



**POTENSI EKSTRAK DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
SEBAGAI ANTIINFLAMASI DALAM MENURUNKAN
JUMLAH MONOSIT PADA MODEL TIKUS INFLAMASI**

SKRIPSI

Oleh :

Putri Debora Br Girsang

NIM 211610101132

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
JEMBER
2025**



**POTENSI EKSTRAK DAUN BIDURI (*Calotropis gigantea*)
SEBAGAI ANTIINFLAMASI DALAM MENURUNKAN
JUMLAH MONOSIT PADA MODEL TIKUS INFLAMASI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

SKRIPSI

Oleh

Putri Debora Br Girsang

NIM 211610101132

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
JEMBER
2025**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan pertolongan-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak saya tercinta, Jamahda Girsang, SE., seorang yang menjadi panutan dan selalu memberi semangat dan kasih sayang kepada saya. Terima kasih saya ucapkan kepada beliau, berkat doa dan nasihat beliau saya dapat sampai di tahap ini;
3. Mamak saya tersayang, Lenny Herawaty Br Munthe, S. Keb., seorang yang saya kagumi, orang yang selalu memberi kasih sayang dan menjadi pendoa dan penyemangat bagi saya di setiap musim kehidupan saya. Saya ucapkan terima kasih karena telah memberikan semangat dan doa-doa yang selalu menyertai saya hingga sampai di tahap ini;
4. Kakak saya Melia Anggreyni Br Girsang, S.Ak., adik saya Tesa Agatha dan Yoel Andra tersayang yang selalu memberikan dukungan, doa dan semangat;
5. Para guru dan dosen yang saya hormati, yang telah memberikan pengetahuan, Pelajaran hidup serta bimbingan dengan penuh kesabaran;
6. Alamater tercinta, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. Diri saya sendiri, Terima kasih karena sudah memilih untuk bertahan dan bangkit, serta bertanggung jawab atas pilihan yang telah diambil.

MOTO

“Serahkanlah kuatirmu kepada Tuhan, maka Ia akan memelihara engkau! Tidak untuk selama-lamanya dibiarkan-Nya orang benar itu goyah.”

(Mazmur 55 : 23)

“Percayalah kepada Tuhan dengan segenap hatimu, dan janganlah bersandar kepada pengertianmu sendiri.”

(Amsal 3 : 5)

*Alkitab. 2006. Jakarta: Lembaga Alkitab Indonesia.

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putri Debora Br Girsang

NIM : 211610101132

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “*Potensi Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea) sebagai Antiinflamasi dalam Menurunkan Jumlah Monosit pada Model Tikus Inflamasi*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan jiplakan. Saya bertanggung jawab atas kesalahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Januari 2025

Yang menyatakan,

Putri Debora Br Girsang

NIM 211610101132

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul “*Potensi Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea) sebagai Antiinflamasi dalam Menurunkan Jumlah Monosit pada Model Tikus Inflamasi*”

telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 14 Januari 2025

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Pembimbing

1. Pembimbing Utama

Nama : drg. Pudji Astuti, M. Kes

NIP : 196810201996012001

Tanda Tangan

(.....)

2. Pembimbing Anggota

Nama : Sari Setyaningsih S. Si, M. Biomed

NIP : 198611302019032017

Tanda Tangan

(.....)

Penguji

1. Penguji Utama

Nama : Dr. drg. Tecky Indriana, M. Kes

NIP : 196811261997022001

Tanda Tangan

(.....)

2. Penguji Anggota

Nama : Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M. Kes

NIP : 197512022003122001

Tanda Tangan

(.....)

ABSTRACT

Introduction: Inflammation is a defense response aimed at eliminating the underlying cause of injury. To cure inflammation, anti-inflammatory drugs are needed, one of which is aspirin. Aspirin has side effects of aspirin therapy, namely gastric inflammation. Therefore, alternative drugs are needed to minimize side effects from natural ingredients, namely Biduri. The purpose of this study was to examine the potential of biduri (*Calotropis gigantea*) leaf extract as an anti-inflammatory in reducing the number of monocytes in an inflammatory rat model.

Methods: This research method is experimental laboratory in-vivo with serial group design. The total sample was 25 male Wistar rats divided into 5 groups, namely the group (K-) given distilled water; (K+) given aspirin, EDB1, namely a dose of 100 mg/kg BW, EDB2, namely a dose of 200 mg/kg BW and EDB3, namely a dose of 300 mg/kg BW. **Results:** In the calculation of the average number of monocytes in the group (K +), EDB1, EDB2 and EDB3 found a decrease until the third day. Based on statistical tests on the Levene test and the Shapiro Wilk test, the data were found to be normally distributed and homogeneous. So that it can be continued with the Two-way ANOVA test which shows there are significant differences ($p > 0.05$) in group variables. The results of the Least Significant Difference (LSD) test did not show significant differences between groups but there was a tendency to decrease the number of monocytes from day 1, day 3 at doses of EDB 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW and 300 mg/kg BW. **Conclusion:** Biduri (*Calotropis gigantea*) leaf extract has a tendency to reduce the number of monocytes in inflammatory rat models

Keywords: *Calotropis gigantea*, inflammation, monocyte.

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai Antiinflamasi dalam Menurunkan Jumlah Monosit pada Model Tikus Inflamasi; Putri Debora Br Girsang; 211610101132; 2025; 34 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Inflamasi adalah respon pertahanan bertujuan untuk menghilangkan penyebab utama jejas. Inflamasi menyebabkan leukosit tinggi dimana ini merupakan sinyal dari tubuh dari adanya jejas. Respon inflamasi ditandai dengan adanya ciri *dolor, calor, tumor, rubor* dan *functio laesa*. Untuk menyembuhkan inflamasi dibutuhkan obat antiinflamasi salah satunya adalah aspirin. Aspirin memiliki efek samping yaitu peradangan lambung. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif untuk meminimalisir efek samping. Tujuan dari penelitian ini adalah ingin meneliti potensi ekstrak daun biduri sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara *in-vivo* dengan rancangan *serial group design*. Total sampel sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok (K-) diberi aquades, (K+) diberi aspirin, EDB1 yaitu dosis 100 mg/kg BB, EDB2 yaitu dosis 200 mg/kg BB dan EDB3 yaitu dosis 300 mg/kg BB. Setiap kelompok kemudian dilakukan pengambilan darah pra-perlakuan karagen, setelah diberi karagen, setelah diberi ekstrak hari pertama dan hari ketiga. Setelah pengambilan sampel darah dilakukan pewarnaan dan pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x oleh 3 pengamat.

Hasil penghitungan rata-rata jumlah monosit didapatkan peningkatan grafik jumlah monosit setelah diinduksi karagen. Uji *Shapiro wilk* dan uji *Levene* selanjutnya dilakukan untuk menentukan apakah data berdistribusi normal dan homogen. Uji *Two way ANOVA* dapat dilakukan karena hasil uji menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen. Dengan nilai signifikansi sebesar 0.011 pada Uji *Two way ANOVA* sehingga memungkinkan untuk dilanjutkan *Least Significant Difference (LSD)*. Uji *Least Significant Difference (LSD)* menunjukkan tidak terdapat

perbedaan bermakna antara kelompok (K-) dengan kelompok (K+), EDB, EDB2 dan EDB3, namun ada kecenderungan dari jumlah monosit tiap kelompok yang turun dari hari 0 ke hari 1, hari ke-3 pada (K+), EDB 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB. Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun biduri mempunyai kecenderungan dalam menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi.

PRAKATA

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas Rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “*Potensi Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea) sebagai Antiinflamasi dalam menurunkan Jumlah Monosit pada Model Tikus Inflamasi*”. Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan pada Program Sarjana (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapat banyak sekali doa, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Atas seluruh bantuan dan dukungan tersebut, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. drg. Dwi Kartika Apriyono, M. Kes., Sp. OF(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Pudji Astuti, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Sari Setyaningsih, S. Si., M. Biomed. Selaku dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberi petunjuk dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
3. Dr. drg. Tecky Indriana, M. Kes. selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M. Kes. selaku dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktunya untuk menguji serta telah berkenan memberikan saran dan masukan untuk penyempurnaan penulisan skripsi ini;
4. drg. Zainul Cholid Sp. BM. Selaku Dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan dan arahnya selama penulis menempuh studi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Bu Indri, Mas Agus dan seluruh staf pengajar dan karyawan yang telah meluangkan waktu dan bantuannya sehingga penelitian dapat berjalan lancar dan skripsi dapat terselesaikan;
6. Bapak dan Ibunda tercinta, Kakak dan adik adik saya tersayang yang selalu memberikan dukungan, kasih sayang, serta doa yang senantiasa terpanjatkan selama hidup saya;

7. Teman-teman saya Shyella, Rismeivani, Fellycia, Ingrid, Brigita, Heni, Arum, Angela, Indah dan Natasya yang telah menyemangati dan memberikan motivasi;
8. Teman-teman satu penelitian Dea Permata dan Aisyah Amalia Putri yang telah membantu dan berjuang bersama melakukan penelitian
9. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung dalam terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu kesehatan. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Jember, 2025

Penulis

DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN.....	ii
MOTO.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
ABSTRACT.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Inflamasi.....	4
2.1.1 Mekanisme Inflamasi	4
2.1.2 Monosit	6
2.2 Karagen	7
2.3 Antiinflamasi.....	7
2.3.1 Non Steroidal Anti-Inflammatoty Drugs (NSAID).....	7
2.3.2 Aspirin.....	8
2.4 Daun Biduri.....	9
2.5 Metode Ekstraksi	10
2.5.1 Maserasi	11
2.6 Kerangka Konsep	12

