg bb	1	0,01	0,035	0,03	0,025	0,025	0,02	0,02	0,015
	2	0,01	0,035	0,03	0,03	0,025	0,025	0,025	0,02
	3	0,02	0,04	0,034	0,03	0,03	0,028	0,025	0,025
	4	0,01	0,035	0,03	0,025	0,023	0,02	0,018	0,01
	5	0,018	0,048	0,04	0,03	0,03	0,025	0,025	0,02
	Rata-rata	0,013	0,038	0,032	0,028	0,0266	0,0236	0,0226	0,018
	SD	0,005	0,0057	0,0044	0,0027	0,0035	0,0035	0,0034	0,0057

## 2. Sesudah dikurang T0

Perlakuan	Replikasi	Volume edema (ml)								Auc total	% DAI
		T0	T0,5	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
Kontrol negatif (CMC-Na)	1	0	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,185	-
	2	0	0,046	0,038	0,036	0,028	0,028	0,028	0,028	0,1855	-
	3	0	0,041	0,041	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	0,1907	-
	4	0	0,035	0,035	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,1787	-
	5	0	0,046	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,188	-
	Rata-rata	0	0,0416	0,0388	0,0314	0,0298	0,0298	0,0298	0,0298	0,186	-
	SD	0	0,0046	0,0023	0,0026	0,0011	0,0011	0,0011	0,0011	0,004	-
Kontrol positif (Na Diklofenak)	1	0	0,03	0,028	0,02	0,018	0,01	0,01	0,005	0,0965	47,83
	2	0	0,025	0,02	0,015	0,018	0,015	0,01	0,005	0,088	52,56
	3	0	0,022	0,017	0,007	0,007	0,005	0,002	0,002	0,0457	76,03
	4	0	0,028	0,02	0,015	0,012	0,01	0,008	0	0,074	58,58
	5	0	0,03	0,025	0,02	0,013	0,01	0,005	0,005	0,0842	55,21
	Rata-rata	0	0,027	0,022	0,0154	0,0136	0,01	0,007	0,0034	0,0776	58,042
	SD	0	0,0034	0,0044	0,0053	0,0046	0,0035	0,0034	0,0023	0,0196	10,796
Ekstrak dosis 25 mg/kg bb	1	0	0,032	0,029	0,027	0,022	0,022	0,017	0,017	0,1342	27,45
	2	0	0,03	0,03	0,028	0,02	0,02	0,018	0,015	0,131	29,38
	3	0	0,038	0,035	0,032	0,03	0,025	0,025	0,02	0,1672	12,32
	4	0	0,036	0,03	0,027	0,022	0,02	0,015	0,01	0,1295	27,53

Perlakuan	Replikasi	Volume edema (ml)									Auc total	% DAI
		T0	T0,5	T1	T2	T3	T4	T5	T6			
Ekstrak dosis 50 mg/kg bb	5	0	0,029	0,022	0,017	0,017	0,012	0,01	0,01	0,092	51,06	
	Rata-rata	0	0,033	0,0292	0,0262	0,022	0,0198	0,017	0,014	0,13078	29,54	
	SD	0	0,0038	0,0046	0,0055	0,004	0,0048	0,0054	0,0043	0,0266	13,857	
Ekstrak dosis 100 mg/kg bb	1	0	0,03	0,025	0,023	0,02	0,02	0,015	0,01	0,1167	36,43	
	2	0	0,029	0,022	0,019	0,014	0,014	0,012	0,004	0,092	50,4	
	3	0	0,022	0,017	0,012	0,012	0,007	0,004	0,002	0,0597	68,69	
	4	0	0,035	0,02	0,02	0,016	0,01	0,01	0,007	0,092	48,51	
	5	0	0,03	0,015	0,015	0,013	0,007	0,005	0,005	0,0692	63,19	
	Rata-rata	0	0,0292	0,0198	0,0178	0,015	0,0116	0,0092	0,0056	0,0859	53,44	
	SD	0	0,0046	0,0039	0,0043	0,0031	0,0055	0,0046	0,0030	0,022	12,752	

## Lampiran 12. Hasil perhitungan AUC

- kontrol negative

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

**Replikasi 1**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,04}{2} (0,5-0) = 0,01$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,04+0,04}{2} (1-0,5) = 0,02$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,04+0,03}{2} (2-1) = 0,035$$

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

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

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

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

**TOTAL AUC= 0,185**

**replikasi 2**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,046}{2} (0,5-0) = 0,0115$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,046+0,038}{2} (1-0,5) = 0,021$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,038+0,036}{2} (2-1) = 0,037$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,036+0,028}{2} (3-2) = 0,032$$

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

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

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

**TOTAL AUC =0,1855**

**Replikasi 3**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,041}{2} (0,5-0) = 0,01025$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,041+0,041}{2} (1-0,5) = 0,0205$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,041+0,031}{2} (2-1) = 0,036$$

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

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

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

$$AUC_5^6 = \frac{0,031+0,031}{2} (6-5) = 0,031$$

**TOTAL AUC = 0,1907**

**replikasi 4**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,035}{2} (0,5-0) = 0,00875$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,035+0,035}{2} (1-0,5) = 0,0175$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,035+0,03}{2} (2-1) = 0,0325$$

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

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

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

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

**TOTAL AUC= 0,1787**

**REPLIKASI 5**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,046}{2} (0,5-0) = 0,0115$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,046+0,04}{2} (1-0,5) = 0,0215$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,04+0,03}{2} (2-1) = 0,035$$

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

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

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

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

**TOTAL AUC = 0,188**

- kontrol positive (na dik)

**Replikasi 1**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,028}{2} (1-0,5) = 0,0145$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,028+0,02}{2} (2-1) = 0,024$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,02+0,018}{2} (3-2) = 0,019$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,018+0,01}{2} (4-3) = 0,014$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,01}{2} (5-4) = 0,01$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,01+0,005}{2} (6-5) = 0,0075$$