2.7 Deskripsi kerangka konsep.....	13
2.8 Hipotesa	13
BAB 3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	14
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2.1 Waktu Penelitian.....	14
3.2.2 Tempat Penelitian	14
3.3 Variabel Penelitian.....	14
3.3.1 Variabel Bebas.....	14
3.3.2 Variabel Terikat	14
3.3.3 Variabel Terkendali.....	14
3.4 Definisi Operasional Penelitian	15
3.4.1 Model tikus Inflamasi	15
3.4.2 Jumlah Monosit.....	15
3.5 Sampel Penelitian	15
3.5.1 Pembagian Kelompok Sampel	15
3.5.2 Besar Sampel Penelitian.....	15
3.5.3 Kriteria Sampel	16
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.6.1 Alat Penelitian	16
3.6.2 Bahan Penelitian.....	17
3.7 Prosedur Penelitian	17
3.7.1 Permohonan Kode Etik <i>Ethical Clearance</i>	17
3.7.2 Identifikasi Tanaman	17
3.7.3 Persiapan Hewan Coba	17
3.7.4 Tahap Pembuatan Ekstrak Daun Biduri	17
3.7.5 Pembuatan Larutan Aspirin.....	18
3.7.6 Pembuatan Suspensi Karagen	19
3.7.7 Tahap Perlakuan	19
3.7.8 Tahap Pengamatan.....	20
3.8 Analisis Data	21

3.9 Alur Penelitian	22
BAB 4. HASIL dan PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil Penelitian	23
4.2 Analisis Data.....	24
4.3 Pembahasan	25
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Keterbatasan.....	28
5.3 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	33

DAFTAR TABEL

4.1 Hasil perhitungan jumlah monosit model tikus inflamasi.....	25
4.2 Hasil uji <i>Two way ANOVA</i> jumlah monosit model tikus inflamasi.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sel monosit secara mikroskopis perbesaran 1600x.....	6
Gambar 2.2 Tanaman biduri di Watu Ulo, Jember	10
Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian.....	12
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	24
Gambar 4.1 Grafik perhitungan jumlah monosit model tikus inflamasi.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Ethical Clearance.....	33
Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman Biduri.....	33
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian Laboratorium Kedokteran Gigi Dasar	33
Lampiran 4. Surat Izin Penelitian Laboratorium RSGM	33
Lampiran 5. Surat Izin Penelitian Laboratorium FMIPA.....	33
Lampiran 6. Surat Izin Penelitian Laboratorium Polije	33
Lampiran 7. Alat dan Bahan Penelitan.....	33
Lampiran 8. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Biduri	33
Lampiran 9. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Biduri.....	33
Lampiran 10. Prosedur Perlakuan Hewan Coba	33
Lampiran 11. Prosedur Pengamatan.....	33
Lampiran 12. Hasil Penelitian.....	33
Lampiran 13. Hasil Analisis Data	33
Lampiran 14. Tabel Hasil uji <i>Least Significant Difference</i>	33
Lampiran 15. Tabel Hasil Perhitungan Jumlah Monosit.....	33
Lampiran 16. Sertifikat Karagen.....	33

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Inflamasi adalah respon normal tubuh terhadap injuri atau infeksi (Fitriyanti *et al.*, 2020). Inflamasi menghasilkan perubahan klinis berupa *dolor* (nyeri), *tumor* (bengkak), *kalor* (hangat), *rubor* (merah) dan *functio laesa* (gangguan fungsi) (Akrom dan Titiek, 2021). Inflamasi dibedakan menjadi dua yaitu inflamasi akut dan kronik (Emelda *et al.*, 2022). Inflamasi akut merupakan peradangan yang terjadi selama beberapa menit hingga jam, biasanya hilang dalam beberapa hari. Apabila Inflamasi akut sudah tidak terselesaikan menjadi inflamasi kronis, ditandai dengan proses yang lambat dalam hitungan bulan hingga tahun. Sel yang dominan pada reaksi inflamasi kronik adalah sel limfosit, monosit dan makrofag (Faizal *et al.*, 2023).

Monosit adalah bagian dari sistem imun bawaan yang berfungsi untuk mengatur homeostatis seluler, khususnya pada kondisi infeksi dan inflamasi (Espinoza dan Prabhu, 2023). Monosit merupakan leukosit terbesar yang berasal dari sumsum tulang. Pada kondisi inflamasi, monosit yang memiliki inti mononuclear migrasi ke jaringan dan mengalami diferensiasi menjadi sel dendritik dan makrofag (Christina *et al.*, 2015). Monosit dapat hidup dalam darah selama 24 jam sampai 48 jam dan kemudian masuk dalam jaringan menjadi fagosit yang lebih kuat.

Inflamasi dapat diobati menggunakan obat antiinflamasi, salah satunya yaitu Obat golongan antiinflamasi non steroid (Lestari *et al.*, 2023). Obat antiinflamasi bekerja dengan berbagai cara yaitu dengan menghambat pelepasan prostaglandin dari sel pembentuknya, menghambat migrasi leukosit ke daerah inflamasi dan sebagainya. Obat-obatan NSAID yang umum digunakan adalah aspirin, ibuprofen dan asam mefenamat (Sari dan Christin, 2023 ; Rahmadanita dan Sumarno, 2019). Aspirin bekerja dengan menghambat aktivitas enzim yang disebut siklooksigenase yang berperan pada pembentukan prostaglandin (Navaratnam *et al.*, 2016). Aspirin juga memiliki efek mengurangi agregasi platelet pada pembekuan darah. Namun

terdapat efek samping yang tidak dapat dihindari dari penggunaan obat-obat kimia ini terutama pada penggunaan jangka panjang seperti pendarahan di gastrointestinal, hipertensi dan kerusakan ginjal.

Penelitian obat antiinflamasi dengan tanaman herbal untuk meminimalisir efek samping perlu diteliti lebih dalam. Di Indonesia penggunaan obat tradisional masih dipercaya. Pemanfaatan tanaman herbal dapat diperoleh dari bagian akar, kulit, daun, bunga dan buah (Kumontoy *et al.*, 2023). Adapun senyawa yang memiliki peran dalam memberi efek antiinflamasi adalah flavonoid, glikosida dan tannin (Fitriyanti *et al.*, 2020). Biduri atau *Calotropis gigantea* dapat ditemukan di Jawa Timur salah satunya di daerah Watu Ulo, Jember. Selama ini tanaman biduri hanya digunakan untuk makanan jangkrik terutama pada daunnya dan getahnya digunakan sebagai obat sakit gigi (Astuti *et al.*, 2023). Alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida merupakan senyawa yang dapat ditemukan pada tanaman biduri (Kedang *et al.*, 2020). Senyawa yang berperan dalam memberi efek antiinflamasi dapat dipengaruhi oleh adanya flavonoid, glikosida dan tannin (Fitriyanti *et al.*, 2020).

Tikus albino atau yang sering disebut “tikus putih” digunakan sebagai hewan coba karena dianggap dapat mewakili sistem biologi mamalia (Fitria *et al.*, 2015). Untuk menentukan efektivitas obat antiinflamasi dan pembentukan mediator inflamasi pada hewan coba sudah banyak dilakukan sebagai model inflamasi (Widyarini *et al.*, 2023). Karagen umumnya digunakan sebagai penginduksi untuk menghasilkan reaksi inflamasi pada tikus. Pada penelitian terdahulu melaporkan bahwa karagen telah banyak digunakan sebagai model untuk melihat aktivitas obat antiinflamasi pada hewan coba (Wei *et al.*, 2016). Model inflamasi dengan karagen efektif digunakan sebagai iritan untuk memicu inflamasi yang sifatnya sementara (Widyarini *et al.*, 2023).

Pada penelitian Vijay *et al.*, (2010) menyimpulkan bahwa dosis 200 mg/kg BB dosis ekstrak daun biduri dengan metode *in-vitro* menunjukkan efek antiinflamasi yang maksimal dan sebanding dengan yang dihasilkan oleh dosis 100 mg/Kg BB Ibuprofen. Akan tetapi, belum ada penelitian terkait dengan efek antiinflamasi dari daun biduri dengan dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB dan

300 mg/Kg BB dengan metode *in-vivo*, oleh sebab itu penulis melakukan penelitian mengenai potensi ekstrak daun biduri dengan dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB dan 300 mg/Kg BB sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah sel inflamasi akut yang diamati yaitu monosit pada tikus wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat potensi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui dan menganalisis potensi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberi informasi dan pengetahuan mengenai pemanfaatan bahan alami, yaitu daun biduri sebagai antiinflamasi pada monosit
2. Memberikan informasi mengenai manfaat daun biduri hasil penelitian nantinya akan digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

Inflamasi adalah mekanisme pertahanan yang melibatkan sel tubuh, pembuluh darah dan protein serta mediator lain yang bertujuan menghilangkan agen penyebab. Tanpa inflamasi, luka tidak akan pernah sembuh dan infeksi tidak akan dapat diatasi. kemerahan (*rubor*), nyeri (*dolor*), panas (*kalor*), bengkak (*tumor*), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*) merupakan respon utama dari inflamasi (Akrom dan Titiek, 2021). Inflamasi merupakan salah satu penyebab leukosit mengalami kenaikan jumlah, dimana ini adalah sinyal bahwa terjadi infeksi atau penyakit dalam tubuh (Giyartika dan Soedjajadi, 2020). Inflamasi terbagi menjadi dua yaitu akut dan kronis.

2.1.1 Mekanisme Inflamasi

Inflamasi akut merupakan proses leukosit berakumulasi dengan protein plasma pada lokasi jejas. Leukosit akan menghilangkan agen penyebab dan memulai proses fagositosis serta melakukan pembersihan ketika sudah mencapai tempat jejas. Ketika cedera terjadi, mikroba atau benda asing akan melepaskan sinyal bahaya untuk membedakannya dengan jaringan sehat (Kumar *et al.*, 2017). Inflammasome yang bertugas memicu respon inflamasi merupakan oligomer multiprotein sitosolik dari sistem imun bawaan (Akrom dan Titiek, 2021). Enzim kaspase-1 akan mengubah bentuk prekursor sitokin inflamasi interleukin-1 β (IL-1 β) menjadi bentuk biologis aktif ketika *inflammasome* diaktifkan (Kumar *et al.*, 2017). IL-1 merupakan mediator penting dalam akumulasi leukosit sebagai respon inflamasi akut sehingga leukosit akan berfagositosis dan menghancurkan sel mati (Kumar *et al.*, 2017).