**TOTAL AUC= 0,0965**

**replikasi 2**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,025}{2} (0,5-0) = 0,00625$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,025+0,02}{2} (1-0,5) = 0,01125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,015}{2} (2-1) = 0,0175$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,015+0,018}{2} (3-2) = 0,0165$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,018+0,015}{2} (4-3) = 0,0165$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,015+0,01}{2} (5-4) = 0,0125$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,01+0,005}{2} (6-5) = 0,0075$$

**TOTAL AUC =0,088**

**Replikasi 3**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,022}{2} (0,5-0) = 0,0055$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,022+0,017}{2} (1-0,5) = 0,00975$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,017+0,007}{2} (2-1) = 0,012$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,007+0,007}{2} (3-2) = 0,007$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,007+0,005}{2} (4-3) = 0,006$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,005+0,002}{2} (5-4) = 0,0035$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,002+0,002}{2} (6-5) = 0,002$$

**TOTAL AUC= 0,0457**

**replikasi 4**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,028}{2} (0,5-0) = 0,007$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,028+0,02}{2} (1-0,5) = 0,012$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,015}{2} (2-1) = 0,0175$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,015+0,012}{2} (3-2) = 0,0135$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,012+0,01}{2} (4-3) = 0,011$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,008}{2} (5-4) = 0,009$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,008+0}{2} (6-5) = 0,004$$

**TOTAL AUC =0,074**

**Replikasi 5**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,025}{2} (1-0,5) = 0,01375$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,025+0,02}{2} (2-1) = 0,0225$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,02+0,013}{2} (3-2) = 0,0165$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,013+0,01}{2} (4-3) = 0,0115$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,005}{2} (5-4) = 0,0075$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,005+0,005}{2} (6-5) = 0,005$$

**TOTAL AUC= 0,0842**

- ekstrak etanol buah okra 25 mg

**Replikasi 1**

$$AUC_{0,5}^{0,5} = \frac{0+0,032}{2} (0,5-0) = 0,008$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,032+0,029}{2} (1-0,5) = 0,01525$$

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

$$AUC_2^3 = \frac{0,027+0,022}{2} (3-2) = 0,0245$$

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

$$AUC_4^5 = \frac{0,022+0,017}{2} (5-4) = 0,0195$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,017+0,017}{2} (6-5) = 0,017$$

**TOTAL AUC= 0,1342**

**replikasi 2**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,03}{2} (1-0,5) = 0,015$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,03+0,028}{2} (2-1) = 0,029$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,028+0,02}{2} (3-2) = 0,024$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,02+0,02}{2} (4-3) = 0,02$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,02+0,018}{2} (5-4) = 0,019$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,018+0,015}{2} (6-5) = 0,0165$$

**TOTAL AUC= 0,131**

**Replikasi 3**

$$AUC_{0,5}^{0,5} = \frac{0+0,038}{2} (0,5-0) = 0,0095$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,038+0,035}{2} (1-0,5) = 0,01825$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,035+0,032}{2} (2-1) = 0,0335$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,032+0,03}{2} (3-2) = 0,031$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,03+0,025}{2} (4-3) = 0,0275$$

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

$$AUC_5^6 = \frac{0,025+0,02}{2} (6-5) = 0,0225$$

**TOTAL AUC =0,1672**

**replikasi 4**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,036}{2} (0,5-0) = 0,009$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,036+0,03}{2} (1-0,5) = 0,0165$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,03+0,027}{2} (2-1) = 0,0285$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,027+0,022}{2} (3-2) = 0,0245$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,022+0,02}{2} (4-3) = 0,021$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,02+0,015}{2} (5-4) = 0,0175$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,015+0,01}{2} (6-5) = 0,0125$$

**TOTAL AUC =0,1295**

**Replikasi 5**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,029}{2} (0,5-0) = 0,00725$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,029+0,022}{2} (1-0,5) = 0,01275$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,017}{2} (2-1) = 0,0195$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,017+0,017}{2} (3-2) = 0,017$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,017+0,012}{2} (4-3) = 0,0145$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,012+0,01}{2} (5-4) = 0,011$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,01+0,01}{2} (6-5) = 0,01$$

**TOTAL AUC= 0,092**

- **ekstrak etanol buah okra 50 mg**

**Replikasi 1**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,025}{2} (1-0,5) = 0,01375$$

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

$$AUC_2^3 = \frac{0,023+0,02}{2} (3-2) = 0,0215$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,02+0,02}{2} (4-3) = 0,02$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,02+0,015}{2} (5-4) = 0,0175$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,015+0,01}{2} (6-5) = 0,0125$$

**TOTAL AUC= 0,1167**

**replikasi 2**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,029}{2} (0,5-0) = 0,00725$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,029+0,022}{2} (1-0,5) = 0,01275$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,019}{2} (2-1) = 0,0205$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,019+0,014}{2} (3-2) = 0,0165$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,014+0,014}{2} (4-3) = 0,014$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,014+0,012}{2} (5-4) = 0,013$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,012+0,004}{2} (6-5) = 0,008$$

**TOTAL AUC =0,092**

**Replikasi 3**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,022}{2} (0,5-0) = 0,0055$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,022+0,017}{2} (1-0,5) = 0,00975$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,017+0,012}{2} (2-1) = 0,0145$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,012+0,012}{2} (3-2) = 0,012$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,012+0,007}{2} (4-3) = 0,0095$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,007+0,004}{2} (5-4) = 0,0055$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,004+0,002}{2} (6-5) = 0,003$$

**TOTAL AUC= 0,0597**

**replikasi 4**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,035}{2} (0,5-0) = 0,00875$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,035+0,02}{2} (1-0,5) = 0,01375$$

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

$$AUC_2^3 = \frac{0,02+0,016}{2} (3-2) = 0,018$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,016+0,01}{2} (4-3) = 0,013$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,01}{2} (5-4) = 0,01$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,01+0,007}{2} (6-5) = 0,0085$$