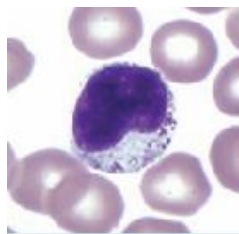
Pada respon awal diawali dengan vasokonstriksi selama beberapa detik lalu diikuti vasodilatasi arteriol yang dipicu oleh histamin, sehingga menyebabkan aliran darah meningkat dan ujung daerah kapiler akan terisi penuh darah. Hal ini yang memberikan dampak kemerahan (eritema) dan rasa panas pada respon inflamasi (Kumar *et al.*, 2017). Selanjutnya diikuti peningkatan permeabilitas

vascular, dimana dinding pembuluh darah berubah sehingga memicu pembuluh darah mengeluarkan protein plasma dan memasuki daerah injuri. Proses ini juga mengaktifkan sel endotel, menyebabkan perlekatan leukosit dan migrasi leukosit melalui dinding pembuluh darah meningkat. Respon inflamasi ini juga berdampak pada sel, dimana terjadi migrasi leukosit keluar dari sirkulasi akumulasi ditempat injuri, juga menyebabkan pengaktifan leukosit untuk mengeliminasi faktor penyebab injuri (Kumar *et al.*, 2017).

Inflamasi akut biasanya diikuti dengan pemulihan segera, namun jika stimulus tidak dihilangkan maka inflamasi akan berkembang menjadi kronik. Inflamasi kronik ialah peradangan yang berlangsung lebih lama dibanding akut, yaitu berminggu-minggu bahkan tahun (Kumar *et al.*, 2017). Inflamasi kronik ditandai dengan adanya pembentukan jaringan parut dari kolagen yang dihasilkan dari fibroblas (Akrom dan Titiek, 2021). Pada reaksi inflamasi kronik, jaringan inflamasi terinfiltrasi oleh sel limfosit dan fagosit mononuklear, monosit dan makrofag. Inflamasi kronik ditandai dengan hal berikut (Kumar *et al.*, 2017).

- Infiltrasi sel mononuklear, termasuk makrofag, limfosit dan sel plasma
- Kerusakan jaringan, sebagian besar disebabkan oleh agen penyebab inflamasi
- Pemulihan, melibatkan proliferasi pembuluh darah baru (angiogenesis) dan fibrosis.

2.1.2 Monosit



Gambar 2.1 Sel monosit secara mikroskopis perbesaran 1600x
(Sumber: Mescher, 2018)

Monosit adalah sel darah putih dengan jumlah normal monosit dalam darah manusia berjumlah sekitar 2-10% dari total leukosit darah (Akrom dan Titiek, 2021). Monosit memiliki ukuran antara 14 hingga 20 μm diameternya (Welkriana dan Heti, 2020). Monosit berwarna lebih muda daripada inti limfosit, memiliki

struktur inti bervariasi dari bulat atau lonjong hingga berbentuk seperti tapal kuda. Memiliki sitoplasma yang banyak dibanding sel lain dan sedikit basofilik dengan granula halus (Eroschenko, 2017).

Leukosit utama yang berperan pada inflamasi akut adalah neutrofil (Kumar *et al.*, 2017). Ketika terjadi injuri maka akan menyebabkan inflamasi, sehingga monosit akan mengatasi inflamasi bersama dengan neutrofil (Welkriana dan Heti, 2020). Namun monosit merespon lambat dan terus berfungsi dalam fase kronik dari fagosit (Giyartika dan Soedjajadi, 2020). Jika injuri di jaringan tidak segera diatasi, sumsum tulang akan dirangsang untuk memproduksi banyak monosit dengan kecepatan 20-50 kali lebih tinggi dari biasanya (Welkriana dan Heti, 2020).

Monosit yang dihasilkan dari prekursor sumsum tulang beredar selama 2 hari dalam darah. Selama 24 jam hingga 48 jam, adhesi dan kemokin akan menyebabkan monosit bermigrasi ke jaringan yang rusak. Setelah masuk jaringan, monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag, yang lebih mampu fagositosis dan memiliki umur yang lebih lama daripada monosit (Kumar *et al.*, 2017).

2.2 Karagen

Untuk menghasilkan inflamasi pada tikus dilakukan dengan menginduksi karagen. Karagen merupakan polisakarida tersulfatasi yang berasal dari rumput laut merah (Borsani *et al.*, 2021). Inflamasi yang diinduksi karagen efektif digunakan sebagai media untuk memicu inflamasi yang bersifat sementara (Widyarini *et al.*, 2023). Injeksi karagen dengan subkutan akan menghasilkan efek inflamasi lokal yang mencirikan kelima tanda inflamasi (Widyarini *et al.*, 2023). Karagen sebagai sumber inflamasi dapat digunakan untuk mengobservasi proses terjadinya inflamasi pada hewan coba dan sebagai metode untuk memonitor respon inflamasi akibat pemberian obat antiinflamasi pada hewan coba (Widyarini *et al.*, 2023).

Mekanisme efek karagen diawali dengan 90 menit pertama pelepasan mediator inflamasi yaitu histamin dan serotonin (Mukhriani *et al.*, 2020). Pelepasan bradykinin terjadi pada fase kedua selama 1,5 sampai 2,5 jam setelah induksi. Tiga jam kemudian, prostaglandin akan dilepas selama fase ketiga. Gambaran klinis respon inflamasi akan berkembang cepat dan maksimal selama 5 jam setelah

diinduksi (Mukhriani *et al.*, 2020). Terjadi rubor (kemerahan), tumor (bengkak) dan pendarahan ringan pada daerah yang diinduksi dengan pengamatan makroskopis setelah induksi menggunakan dosis karagen berbeda (Widyarini *et al.*, 2023).

Karagen dengan konsentrasi 1% dianggap sudah mampu menimbulkan efek inflamasi (Tinesya *et al.*, 2019). Penelitian Widyarini *et al.*, (2023) menyatakan pembentukan edema oleh karagen konsentrasi 1%, 2% dan 4% yang paling optimal adalah konsentrasi 4%. Konsentrasi 2% dipilih untuk memberikan efek yang lebih maksimal dari 1% sebagai penginduksi inflamasi akut dan tidak meninggalkan bekas dan kerusakan jaringan (Tinesya *et al.*, 2019). Penyuntikan dilakukan secara subkutan menggunakan karagenan 2% bertujuan tujuan agar terabsorpsi secara perlahan dan berdurasi panjang (Latief *et al.*, 2021).

2.3 Antiinflamasi

2.3.1 *Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID)

Obat antiinflamasi merupakan obat yang bekerja dengan menekan maupun mengurangi inflamasi (Putri *et al.*, 2024). *Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID) adalah salah satu terapi farmakologi yang sering digunakan sebagai obat antipiretik, analgesik dan antiinflamasi. Sebagian besar efek terapi dan efek samping *Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID) utamanya bekerja dengan menghambat biosintesis prostaglandin (Ganiswarna *et al.*, 2019). Siklooksigenase dibutuhkan dalam mengubah asam arakidonat menjadi tromboksan (TXA₂), prostasiklin (PGI₁) dan prostaglandin (PGE₂). Siklooksigenase-1 dan siklooksigenase-2 merupakan isoform yang berperan dalam sintesis prostaglandin (Ridwan *et al.*, 2021). Enzim siklooksigenase-1 bersifat melindungi mukosa lambung dan trombosit dalam keadaan utuh, sedangkan siklooksigenase-2 ekspresinya meningkat pada keadaan inflamasi (Ridwan *et al.*, 2021).

Obat antiinflamasi non steroid memiliki sejumlah efek samping, termasuk gangguan pada kardiovaskuler, kerusakan pada gastrointestinal, disfungsi ginjal, bahkan kematian (Ridwan *et al.*, 2021). Berdasarkan hal itu maka peraturan penggunaan obat antiinflamasi ini harus benar benar ditaati untuk menghindari efek

samping yang tidak diinginkan bagi pasien. fisiologis ginjal bergantung pada Prostaglandin I₂ (prostasiklin). sehingga penghambatan sintesisnya dapat mengakibatkan retensi cairan (Zahra dan Novita, 2017). Karena hal tersebut retensi cairan dapat mengganggu homeostasis sistem kardiovaskular. Sehingga efek samping dari penggunaan obat antiinflamasi ini akan rentan pada pasien yang memiliki penyakit kardiovaskular (Zahra dan Novita, 2017).

2.3.2 Aspirin

Asam asetilsalisilat, juga dikenal sebagai Aspirin adalah obat turunan salisilat yang sifat analgesik dan antiinflamasi. Sebagai antiinflamasi, aspirin dan obat NSAID lainnya mengurangi rasa nyeri dengan menghambat produksi prostaglandin. Melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX) khususnya siklooksigenase-1 (COX-1), Aspirin mencegah pembentukan prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat (Rahmadanita dan Sumarno, 2019). Aspirin menghambat produksi tromboksan A₂ (TXA₂) pada trombosit dan prostasiklin (PGI₂) pada pembuluh darah melalui penghambatan enzim siklooksigenase secara permanen (Ganiswarna *et al.*, 2019). Aspirin dengan dosis rendah (20-40 mg) hanya dapat mengurangi produksi TXA tetapi dosis optimal (325 mg - 1 g/hari) tidak selektif (Ganiswarna *et al.*, 2019).

Efek samping aspirin yang bervariasi dipengaruhi oleh dosis, interaksi dengan obat lain yang kemungkinan mempengaruhi hemostasis serta faktor individu (Rahmadanita dan Sumarno, 2019). Efek samping yang sering dialami dari mengonsumsi aspirin adalah iritasi lambung (Indijah dan Purnama, 2016). Aspirin bekerja dengan menghambat pembentukan prostaglandin menyebabkan aliran darah menuju mukosa lambung serta sekresi mukus untuk melindungi mukosa menurun, sehingga menyebabkan terjadi iritasi lambung (Sundalangi *et al.*, 2016). Selain itu efek samping penggunaan aspirin melalui penghambatan biosintesis TXA₂ ini adalah gangguan fungsi trombosit yang menyebabkan perpanjangan waktu perdarahan (Ganiswarna *et al.*, 2019).