**TOTAL AUC =0,092**

**Replikasi 5**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,015}{2} (1-0,5) = 0,01125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,015+0,015}{2} (2-1) = 0,015$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,015+0,013}{2} (3-2) = 0,014$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,013+0,007}{2} (4-3) = 0,01$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,007+0,005}{2} (5-4) = 0,0065$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,005+0,005}{2} (6-5) = 0,005$$

**TOTAL AUC= 0,0692**

- ekstrak etanol buah okra 100 mg

**Replikasi 1**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,025}{2} (0,5-0) = 0,00625$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,025+0,02}{2} (1-0,5) = 0,01125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,015}{2} (2-1) = 0,0175$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,015+0,015}{2} (3-2) = 0,015$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,015+0,01}{2} (4-3) = 0,0125$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,01}{2} (5-4) = 0,01$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,01+0,005}{2} (6-5) = 0,0075$$

**TOTAL AUC= 0,08**

**replikasi 2**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,025}{2} (0,5-0) = 0,00625$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,025+0,02}{2} (1-0,5) = 0,01125$$

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

$$AUC_2^3 = \frac{0,02+0,015}{2} (3-2) = 0,0175$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,015+0,015}{2} (4-3) = 0,015$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,015+0,015}{2} (5-4) = 0,015$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,015+0,01}{2} (6-5) = 0,0125$$

**TOTAL AUC =0,0975**

**Replikasi 3**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,02}{2} (0,5-0) = 0,005$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,02+0,014}{2} (1-0,5) = 0,0085$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,014+0,01}{2} (2-1) = 0,012$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,01+0,01}{2} (3-2) = 0,01$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,01+0,008}{2} (4-3) = 0,009$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,008+0,005}{2} (5-4) = 0,0065$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,005+0,005}{2} (6-5) = 0,005$$

**TOTAL AUC= 0,056**

**replikasi 4**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,025}{2} (0,5-0) = 0,00625$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,025+0,02}{2} (1-0,5) = 0,01125$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,02+0,015}{2} (2-1) = 0,0175$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,015+0,013}{2} (3-2) = 0,014$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,013+0,01}{2} (4-3) = 0,0115$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,01+0,008}{2} (5-4) = 0,009$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,008+0}{2} (6-5) = 0,004$$

**TOTAL AUC =0,0735**

**Replikasi 5**

$$AUC_0^{0,5} = \frac{0+0,03}{2} (0,5-0) = 0,0075$$

$$AUC_{0,5}^1 = \frac{0,03+0,022}{2} (1-0,5) = 0,013$$

$$AUC_1^2 = \frac{0,022+0,012}{2} (2-1) = 0,017$$

$$AUC_2^3 = \frac{0,012+0,012}{2} (3-2) = 0,012$$

$$AUC_3^4 = \frac{0,012+0,007}{2} (4-3) = 0,0095$$

$$AUC_4^5 = \frac{0,007+0,007}{2} (5-4) = 0,007$$

$$AUC_5^6 = \frac{0,007+0,002}{2} (6-5) = 0,0045$$

**TOTAL AUC= 0,0705**

### Lampiran 13. Hasil perhitungan DAI ekstrak etanol buah okra

$$\frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

1. Kontrol positif (Na dik)

- Replikasi 1 =  $\frac{0,185 - 0,0965}{0,185} \times 100\% = 47,83\%$
- Replikasi 2 =  $\frac{0,1855 - 0,088}{0,1855} \times 100\% = 52,56\%$
- Replikasi 3 =  $\frac{0,1907 - 0,0457}{0,1907} \times 100\% = 76,03\%$
- Replikasi 4 =  $\frac{0,1787 - 0,074}{0,1787} \times 100\% = 58,58\%$
- Replikasi 5 =  $\frac{0,188 - 0,0842}{0,188} \times 100\% = 55,21\%$

2. Ekstrak etanol buah okra 25 mg

- Replikasi 1 =  $\frac{0,185 - 0,1342}{0,185} \times 100\% = 27,45\%$
- Replikasi 2 =  $\frac{0,1855 - 0,131}{0,1855} \times 100\% = 29,38\%$
- Replikasi 3 =  $\frac{0,1907 - 0,1672}{0,1907} \times 100\% = 12,32\%$
- Replikasi 4 =  $\frac{0,1787 - 0,1295}{0,1787} \times 100\% = 27,53\%$
- Replikasi 5 =  $\frac{0,188 - 0,092}{0,188} \times 100\% = 51,06\%$

3. Ekstrak etanol buah okra 50 mg

- Replikasi 1 =  $\frac{0,185 - 0,1176}{0,185} \times 100\% = 36,43\%$
- Replikasi 2 =  $\frac{0,1855 - 0,092}{0,1855} \times 100\% = 50,40\%$
- Replikasi 3 =  $\frac{0,1907 - 0,0597}{0,1907} \times 100\% = 68,69\%$
- Replikasi 4 =  $\frac{0,1787 - 0,092}{0,1787} \times 100\% = 48,51\%$
- Replikasi 5 =  $\frac{0,188 - 0,0692}{0,188} \times 100\% = 63,19\%$

4. Ekstrak etanol buah okra 100 mg

- Replikasi 1 =  $\frac{0,185 - 0,08}{0,185} \times 100\% = 56,75\%$

- Replikasi 2=  $\frac{0,1855 - 0,0975}{0,1855} \times 100\% = 47,43\%$
- Replikasi 3=  $\frac{0,1907 - 0,056}{0,1907} \times 100\% = 70,63\%$
- Replikasi 4=  $\frac{0,1787 - 0,0735}{0,1787} \times 100\% = 58,86\%$
- Replikasi 5=  $\frac{0,188 - 0,0705}{0,188} \times 100\% = 62,5\%$