2.4 Daun Biduri

Salah satu tanaman yang banyak dijadikan bahan antiinflamasi adalah daun biduri. Tanaman biduri merupakan tanaman liar yang kaya kandungan metabolit sekunder yang banyak ditemukan karena tumbuh liar pada daerah dataran rendah dan mampu tumbuh di daerah beriklim tropis (Zahara *et al.*, 2023). Di Indonesia tanaman biduri belum banyak dimanfaatkan, terutama di daerah Jember. Biduri atau *Calotropis gigantea* dapat ditemukan di Jawa Timur salah satunya di daerah Watu Ulo, Jember. Berdasarkan penelitian terdahulu telah melaporkan bahwa biduri memiliki sifat antiinflamasi, analgesik, antioksidan, antimikroba, anti karsinogenik, antimutagenik dan prokoagulan (Astuti *et al.*, 2023). Berikut ini merupakan klasifikasi taksonomi tanaman biduri (Pophale *et al.*, 2023):

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Class : Disotyledones
 Sub class : Asteridae
 Ordo : Gentianales
 Family : Apocynaceae
 Subfamily : Asclepidiaceae
 Genus : *Calotropis*
 Spesies : *Calotropis gigantea*



Gambar 2.2 Tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) di Watu Ulo, Jember
 (Sumber: dokumentasi pribadi pada tanggal 25 September 2024)

Selama ini tanaman biduri hanya digunakan untuk makanan jangkrik terutama pada daunnya dan getahnya digunakan sebagai obat sakit gigi yang berlubang atau cenus cenus (Astuti *et al.*, 2023). Pada berbagai bagian dari biduri biduri (*Calotropis gigantea*) dapat ditemukan banyak kandungan terutama pada daun. Alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida merupakan senyawa aktif yang dapat ditemukan dalam ekstrak daun biduri (Kedang *et al.*, 2020). Daun biduri mengandung lebih banyak flavonoid dibandingkan pada bunga (Astuti *et al.*, 2023).

Senyawa antiinflamasi dipengaruhi oleh adanya kandungan flavonoid, glikosida dan tannin (Fitriyanti *et al.*, 2020). Senyawa aktif tertinggi sebagai antiinflamasi adalah flavonoid dimana mempunyai peran besar dalam menghambat kerja enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga sintesis mediator inflamasi seperti histamin, prostaglandin, tromboksan dan leukotrien terhambat sehingga mengurangi terbentuknya edema (Ningsih *et al.*, 2023; Putri *et al.*, 2024). Penurunan sekresi mukus yang berperan melindungi dinding lambung oleh karena terhambatnya produksi leukotrien dan prostaglandin (Yuniza *et al.*, 2021). Flavonoid dalam bentuk glikosida bersifat polar karena berikatan dengan suatu gula pada tumbuhan (Riwanti *et al.*, 2020).

Aktivitas antiinflamasi tannin dijelaskan oleh sifat antioksidan yang bekerja dengan menghambat radikal bebas dan sitokin proinflamasi (Fitriyanti *et al.*, 2020). Salah satu cara tannin mengurangi antiinflamasi adalah dengan menghambat neutrofil, monosit dan makrofag memproduksi oksidan (Maifitrianti *et al.*, 2019). Selain flavonoid dan tannin, ada glikosida sebagai antiinflamasi memiliki efek pada kadar oksida nitrat (NO), prostaglandin E (PGE) 2 dan sitokin pro-inflamasi dalam sel (Choi *et al.*, 2021).

2.5 Metode Ekstraksi

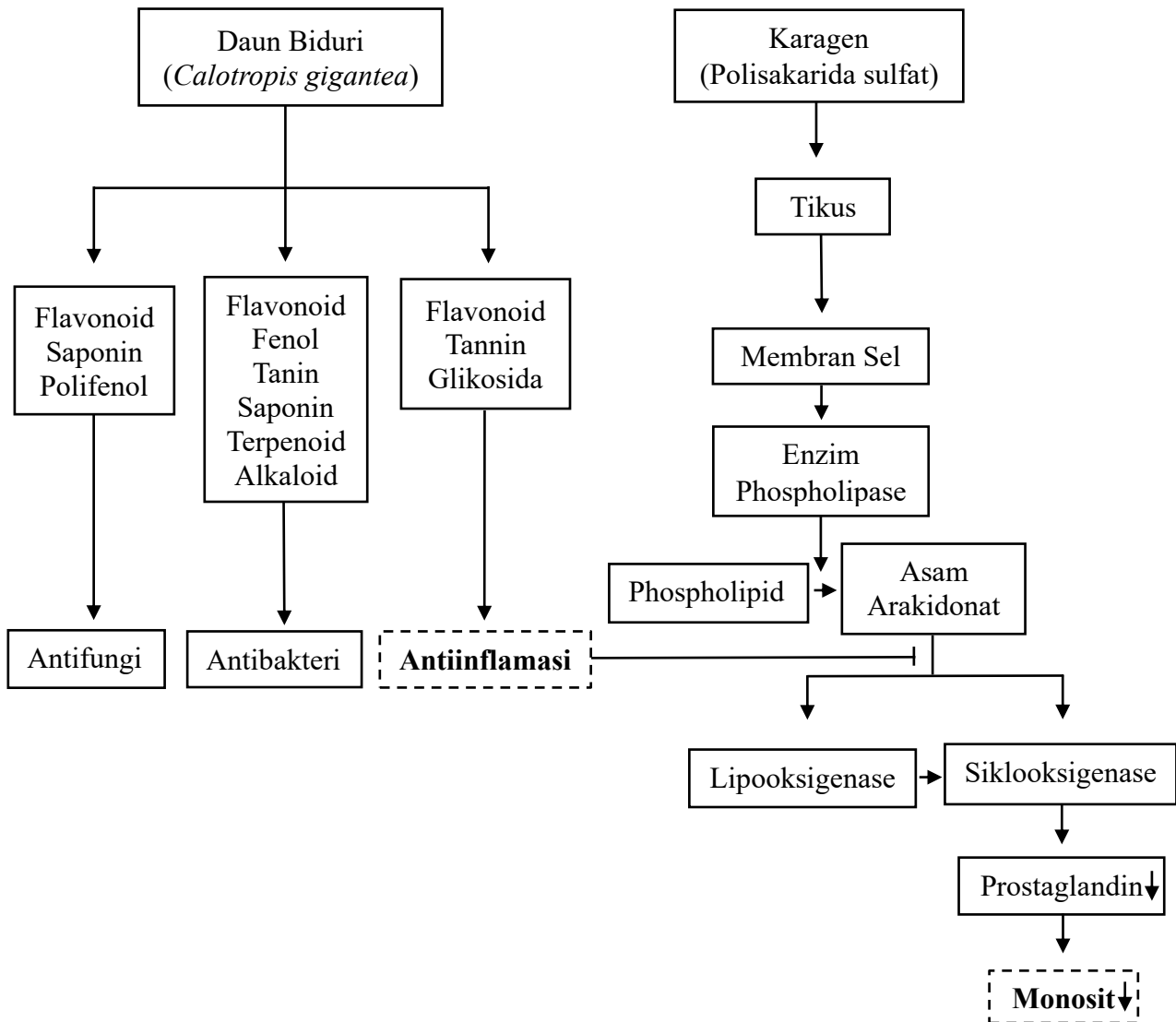
Untuk mendapatkan sebuah ekstrak perlu dilakukan beberapa tahapan yang harus dilakukan. Metode ekstraksi sering kali bertujuan untuk memperoleh bahan aktif dengan struktur tertentu serta komponen aktif baik yang telah diketahui maupun yang belum diketahui (Endarini, 2016). Sebaiknya digunakan tanaman

yang segar dalam proses ekstraksi ini agar menghasilkan ekstrak yang maksimal. Metode ekstraksi terbaik adalah metode yang dapat mengekstraksi senyawa aktif sebanyak mungkin, cepat, sederhana, aman bagi lingkungan dan secara konsisten memberikan hasil yang sama saat dilakukan berulang (Endarini, 2016).

2.5.1 Maserasi

Adapun pada penelitian ini digunakan teknik maserasi untuk memperoleh ekstrak daun biduri. Maserasi dimulai dengan merendam dan menghaluskan bagian tanaman secara menyeluruh dengan pelarut selama tiga hari dalam wadah tertutup di suhu kamar, sering diaduk sehingga semua senyawa aktif terlarut dalam pelarut (Endarini, 2016). Untuk bahan pelarut dapat menggunakan alkohol atau air. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisah antara ampas dan ekstraknya saja. Selanjutnya dilakukan dekantasi yaitu cairan dibiarkan dalam waktu tertentu menghasilkan endapan tertinggal diatas bejana dan diperoleh ekstrak yang jernih. Suatu senyawa cenderung dapat larut jika menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama, sehingga untuk melarutkan flavonoid yang diperoleh pada tanaman biduri memerlukan pelarut yang sesuai dengan tingkat kepolarannya (Putri *et al.*, 2023).

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan :

- ← : Mempengaruhi
- | : Menghambat
- [- - -] : Variabel Yang diteliti
- ↓ : Menurun

Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian

2.7 Deskripsi kerangka konsep

Daun biduri ini mengandung tannin, alkaloid, saponin, steroid, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Daun biduri memiliki kandungan yang bisa dijadikan sebagai antifungi, antibakteri dan antiinflamasi. Daun biduri sebagai antifungi dipengaruhi oleh zat kimia didalamnya seperti tannin, saponin, flavonoid dan polifenol (Safrida dan Nurul, 2021). Kandungan antibakteri yang terdapat pada daun biduri adalah senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, terpenoid dan senyawa tannin (Alibasyah *et al.*, 2020). Kandungan senyawa daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang memiliki efek sebagai antiinflamasi yaitu flavonoid, glikosida dan tannin (Fitriyanti *et al.*, 2020).

Karagen diinduksikan ke tikus secara subkutan pada punggung tikus kemudian akan mengalami kerusakan membrane, sehingga enzim fosfolipase mengaktifkan phospholipid untuk menghasilkan asam arakidonat. Jalur produksi mediator inflamasi terdapat dua yaitu jalur siklooksigenase dan lipooksigenase. Kandungan senyawa daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang memiliki efek sebagai antiinflamasi yaitu flavonoid bekerja secara langsung dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dan lipooksigenase mengakibatkan produksi prostaglandin serta leukotrien terhambat (Ridwan *et al.*, 2021). Prostaglandin menyebabkan leukosit migrasi dan berakumulasi pada daerah injuri (Rousdy dan Elvi, 2018). Jika proses pembentukan prostaglandin dihambat mengakibatkan migrasi dan akumulasi leukosit akan terhambat pada daerah injuri. Monosit merupakan leukosit yang berasal dari prekursor di sumsum tulang dan bersirkulasi didalam hanya sehari (Kumar *et al.*, 2017). Monosit berperan mengeluarkan mediator dan interleukin proinflamasi serta sebagai fagositosis pada proses inflamasi (Akrom dan titiek, 2021).