**Lampiran 14. Hasil uji statistik total AUC antiinflamasi dengan metode karagenan**

**Uji *Shapiro-wilk***

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
totalauc cmc	.248	5	.200	.950	5	.739
na diklofenak	.230	5	.200	.896	5	.389
ekstrak buah okra 25 mg	.281	5	.200	.919	5	.522
ekstrak buah okra 50 mg	.203	5	.200	.946	5	.711
ekstrak buah okra 100 mg	.183	5	.200	.977	5	.918

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

**Uji Levene**

**Test of Homogeneity of Variances**

Totalauc

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.093	4	20	.387

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

**Uji One Way ANOVA**

**ANOVA**

Totalauc

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.045	4	.011	30.134	.000
Within Groups	.007	20	.000		
Total	.052	24			

Kesimpulan : Sig <0,05 H0 ditolak, maka terdapat perbedaan total AUC antiinflamasi antar kelompok perlakuan

## Uji Post Hoc (LSD)

### Multiple Comparisons

Totalauc  
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
cmc	na diklofenak	.107910	.012183	.000	.08250	.13332
	ekstrak buah okra 25 mg	.054810	.012183	.000	.02940	.08022
	ekstrak buah okra 50 mg	.099490	.012183	.000	.07408	.12490
	ekstrak buah okra 100 mg	.110090	.012183	.000	.08468	.13550
na diklofenak	Cmc	-.107910	.012183	.000	-.13332	-.08250
	ekstrak buah okra 25 mg	-.053100	.012183	.000	-.07851	-.02769
	ekstrak buah okra 50 mg	-.008420	.012183	.497	-.03383	.01699
	ekstrak buah okra 100 mg	.002180	.012183	.860	-.02323	.02759
ekstrak buah okra 25 mg	Cmc	-.054810	.012183	.000	-.08022	-.02940
	na diklofenak	.053100	.012183	.000	.02769	.07851
	ekstrak buah okra 50 mg	.044680	.012183	.002	.01927	.07009
	ekstrak buah okra 100 mg	.055280	.012183	.000	.02987	.08069
ekstrak buah okra 50 mg	Cmc	-.099490	.012183	.000	-.12490	-.07408
	na diklofenak	.008420	.012183	.497	-.01699	.03383
	ekstrak buah okra 25 mg	-.044680	.012183	.002	-.07009	-.01927
	ekstrak buah okra 100 mg	.010600	.012183	.395	-.01481	.03601
ekstrak buah okra 100 mg	Cmc	-.110090	.012183	.000	-.13550	-.08468
	na diklofenak	-.002180	.012183	.860	-.02759	.02323
	ekstrak buah okra 25 mg	-.055280	.012183	.000	-.08069	-.02987
	ekstrak buah okra 50 mg	-.010600	.012183	.395	-.03601	.01481

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

Kesimpulan : dari data diatas dapat dilihat bahwa kontrol negatif berbeda bermakna dengan semua kelompok sedangkan kontrol positif berbeda bermakna dengan kelompok ekstrak 25 mg/kg bb

**Lampiran 15. Hasil uji statistik persen daya antiinflamasi (% DAI) dengan metode karagenan**

**Uji *Shapiro-wilk***

**Tests of Normality<sup>b</sup>**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
persenDAI	na diklofenak	.280	5	.200	.875	5	.287
	ekstrak 25 mg	.305	5	.145	.895	5	.381
	ekstrak 50 mg	.194	5	.200	.960	5	.805
	ekstrak 100 mg	.185	5	.200	.987	5	.969

a. Lilliefors Significance Correction

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

b. There are no valid cases for persenDAI when kelompok = 1,000. Statistics cannot be computed for this level.

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

**Uji Levene**

**Test of Homogeneity of Variances**

persenDAI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.289	3	16	.833

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

**Uji One Way ANOVA**

**ANOVA**

persenDAI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2900.340	3	966.780	7.125	.003
Within Groups	2170.979	16	135.686		
Total	5071.319	19			

Kesimpulan : Sig <0,05 H0 ditolak, maka terdapat perbedaan total AUC antiinflamasi antar kelompok perlakuan

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

### **Multiple Comparisons**

persenDAI

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
na diklofenak	ekstrak 25 mg	28.49400	7.36712	.001	12.8764	44.1116
	ekstrak 50 mg	4.59800	7.36712	.541	-11.0196	20.2156
	ekstrak 100 mg	-1.19200	7.36712	.873	-16.8096	14.4256
ekstrak 25 mg	na diklofenak	-28.49400	7.36712	.001	-44.1116	-12.8764
	ekstrak 50 mg	-23.89600	7.36712	.005	-39.5136	-8.2784
	ekstrak 100 mg	-29.68600	7.36712	.001	-45.3036	-14.0684
ekstrak 50 mg	na diklofenak	-4.59800	7.36712	.541	-20.2156	11.0196
	ekstrak 25 mg	23.89600	7.36712	.005	8.2784	39.5136
	ekstrak 100 mg	-5.79000	7.36712	.443	-21.4076	9.8276
ekstrak 100 mg	na diklofenak	1.19200	7.36712	.873	-14.4256	16.8096
	ekstrak 25 mg	29.68600	7.36712	.001	14.0684	45.3036
	ekstrak 50 mg	5.79000	7.36712	.443	-9.8276	21.4076

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

Kesimpulan : dari data diatas dapat dilihat bahwa kontrol positif berbeda bermakna dengan kelompok ekstrak etanol 25 mg/kg bb dan tidak berbeda bermakna dengan ekstrak etanol 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb

### Lampiran 16. Hasil uji selisih waktu udema T30

#### Uji *Shapiro-wilk*

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
T30	cmc	.230	5	.200*	.901	5	.413
	na diklofenak	.214	5	.200*	.887	5	.341
	ekstrak 25 mg	.202	5	.200*	.920	5	.530
	ekstrak 50 mg	.283	5	.200*	.909	5	.460
	ekstrak 100 mg	.300	5	.161	.883	5	.325