2.8 Hipotesa

Hipotesa dari penelitian ini adalah ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) memiliki potensi sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini termasuk penelitian eksperimental laboratoris *in vivo*, dengan rancangan penelitian *serial group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Agustus sampai Desember 2024

3.2.2 Tempat Penelitian

- Identifikasi tanaman biduri : Laboratorium Politeknik Negeri Jember
- Pembuatan ekstrak : Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi Mulut Universitas Jember
- Proses perlakuan hewan coba : Laboratorium Kedokteran Gigi Dasar Universitas Jember

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah monosit pada model tikus inflamasi..

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria daun biduri, kriteria hewan coba, dosis ekstrak daun biduri dan waktu pengambilan darahnya.

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Ekstrak Daun Biduri

Daun biduri diambil dari pesisir Watu Ulo, Kabupaten Jember sebanyak 11 kg. Daun biduri yang diambil berwarna hijau cerah, tidak busuk, usia setengah tua hingga tua yang ditandai dengan permukaan daun berambut putih mulai menghilang dengan bertambahnya usia. Ekstrak daun biduri diperoleh dari hasil proses maserasi simplisia daun biduri dengan pelarut alkohol 70%.

3.4.2 Model tikus Inflamasi

Model tikus inflamasi adalah model tikus yang diinduksi karagen 2% pada punggung tikus untuk menimbulkan reaksi inflamasi. Kemudian ditunggu selama 6 jam untuk mendapatkan efek inflamasi yang maksimal. Pada gambaran klinis pasca induksi ditemukan adanya edema pada daerah yang diinjeksi, kemerahan dan sedikit pembengkakan pada daerah injeksi.

3.4.3 Jumlah Monosit

Sel yang diamati pada tikus yang diinduksi karagen adalah Monosit. Monosit umumnya berukuran antara 14-20 μm dan memiliki inti bentuk oval atau seperti tapal kuda dan sitoplasma banyak, sedikit basofilik dan sedikit granula halus. Setelah perlakuan jumlah monosit dihitung dan diamati secara histologis dengan mikroskop binokuler.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Pembagian Kelompok Sampel

- a. Kelompok (K-) : *Aquades* steril
- b. Kelompok (K+) : Aspirin
- c. Kelompok EDB1 : ekstrak daun biduri dosis 100 mg/Kg BB
- d. Kelompok EDB2 : ekstrak daun biduri dosis 200 mg/Kg BB
- e. Kelompok EDB3 : ekstrak daun biduri dosis 300 mg/Kg BB

3.5.2 Besar Sampel Penelitian

Perhitungan besar sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan rumus Daniel dan Cross, 2018 dalam (Swarjana, 2022) yaitu :

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

n : besar sampel tiap kelompok

Z : z statistik untuk level kepercayaan : 1,96

σ : standart deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat ditoleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di terima (σ) sama besar dengan (d) maka :

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq (3,84)$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus diatas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 5 ekor tikus dalam setiap kelompok untuk mengantisipasi kematian sampel. Sehingga total sampel adalah 25 ekor tikus.

3.5.3 Kriteria Sampel

1. Tikus putih sehat
2. Tikus putih jenis kelamin jantan
3. Tikus putih berumur 2-3 bulan
4. Tikus putih dengan berat 150-200 gram

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah kandang tikus, sonde lambung, *disposable syringe*, timbangan analitik (Adam Equipment, *England*), oven (FED 400 Binder, *Germany*), *vortex*, mikropipet (Socorex, *Switzerland*), *waterbath*, *Rotary evaporator* (Heidolph, *Germany*), blender (Miyako, *Indonesia*), ayakan, timbangan digital, tabung *erlenmeyer*, kertas saring, *object glass*, dan mikroskop binokuler (Olympus, *Japan*).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus wistar jantan, Aspirin *pharma grade*, Karagen proanalysis (Sigma), Ekstrak daun biduri, larutan Na-CMC 0,5%, NaCl, Etanol 70%, *aquades* steril dan minyak emersi.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Permohonan Kode Etik (*Ethical Clearance*)

Keterangan etik dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor No.2769/UN25.8/KEPK/DL/2024 (Lampiran 1).

3.7.2 Identifikasi Tanaman

Identifikasi Tanaman untuk mengetahui klasifikasi daun biduri (*Calotropis gigantea*) di Laboratorium Tanaman, Politeknik Negeri jember (Lampiran 2).

3.7.3 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasikan terlebih dahulu pada lingkungan laboratorium selama 7 hari sebelum digunakan untuk penelitian. Makanan standar dan minuman *ad libitum* diberikan dan dalam kandang yang bersih serta mempunyai sirkulasi udara yang bagus dan cahaya memadai.

3.7.4 Tahap Pembuatan Ekstrak Daun Biduri

a. Sterilisasi alat

Alat yang akan digunakan dicuci bersih dan alat yang terbuat dari kaca disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit sedangkan alat yang terbuat dari plastik disterilkan menggunakan alkohol 70%.

b. Pembuatan ekstrak kental daun biduri

Sampel yang diambil adalah daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebanyak 10 kg. Daun biduri (*Calotropis gigantea*) dibersihkan dengan air mengalir, disusun agar tidak bersentuhan satu sama lain dan diangin-anginkan pada suhu ruang sekurang-kurangnya selama 1 minggu. Kemudian daun biduri dioven dengan suhu 40⁰C sampai daun benar benar kering, yaitu kurang lebih selama 5x24 jam. Daun diserbukkan dengan

blender dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi, yaitu dengan menimbang serbuk halus daun biduri dengan total 967 gram. Bubuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup dan dicampur dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Metode maserasi dilakukan selama 3 hari dengan menggunakan *shaker*. Larutan disaring menggunakan kertas saring yang dibuat diatas corong buchner untuk memisahkan larutan dan serbuk. Hasilnya ditampung pada tabung *erlenmayer*, kemudian dilakukan pemekatan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 50°C dan putaran 90 rpm sampai diperoleh ekstrak daun biduri 100% (Hidayati *et al.*2022).

c. Pembuatan dosis ekstrak daun biduri

Sebelumnya ekstrak akan dilarutkan ke dalam larutan Na-CMC 0,5% hingga homogen. Ekstrak murni (100%) daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang telah didapat akan diencerkan dengan *aquades* untuk mendapatkan dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, dan 300 mg/Kg BB dengan perhitungan pada lampiran 9.

3.7.5 Pembuatan Larutan Aspirin

Larutan Aspirin sebagai kelompok (K+) diperoleh dengan mencampurkan bubuk aspirin dengan Na-CMC yang dilarutkan dalam *aquades* steril, setiap tikus diberikan 4 ml larutan aspirin.

Perhitungan yang digunakan :

Na-CMC 0,5% \approx 100 ml = 0,5 gram Na-CMC

100 ml \approx 500 mg Na-CMC

1 ml \approx 5 mg Na-CMC

Dosis aspirin yang digunakan adalah aspirin dengan dosis manusia 500 mg.

500 mg x 0,018 (konversi manusia ke tikus) = 9 mg/200 gr BB

Aspirin 9 mg/ 200 gr BB = 0,02 ml/gr BB (standar kapasitas lambung tikus)

9 mg \approx 4 ml

2,25 mg \approx 1 ml

Sehingga didapatkan campuran :

1 ml *aquades* \approx 5 mg Na-CMC = 2,25 mg aspirin

Dosis 1 tikus $\approx 200 \text{ mg} \times 0,02$
 $\approx 4 \text{ ml}$

Sehingga yang diperlukan adalah

4 ml *aquades* $\approx 20 \text{ mg Na-CMC} = 9 \text{ mg aspirin}$

3.7.6 Pembuatan Suspensi Karagen

Larutan karagen diperoleh dengan menimbang 0,2 ml karagen, kemudian dengan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml dilarutkan, hingga didapatkan larutan karagen 2% (Widyarini *et al.*, 2023)

2% karagen $\approx 2 \text{ gram dalam } 100 \text{ ml } \textit{aquades}$

2000 mg $\approx 100 \text{ ml}$

10 ml $\approx 200 \text{ mg karagen}$

Dalam 10 ml *aquades* terdapat 200 mg karagen

Kemudian karagen dilarutkan dengan serbuk NaCl 0,9% dan dihomogenkan dengan menggunakan *aquades* dengan perhitungan :

NaCl = 0,9% $\approx 0,9 \text{ gram serbuk NaCl dalam } 100 \text{ ml } \textit{aquades}$
 $\approx 9 \text{ mg serbuk NaCl dalam } 1 \text{ ml } \textit{aquades}$

Sehingga, didapatkan perhitungan dalam 10 ml *aquades* dibutuhkan 200 mg karagen dan 90 mg serbuk NaCl.

10 ml *aquades* $\approx 200 \text{ mg karagen} + 90 \text{ mg serbuk NaCl}$

1 ml *aquades* $\approx 20 \text{ mg karagen} + 9 \text{ mg serbuk NaCl}$

4 ml *aquades* $\approx 80 \text{ mg karagen} + 36 \text{ mg serbuk NaCl (dosis untuk } 20 \text{ tikus)}$

3.7.7 Tahap Perlakuan

- a) Sebelum diberi perlakuan, tikus dipuasakan selama 8 jam, tetapi tetap diberi air.
- b) Kemudian dilakukan pengambilan darah sebelum diberikan induksi karagen untuk melihat jumlah sel Pra-perlakuan karagen pada darah tikus.
- c) Tikus dengan jumlah 25 ekor ditimbang dan dibagi menjadi 5 kelompok secara acak, yaitu:
 - a. Kelompok (K-) : Tikus wistar jantan yang diberi *aquades* steril peroral
 - b. Kelompok (K+) : Tikus wistar jantan yang diberi aspirin dengan dosis sesuai dengan BB hewan coba peroral

- c. Kelompok EDB1 : Tikus wistar jantan yang diberi ekstrak daun biduri dengan dosis 100 mg/kg BB peroral
- d. Kelompok EDB2 : Tikus wistar jantan yang disondase ekstrak daun biduri dengan dosis 200 mg/kg BB peroral
- e. Kelompok EDB3 : Tikus wistar jantan yang disondase ekstrak daun biduri dengan dosis 300 mg/kg BB peroral
- d) Pembuatan edema dengan injeksi karagen 2% sebanyak 0,2 ml yang diinjeksikan secara subkutan di punggung tikus.
- e) Tikus dikembalikan ke kandang dan ditunggu selama 6 jam untuk proses pembentukan inflamasi. Tanda klinis inflamasi ditunjukkan dengan adanya kemerahan dan pembengkakan pada daerah punggung tikus yang diinjeksi karagen, kemudian lakukan pengambilan darah.
- f) Perlakuan hewan coba sesuai dengan pembagian kelompoknya diberikan setiap 12 jam selama 3 hari, yaitu pada pukul 7 pagi dan 7 sore.
- g) Pengambilan sampel darah kembali dilakukan pada hari pertama dan 3 (setiap 90 menit setelah pemberian perlakuan).