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

#### Uji Levene

**Test of Homogeneity of Variances**

T30

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.285	4	20	.884

Kesimpulan : sig >0,05 H0 diterima, maka total AUC antiinflamasi terdistribusi normal

### **Uji One Way ANOVA**

#### **ANOVA**

T30

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	4	.000	12.990	.000
Within Groups	.000	20	.000		
Total	.001	24			

Kesimpulan : Sig <0,05 H0 ditolak, maka terdapat perbedaan total AUC antiinflamasi antar kelompok perlakuan

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

#### **Multiple Comparisons**

T30  
LSD

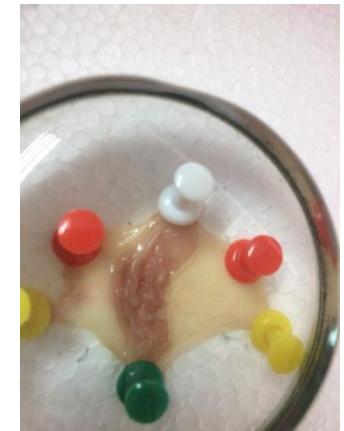
(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Cmc	na diklofenak	.01460	.00257	.000	.0092	.0200
	ekstrak 25 mg	.00860	.00257	.003	.0032	.0140
	ekstrak 50 mg	.01240	.00257	.000	.0070	.0178
	ekstrak 100 mg	.01660	.00257	.000	.0112	.0220
na diklofenak	Cmc	-.01460	.00257	.000	-.0200	-.0092
	ekstrak 25 mg	-.00600	.00257	.030	-.0114	-.0006
	ekstrak 50 mg	-.00220	.00257	.402	-.0076	.0032
	ekstrak 100 mg	.00200	.00257	.445	-.0034	.0074
ekstrak 25 mg	Cmc	-.00860	.00257	.003	-.0140	-.0032
	na diklofenak	.00600	.00257	.030	.0006	.0114
	ekstrak 50 mg	.00380	.00257	.155	-.0016	.0092
	ekstrak 100 mg	.00800	.00257	.005	.0026	.0134
ekstrak 50 mg	Cmc	-.01240	.00257	.000	-.0178	-.0070
	na diklofenak	.00220	.00257	.402	-.0032	.0076
	ekstrak 25 mg	-.00380	.00257	.155	-.0092	.0016
	ekstrak 100 mg	.00420	.00257	.118	-.0012	.0096
ekstrak 100 mg	Cmc	-.01660	.00257	.000	-.0220	-.0112
	na diklofenak	-.00200	.00257	.445	-.0074	.0034
	ekstrak 25 mg	-.00800	.00257	.005	-.0134	-.0026
	ekstrak 50 mg	-.00420	.00257	.118	-.0096	.0012

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

Kesimpulan : dari data diatas dapat dilihat bahwa kontrol positif berbeda bermakna dengan kelompok ekstrak etanol 25 mg/kg bb dan tidak berbeda bermakna dengan ekstrak etanol 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb

**Lampiran 17. Hasil uji makroskopik keamanan lambung**

Makroskopik lambung tikus normal



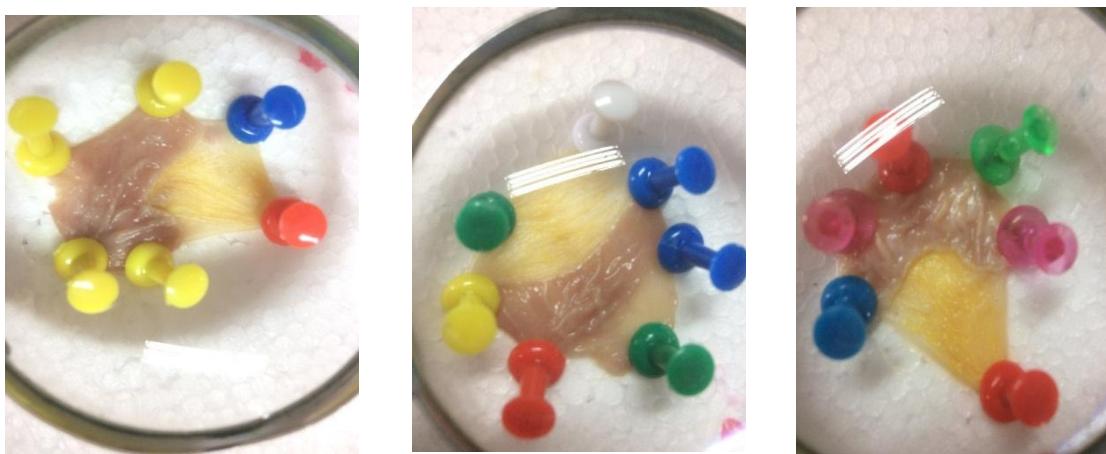
Makroskopik lambung tikus kelompok negatif (CMC-Na)



Makroskopik lambung tikus kelompok positif (Na-diklofenak)