3.7.8 Tahap Pengamatan

- a. Pengambilan sampel darah

Cara pengambilan sampel darah yaitu dengan memegang bagian tengkuk tikus dan menjepitnya dengan jari tangan, setelah itu dikondisikan senyaman mungkin. Sampel darah dari ekor tikus dikeluarkan secara perlahan-lahan dengan menggunakan syringe. Darah yang keluar kemudian diteteskan diatas *object glass*.

- b. Pembuatan hapusan darah

Sampel darah diteteskan pada *object glass* yang bersih dan kering. *Object glass* lain diambil sebagai *spread* di depan tetesan dengan membentuk sudut 30-40⁰. Kemudian ditarik ke belakang dengan cepat hingga sampel darah menyebar (Khasanah *et al.*, 2023).

- c. Pengecatan hapusan darah dengan *Giemsa*

Hapusan yang telah kering selanjutnya akan difiksasi dengan methanol. Hapusan digenangi dengan methanol sehingga seluruh bagian hapusan

darah tertutup dan didiamkan selama 5 menit. Keesokan harinya dilakukan pewarnaan yaitu hapusan digenangi pewarna *giemsa*. Tunggu selama 20 menit, kemudian dialiri dengan air mengalir. Lalu hapusan dikeringkan tanpa bantuan pengering dan diletakkan dengan posisi miring (Khasanah *et al.*, 2023).

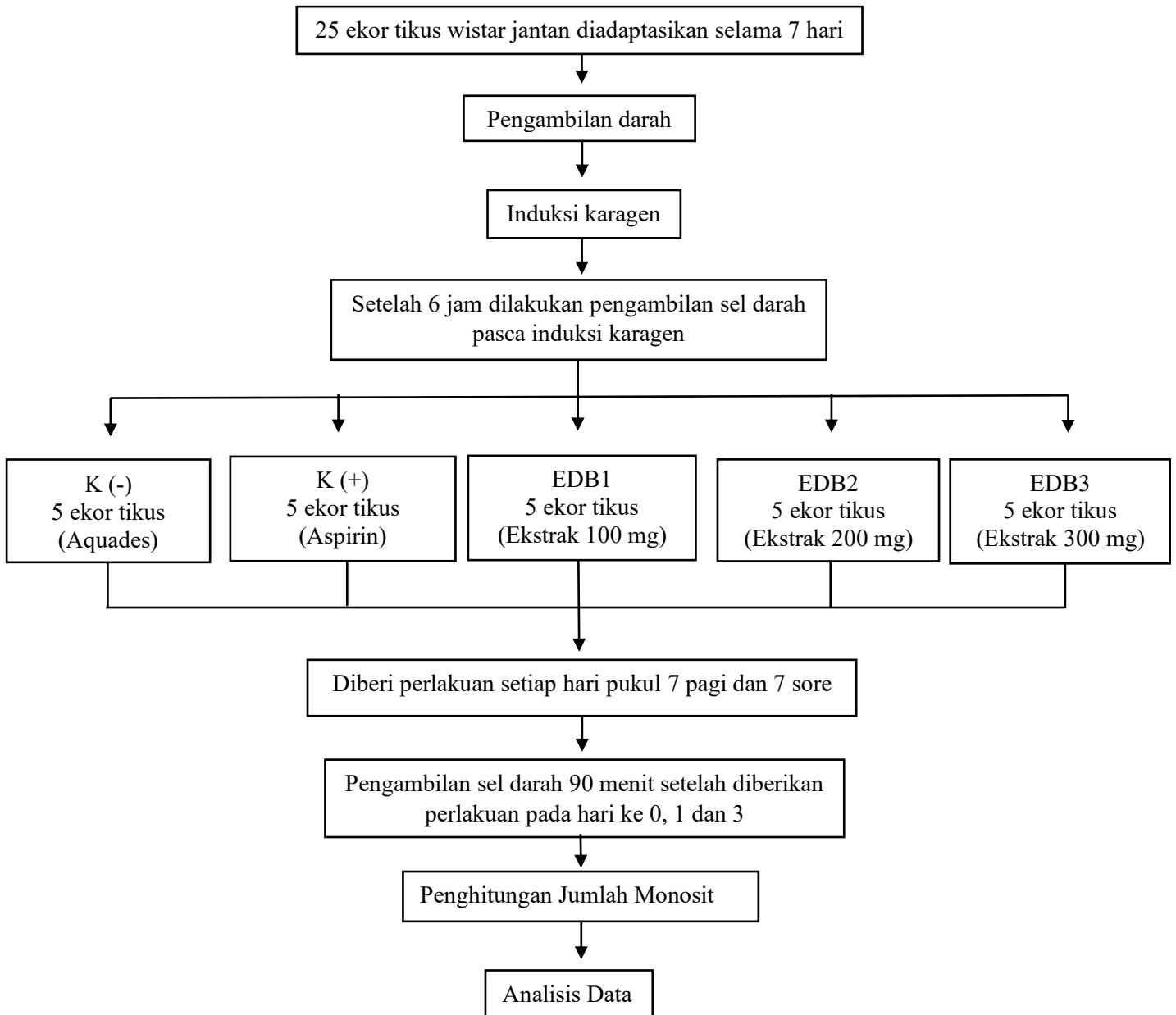
d. Penghitungan jumlah Monosit

Jika pewarnaan sudah dirasa baik, sediaan dikeringkan pada bagian bawah dengan menggunakan tisu, kemudian diberi label keterangan sesuai perlakuan. Sebelum dilakukan pengamatan diberi 1 tetes minyak emersi pada sediaan yang akan diamati, kemudian dilakukan pengamatan mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000 kali.

3.8 Analisis Data

Berdasarkan data yang ada selanjutnya dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk test* untuk mengetahui distribusi data dan uji homogenitas data menggunakan *Levene Test*. Hasilnya menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen ($p > 0.05$) maka analisis dilanjutkan menggunakan statistik parametrik, yaitu uji *Two-way ANOVA* dengan Tingkat kepercayaan 95%. Setelah itu, untuk mengetahui perbedaan antarkelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)* dengan taraf signifikan $p < 0,05$.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Pada perhitungan jumlah monosit sesudah dilakukan induksi karagen didapatkan peningkatan jumlah dari pra-perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa karagen memberikan efek inflamasi pada sel monosit. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah di hari pertama dan hari 3 pada ekor tikus kemudian jumlah monosit dihitung dengan mikroskop perbesaran 1000x.

Tabel 4.1 Hasil perhitungan jumlah monosit model tikus inflamasi

Kelompok	PP ($\bar{X} \pm SD$)	Hari 0 ($\bar{X} \pm SD$)	Hari 1 ($\bar{X} \pm SD$)	Hari 3 ($\bar{X} \pm SD$)
K-	16.33 ± 6.51	20.67 ± 3.65	19.25 ± 4.20	19.75 ± 3.77
K+	19.67 ± 7.73	19.75 ± 10.03	17.92 ± 1.79	16.67 ± 1.19
EDB1	17.58 ± 5.09	21.17 ± 5.65	19.58 ± 4.95	18.5 ± 4.38
EDB2	22.17 ± 4.29	25.92 ± 4.25	23.33 ± 6.08	22.5 ± 4.86
EDB3	13.25 ± 7.54	16.58 ± 5.88	16.33 ± 4.83	15.75 ± 4.20

Keterangan :

\bar{X} : Rata-rata jumlah monosit

SD : Standart deviasi

K- : Kelompok *Aquades*

K+ : Kelompok Aspirin

EDB1 : Kelompok EDB dosis 100 mg/kg BB

EDB2 : Kelompok EDB dosis 200 mg/kg BB

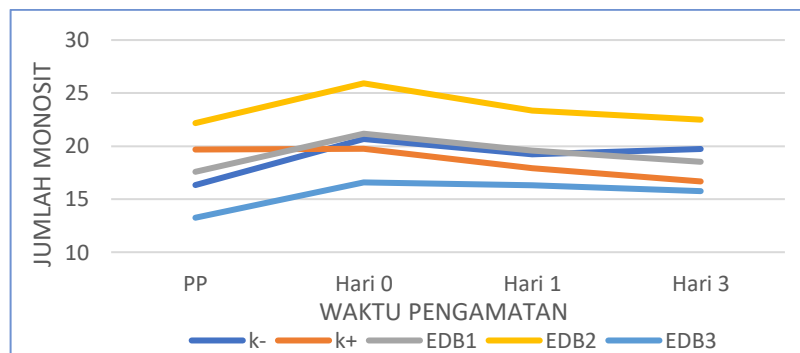
EDB3 : Kelompok EDB dosis 300 mg/kg BB

PP : Pra-perlakuan karagen

Hari 0 : 6 jam setelah diinduksi karagen

Hari 1 : Hari pertama

Hari 3 : Hari ketiga



Gambar 4.1 Grafik garis perhitungan jumlah monosit model tikus inflamasi

Keterangan :

K- : Kelompok *Aquades*

K+ : Kelompok Aspirin

EDB1 : Kelompok EDB dosis 100 mg/kg BB

EDB2 : Kelompok EDB dosis 200 mg/kg BB

EDB3 : Kelompok EDB dosis 300 mg/kg BB

PP : Pra-perlakuan karagen

Hari 0 : 6 jam setelah diinduksi karagen

Hari 1 : Hari pertama

Hari 3 : Hari ketiga

Hasil perhitungan rata-rata jumlah monosit dihitung per 100 sel leukosit. Tabel 4.1 dan gambar 4.1 menunjukkan nilai rata rata jumlah monosit pada kelompok (K-) pra-perlakuan karagen sebesar 16,33 dan hari ke-0 sebesar 20,67, kelompok (K+) pra-perlakuan karagen sebesar 19.67 dan hari ke-0 sebesar 19.75, kelompok EDB1 pra-perlakuan karagen sebesar 17.58 dan hari ke-0 sebesar 21.17, kelompok EDB2 pra-perlakuan karagen sebesar 22.17 dan hari ke-0 sebesar 25.92 serta kelompok EDB3 pra-perlakuan karagen sebesar 13.25 dan hari ke-0 sebesar 16.58. Hal ini menunjukkan peningkatan jumlah monosit dari pra-perlakuan hingga hari ke-0 yaitu 6 jam setelah induksi karagen.

Pada kelompok (K-) menunjukkan ada kecenderungan meningkat dari pra-perlakuan hingga hari ke-3 berdasarkan rata-rata jumlah monosit dengan pra-perlakuan sebesar 16.33 dan hari ke-3 sebesar 19.75. Pada kelompok (K+) ditemukan kecenderungan penurunan jumlah monosit dengan hari pertama sebesar 17.92 dan hari ke-3 sebesar 16.67. Pada kelompok EDB1 ditemukan penurunan jumlah monosit dengan hari pertama sebesar 19.58 dan hari ke-3 sebesar 18.5. Kelompok EDB2 mengalami penurunan jumlah monosit dengan hari pertama sebesar 23.33 dan hari ke-3 sebesar 22.5. Kelompok EDB3 mengalami penurunan jumlah monosit dengan hari pertama sebesar 16.33 dan hari ke-3 sebesar 15.75.

4.2 Analisis Data

Data hasil penelitian yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene test*. Hasilnya menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen ($p > 0.05$) (Lampiran 13). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *Two way ANOVA* yang tercantum pada (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil uji *Two way ANOVA* jumlah monosit model tikus inflamasi

<i>Univariate</i>	<i>df</i>	<i>F value</i>	<i>P value</i>
Kelompok	4	3.667	.001
Hari	2	.957	.666
Hari*kelompok	8	.072	.959

Uji *two way ANOVA* digunakan untuk menentukan apakah rata-rata kedua sampel berbeda pada dua variabel bebas, hasil uji ini dapat digeneralisasikan untuk ditarik kesimpulan yang akurat (Sihotang, 2022). Uji dilanjutkan dengan memanfaatkan *post hoc Least Significant Difference (LSD)* untuk melihat perbedaan antar masing-masing kelompok setelah hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) dari rata-rata jumlah monosit di masing-masing kelompok penelitian dapat dilihat pada Lampiran 14.

Berdasarkan uji *Least Significant Difference (LSD)* pada Lampiran 14 ditemukan perbedaan yang signifikan pada kelompok EDB2 0 dengan K+ 1, kelompok EDB2 0 dengan K+ 3, kelompok EDB2 0 dengan EDB1 PP, kelompok EDB2 0 dengan EDB3 PP, kelompok EDB2 0 dengan EDB3 0, kelompok EDB2 0 dengan EDB3 1, kelompok EDB2 0 dengan EDB3 3, kelompok EDB2 PP dengan EDB3 PP, kelompok EDB2 1 dengan EDB3 PP, kelompok EDB2 3 dengan EDB3 PP.

4.3 Pembahasan

Pada penelitian ini, inflamasi diperoleh dengan penggunaan karagen. Dilakukan pengambilan darah sebelum dan sesudah diinduksi karagen untuk melihat jumlah monosit dalam keadaan normal dan dalam keadaan inflamasi. Pada kondisi normal jumlah monosit tidak sama antar kelompok. Hal ini menunjukkan adanya keberagaman atau variasi individual dari hewan coba yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi fisiologi dan usia (Djaelani *et al.*, 2023).

Karagen digunakan sebagai induksi inflamasi yang bersifat sementara dan dapat digunakan untuk mengobservasi proses terjadinya inflamasi (Widyarini *et al.*, 2023). Mekanisme efek karagen diawali dengan 90 menit pertama pelepasan mediator inflamasi yaitu histamin dan serotonin (Mukhriani *et al.*, 2020). Pelepasan bradikinin terjadi pada fase kedua selama 1,5 sampai 2,5 jam setelah induksi. Tiga jam kemudian, prostaglandin akan dilepas selama fase ketiga. Gambaran klinis respon inflamasi akan berkembang cepat dan maksimal selama 5-6 jam setelah diinduksi (Mukhriani *et al.*, 2020; Latief *et al.*, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah monosit mengalami peningkatan jumlah setelah disuntikkan karagen pada setiap kelompok dibandingkan jumlah monosit pra-perlakuan tetapi berdasarkan uji *Least Significant Difference* (LSD) peningkatan jumlah monosit pra-perlakuan ke hari pertama tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Hal ini berarti ada proses peradangan setelah disuntikkan karagen. Pada kelompok K- peningkatan jumlah monosit meningkat terus mulai setelah disuntik karagen sampai hari ke-3, hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya migrasi monosit ke tempat jejas dalam waktu 24 jam setelah inflamasi akut (Kumar *et al.*, 2017). Jumlah monosit yang cenderung mengalami peningkatan diduga disebabkan karena inflamasi berjalan secara alami tanpa pencegahan dari obat antiinflamasi. Sel inflamasi akan melepaskan mediator pro-inflamasi seperti *nitric oxide*, prostaglandin, lipoksin, leukotrien, dan interleukin (Handoyo dan Fauzi, 2024).

Perhitungan jumlah monosit pada kelompok (K+) pra-perlakuan karagen sebesar 19.67, hari ke-0 sebesar 19.75, hari pertama sebesar 17.92 dan hari ke-3 sebesar 16.67. Jumlah monosit pra-perlakuan ke hari ke-0 mengalami peningkatan, dimana peningkatan jumlah monosit pada perhitungan leukosit mengindikasikan terjadinya inflamasi (Giyartika dan Soedjajadi, 2020). Berdasarkan jumlah monosit dari hari ke-0 hingga hari ke-3 menunjukkan kecenderungan penurunan yang membuktikan bahwa aspirin memiliki efek sebagai antiinflamasi. Sebagai antiinflamasi aspirin bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase khususnya siklooksigenase-1 untuk memproduksi prostaglandin E2, prostaglandin H2, dan tromboksan A2 (TXA) dari asam arakhidonat (Miladiyah, 2012; Rahmadanita dan Sumarno, 2019). Penurunan jumlah monosit dapat disebabkan sintesis tromboksan A2 yang berperan besar dalam agregasi trombosit terhambat sehingga menyebabkan penurunan jumlah monosit (Miladiyah, 2012).

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah monosit kelompok EDB1, EDB2, EDB3 dari hari 0 ke hari pertama dan hari ketiga ada kecenderungan penurunan jumlah monosit, hal ini menunjukkan adanya kemungkinan efek antiinflamasi ekstrak daun biduri terhadap monosit, yang diduga karena monosit merespon dengan lambat pada inflamasi fase akut dan terus bekerja dalam fase kronis (Giyartika dan

Soedjajadi, 2020). Setelah mencapai jaringan, monosit akan berubah menjadi makrofag yang dominan pada inflamasi kronik yang memiliki masa hidup lebih panjang dan kapasitas lebih besar untuk fagositosis (Kumar *et al.*, 2017).

Daun biduri (*Calotropis gigantea*) mengandung senyawa yang berperan dalam memberi efek antiinflamasi dipengaruhi oleh senyawa flavonoid, glikosida dan tannin (Fitriyanti *et al.*, 2020). Flavonoid sebagai antiinflamasi bekerja dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase dan lipooksigenase secara langsung sehingga menyebabkan produksi prostaglandin serta leukotrien terhambat. Penurunan jumlah monosit ini dapat disebabkan oleh senyawa flavonoid yang menyebabkan tromboksan dihambat, tromboksan akan menyebabkan modulasi leukosit sehingga produksi leukosit akan terhambat selama proses inflamasi (Ningsih *et al.*, 2023).

Tannin sebagai antiinflamasi bekerja dengan menghambat sitokin proinflamasi dan mampu menghambat pembentukan oksidan oleh neutrofil, monosit dan makrofag (Putri *et al.*, 2024). Tannin bekerja dengan menghambat aktivasi inflammasome dengan memblokir pembelahan caspase-1 dan sekresi IL-1 β (Jing *et al.*, 2022). Pada respon inflamasi akut IL-1 adalah mediator penting untuk pengumpulan leukosit (Kumar *et al.*, 2017). Selain flavonoid dan tannin, glikosida sebagai antiinflamasi memiliki efek pada kadar oksida nitrat (NO), prostaglandin E (PGE) 2 dan sitokin pro-inflamasi dalam sel (Choi *et al.*, 2021). Oleh golongan senyawa yang disebutkan sebelumnya dapat memberikan efek antiinflamasi pada dosis dan konsentrasi tertentu dan menurunkan respon inflamasinya.

Berdasarkan uraian tersebut bisa disimpulkan bahwa secara statistik memang tidak ada perbedaan bermakna tetapi ada kecenderungan jumlah sel monositnya menurun pada penggunaan ekstrak daun biduri sebagai antiinflamasi pada dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB mulai hari 0 ke hari pertama dan hari ketiga, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak daun biduri berpotensi sebagai antiinflamasi dalam menurunkan jumlah sel monosit pada model tikus inflamasi.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) mempunyai kecenderungan menurunkan jumlah monosit pada model tikus inflamasi.

5.2 Keterbatasan Penelitian

1. Pengamatan yang dilakukan memiliki jangka waktu yang sedikit sehingga tidak bisa mengetahui monosit pada fase lebih panjang
2. Pengamatan monosit dilakukan hanya pada sel darah sehingga tidak dapat memberikan gambaran lengkap tentang bagaimana respon sel ketika sudah bermigrasi ke jaringan.