Makroskopik lambung tikus kelompok ekstrak etanol 25 mg/kg bb



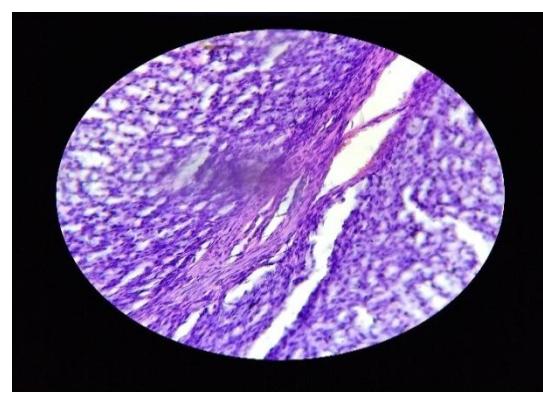
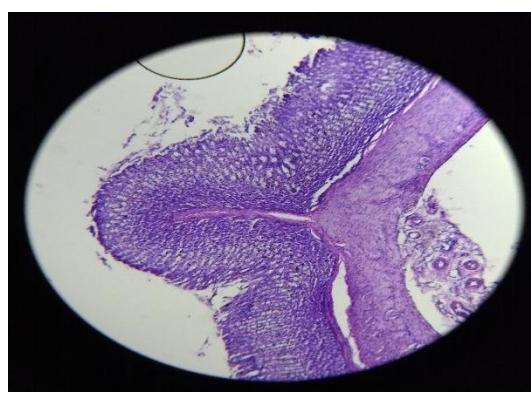
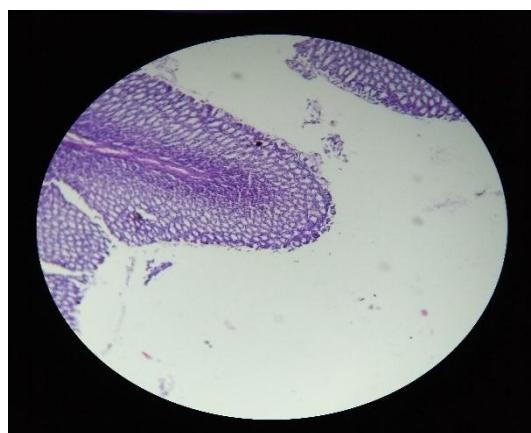
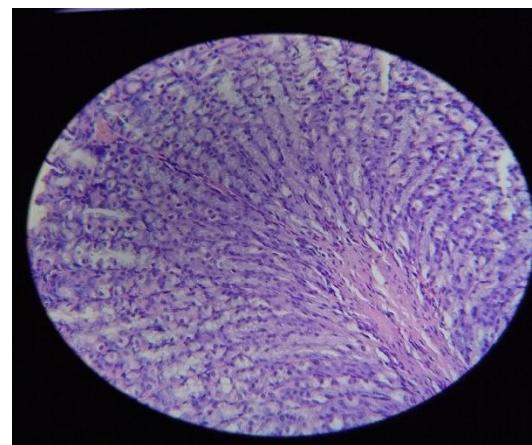
Makroskopik lambung tikus kelompok ekstrak etanol 50 mg/kg bb



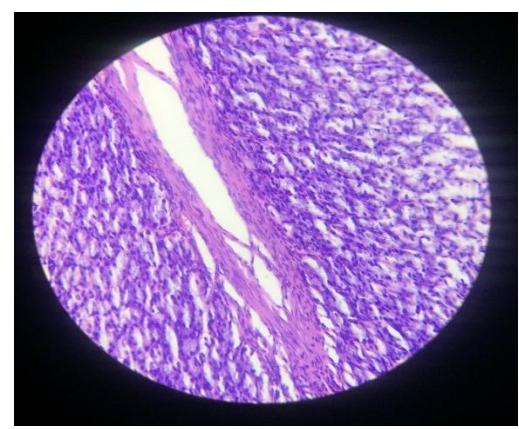
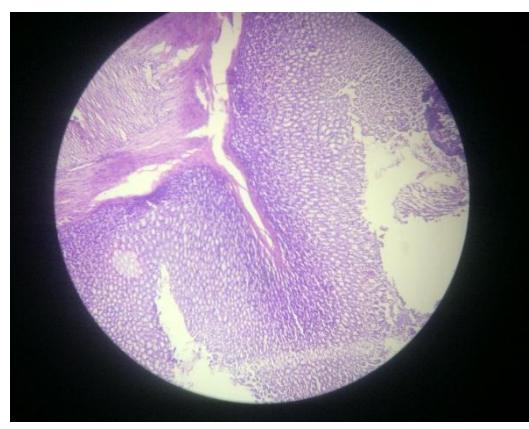
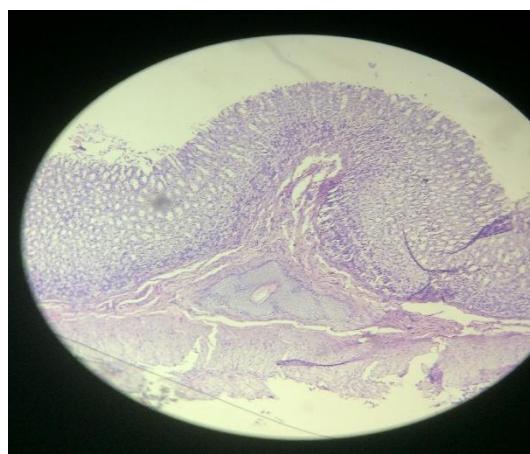
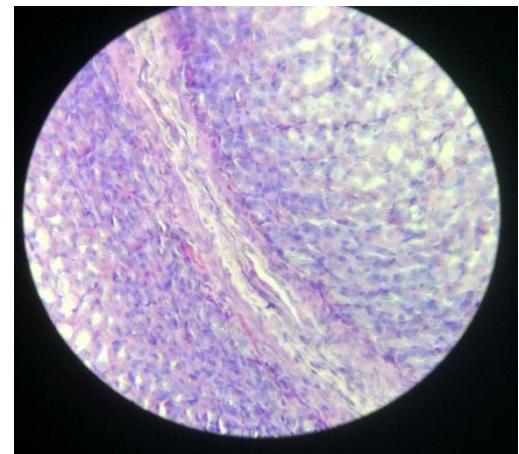
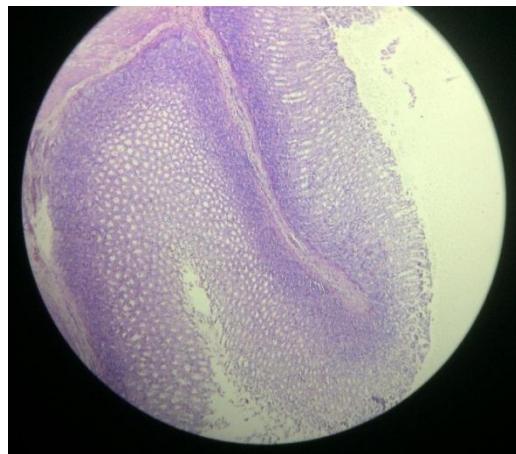
Makroskopik lambung tikus kelompok ekstrak etanol 100 mg/kg bb

**Lampiran 18. Hasil pemeriksaan keamanan lambung secara mikroskopik**

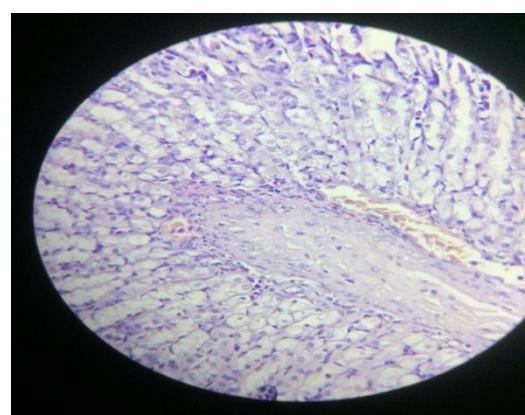
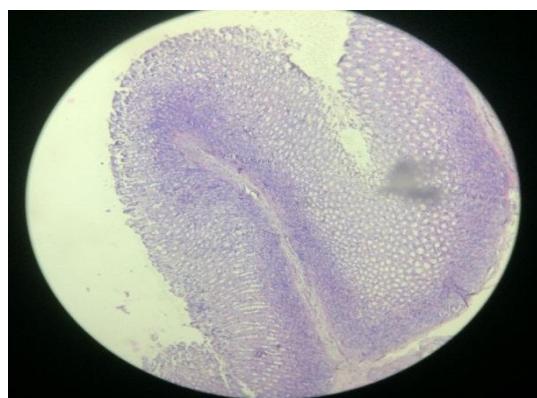
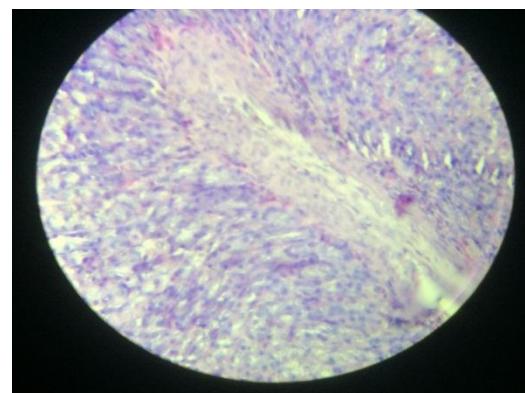
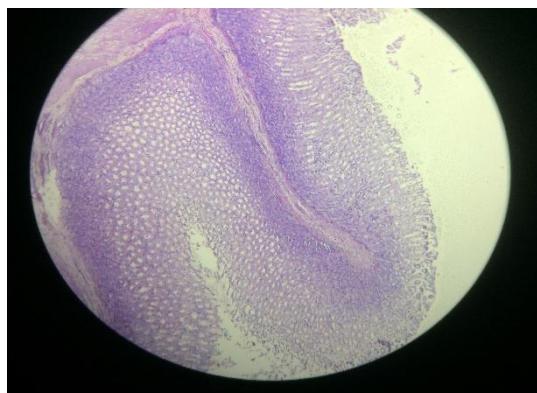
- Pemeriksaan mikroskopik kelompok normal perbesaran 10x dan 40x



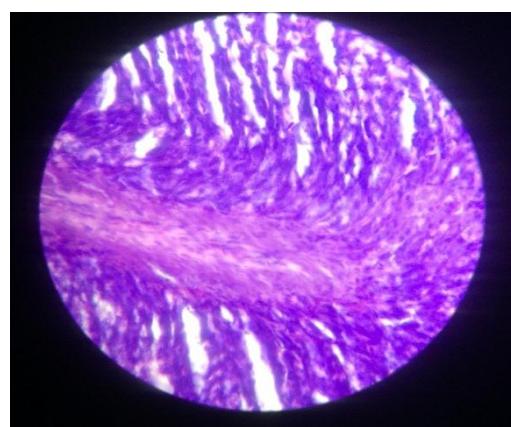
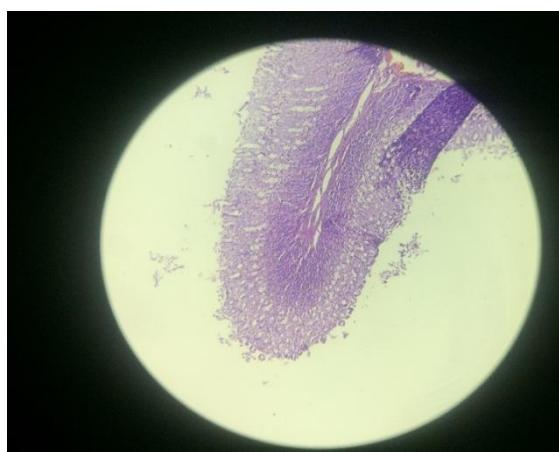
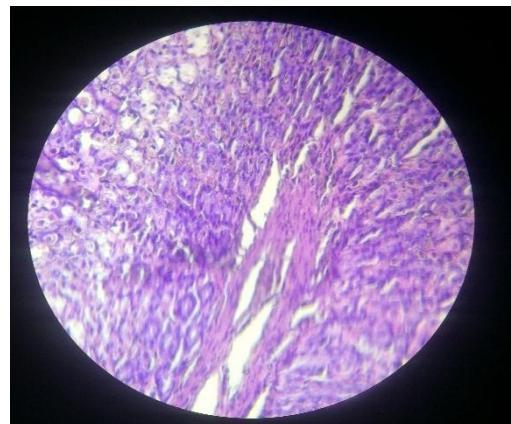
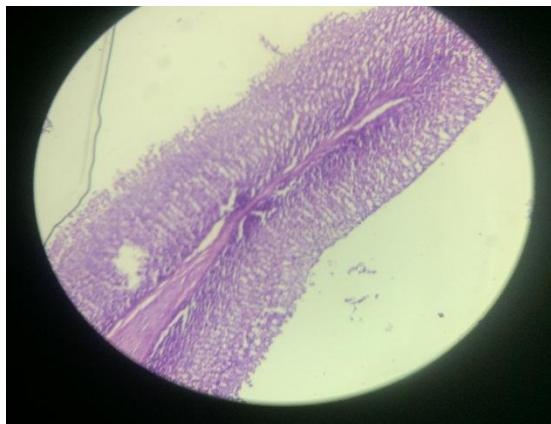
- Pemeriksaan mikroskopik pada kelompok negatif (CMC-Na)



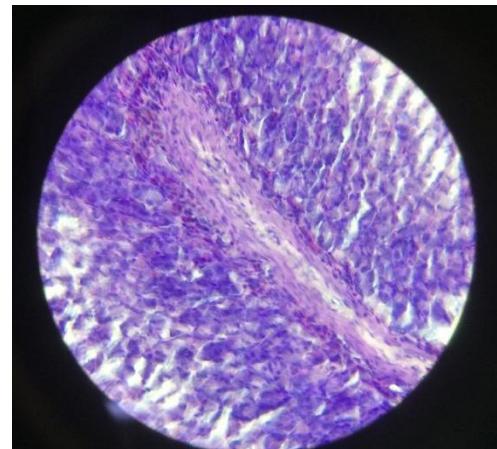
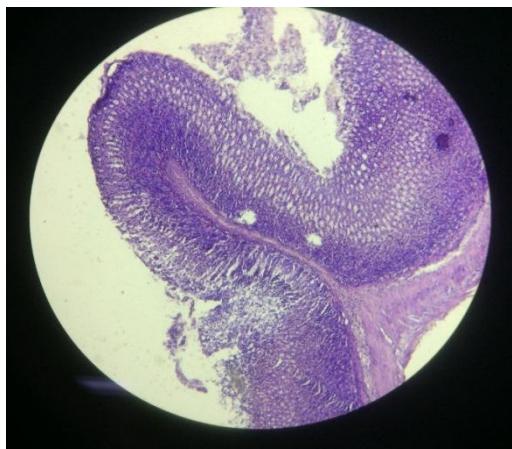
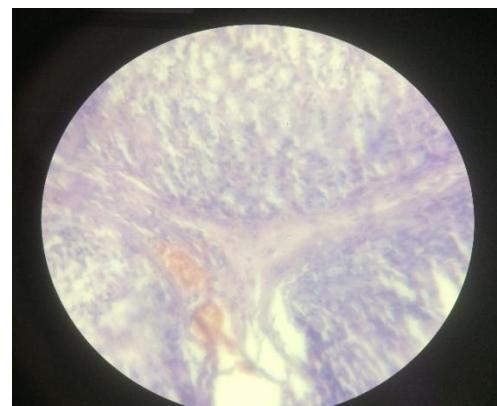
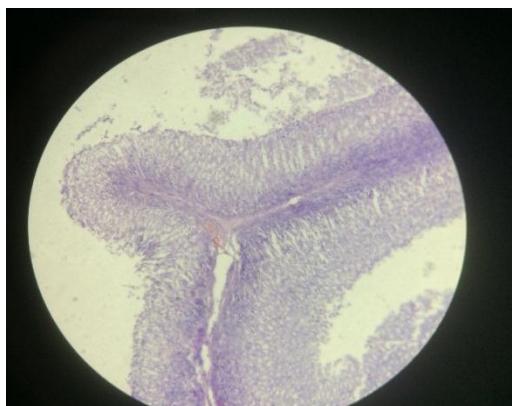
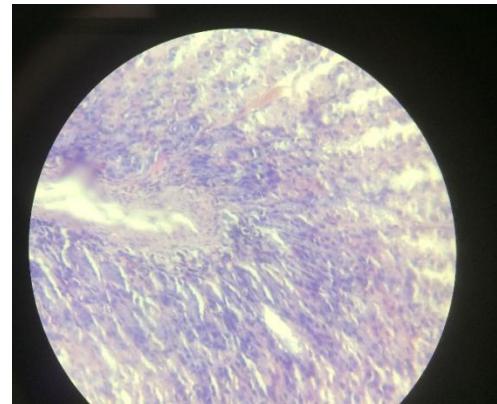
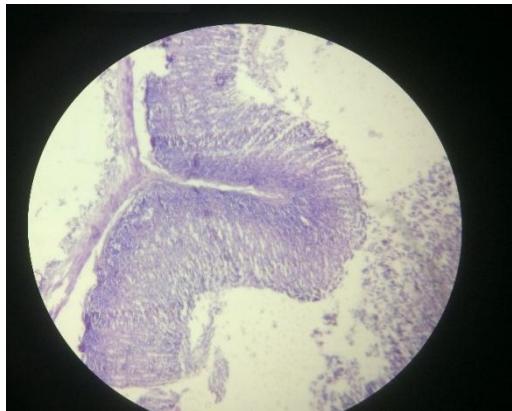
- Pemeriksaan mikroskopik pada kelompok Na diklofenak



- Pemeriksaan mikroskopik lambung kelompok ekstrak etanol buah okra  
**25 mg/kg bb**



- Pemeriksaan mikroskopik lambung kelompok ekstrak etanol buah okra  
50 mg/kg bb



- Pemeriksaan mikroskopik lambung kelompok ekstrak etanol buah okra  
**100 mg/kg bb**