5.3 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat beberapa saran dari penulis, yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai antiinflamasi terhadap monosit pada model tikus inflamasi dalam jangka hari yang lebih panjang.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) dalam menurunkan berbagai sel inflamasi di jaringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akrom dan T. Hidayati. 2021. *Imunofarmakologi Radang*. Cetakan 1. Jakarta: Azkiya.
- Alibasyah, Z. M., D. S. Ningsih dan M. P. Sinda. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29523. *Cakradonya Dent J*, 12(1):56-63.
- Astuti P., Z. Meilawaty, A.W.S. Dharmayanti dan S. Setyaningsih. 2023. Penapisan Fitokimia Dan Kandungan Flavonoid Total Tanaman *Calotropis gigantea* : *Study Eksperimental Laboratoris*. *Jurnal kedokteran gigi universitas padjadjaran*, 35(2):166-171.
- Borsani, B, R. D. Santis, V. Perico, F. Penagini, E. Pendezza, D. Dillilo, A. Bosetti, G. V. Zuccotti. dan E. D’Auria. 2021. *The Role Of Carrageenan In Inflammatory Bowel Diseases And Allergic Reactions: Where Do We Stand?*. 13(10). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8539934/>
- Choi, S. Sook, H. R. Park dan K. A. Lee. 2021. A Comparative Study of Rutin and Rutin Glycosida: Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory Effect, Effect on Platelet Agregatuin and Blood Coagulation. *Antioxidants*, 10(11). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8614652/>
- Christina, B. B. H., C. Fransisca, K. Kristin, Caroline dan J. Sudiono. 2015. Peran Monosit (makrofag) pada proses angiogenesis dan fibrosis. *Seminar nasional cendekiawan*, 2460-8696.
- Djaelani, M. A., Kasiyati dan Sunarno. 2020. Jumlah Leukosit, Persentase Limfosit dan Persentase Monosit Ayam Petelur Jantan Setelah Perlakuan Penambahan Serbuk Daun Kelor Pada Pakan. *Journal of Tropical Biology*, 3(1):45-49.
- Emelda, R. N. dan K. Damayanti. 2022. Review : Eksplorasi Tanaman Herbal Indonesia sebagai Antiinflamasi. *Indonesian pharmacy and natural medicine journal*, 6(3):58-64.
- Endarini, L. H. 2016. *Farmakognisi Dan Fitokimia*. Jakarta Selatan : Pusdik SDM Kesehatan.
- Eroschenko, V. P. 2017. *Atlas of Histology with Functional Correlations 13th Edition*. Wolters Kluwer, Philadelphia.
- Espinoza, V. E. dan Emmady, P. D. 2023. Histologi Monosit. *National center for biotechnology information*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/>
- Faizal, I. A., F. Husen, M. Taufiqurrahman, R. Ambarwati, Padoli, A. Purwoto, D. Luthfianto, Witriyani, T. Supriatin dan A. Rahmi. 2023. *Buku Ajar Immunologi*. Pangkalpinang : Science Techno Direst.

- Fatimah, E., A. U. Husna, Rafia dan P. Santoso. 2022. Khasiat antiinflamasi eko-enzim berbasis kulit buah jeruk (*Citrus p.*) terhadap mencit yang di induksi karagenan. *Pros sem nas masy biodiv indon*, 8(2):119-126.
- Fitria, L., Mulyati, C. M. Tiraya dan A. S. Budi. 2015. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *Jurnal biologi papua*, 7(1):29-36.
- Fitriyanti, N. Hikmah dan K. I. Astuti. 2020. Efek Antiinflamasi Infusa Bunga Asoka (*Ixora coccinea* L) pada Tikus Jantan yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal sains dan kesehatan*, 2(4):355-359.
- Ganiswarna, S. G., R. Setiabudy, F. D. Suyatna, Nafrialdi dan Instiaty. 2019. *Farmakologi dan Terapi* edisi keempat. Jakarta:Badan Penerbit FKUI.
- Giyartika, F. dan S. Keman. 2020. Perbedaan Peningkatan Leukosit pada Radiografer di Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya. *Jurnal kesehatan lingkungan*, 12(2):97-106.
- Handoyo, D. L, Y dan F. Rahman. 2024. Potensi Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) sebagai Antiinflamasi Secara Topikal. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 5(2):58-64.
- Hidayati, S., F. Otavianti, D. A. Susanti dan Q. Aini. 2022. Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Dan In Vivo Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis *Mangifera indica* L. *Jurnal sains dan kesehatan*, 4(5):488-494.
<https://Pubmed.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/27494685/>
- Indijah, S. W. dan P. Fajri. 2016. *Farmakologi*. Pusdik SDM Kesehatan.
- Jing, W., C. Xiolan, C. Yu, Q. Feng dan Y. Haifeng. 2022. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. *Biomedicine dan Pharmacotherapy*, 154(2022):1-12.
- Kedang, V. M. K., R. A. Rianto, I. A. A. Kholik dan U. K. Hadi. 2020. Uji Potensi Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) Sebagai Akarisida terhadap Infestasi Gurem (*Ornithonyssus bursa*) Pada Ayam Buras. *Jurnal medik veteriner*, 3(2):208-215.
- Khasanah, N. A. H., F. Husen dan N. I. Yuniati. 2023. Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Infusa Bunga Telang (*Clitorea ternatea*). *Jurnal bina cipta husada*, 19(1):67-76.
- Kumar, V., Abbas, A.K., dan Aster, J.C. 2017. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 9. Singapura: Elsevier.
- Kumontoy, G. D., D. Deeng dan T. Mulianti. 2023. Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal holistik*, 16(3):1-16.
- Latief, M., A. T. Fisesa, P. M. Sari dan I. L. Tarigan. 2021. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Pada Mencit Terinduksi Karagenan. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*, 7(2):144-153.

- Lestari, T., Nusikho, N. Melati dan P. Muliawati. 2023. Review : Gambaran penggunaan obat anti-inflamasi non steroid natrium diklofenak sebagai Pereda nyeri pada pasien osteoarthritis. *Jurnal kesehatan muhammadiyah*, 4(1).
- Maifitrianti, L. R. Sjahid, Nuroh, R. A. M. Acepa dan W. D. Murti. 2019. Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Fraksi Ekstrak Etanol 95% dari daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical journal of indonesia*, 16(1):1-16.
- Miladiyah, Isnatin. 2012. Therapeutic Drug Monitoring (TDM) pada Penggunaan Aspirin sebagai Antireumatik. *Sains medika: jurnal kedokteran dan kesehatan*, 4(2):210-226.
- Mukhriani, N. T., M. Rusdi, Khaerani dan M. F. Almaidah. 2020. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Buni (*Antidesma bunius* L. Spreng) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal kesehatan*.
- Navaratnam, K., A. Alfirevic Dan Z. Alfirevic. 2016. *Low Dose Aspirin And Pregnancy: How Important Is Aspirin Resistance?. An international journal of obstetrics and gynaecology*, 123(9).
<https://Obgyn.Onlinelibrary.Wiley.Com/Doi/10.1111/1471-0528.13914>.
- Ningsih, I. S., M. Chatri, L. Advinda dan Violita. 2023. Senyawa Aktif Flavonoid yang terdapat pada Tumbuhan. *Jurnal serambi biologi*, 8(2):126-132.
- Pophale, S. P., B. A. Mokle dan G. Sanap. 2023. Review Article on *Calotropis gigantea*. *International journal of creative research thoughts*, 11(3).
- Putri, F. S., M. J. Arief dan R. Rusli. 2024. Uji Aktivitas Antiinflamasi Akut Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Induksi Karagenan. *Jurnal mandala pharmacon Indonesia*, 10(1):151-156.
- Putri, J. Y., K. Nastiti dan N. Hidayah. 2023. Pengaruh Pelarut Etanol 70% dan Metanol terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Journal of pharmaceutical care and sciences*, 3(2):20-29.
- Rahmadanita, F. F. dan Sumarno. 2019. Kajian Pustaka Efek Samping Aspirin : Aspirin Exacerbated Respiratory Disease (AERD). *Pharmaceutical journal of indonesia*, 5(1):1-5.
- Ridwan, B. A., Y. Fety, dan Nurlinda. 2021. Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS). *Jurnal mandala pharmacon indonesia*, 7(1):1-8.
- Riwanti, P., F. Izazih dan Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of pharmaceutical care anwar medika*, 2(2):82-95.
- Rousdy, D. W. dan E. R. P. Wardoyo. 2018. Histologi Limpa dan Hematologi Mencit yang diinfeksi *Escherichia coli* setelah Pemberian Asam Humat Gambut Kalimantan. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 5(2):168-176.

- Sari, N dan C. R. Nayoan. 2023. Efektivitas Asam mefenamat dibandingkan dengan ibuprofen L-Arginine. *Jurnal kedokteran unram*, 12(1):1302-1307.
- Sihotang, S. F. 2022. Analisis Belajar Mahasiswa Universitas Potensi Utama Menggunakan *Two Way Anova*. *Journal of Mathematics Education and Science*, 8(1):173-179.
- Sundalangi, C. F, L. Loho dan C. F. Kairupan. 2016. Gambaran histopatologik lambung tikus wistar yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) setelah induksi aspirin. *Jurnal e-biomedik*, 4(1).
- Swarjana, I K.. 2022. Populasi Sampel Teknik Sampling dan Bias dalam Penelitian. Yogyakarta : ANDI.
- Tinesya, D., N. Andhita dan R. Vidmar. 2019. Eksplorasi Potensi Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) sebagai Agen Antiinflamasi. *LENSA (Lentera Sains) : Jurnal Pendidikan IPA*, 9(2):52-56.
- Vijay, J., Md. Rageb Md. Usman. Salundkhe P.S. dan Gagrani MB. 2010. Aktivitas anti-inflamasi *Calotropis gigantea* Linn. Ekstrak Daun pada Model In-Vitro. *International journal of current pharmaceutical review and research*. 1(2).
- Wei, W., W. Feng, G. Xin, N. Tingting, Z. Zhanghe, C. Haimin dan Y. Xiaojun. 2016. Enhanced Effect Of K-Carrageenan On TNBS-Induced Inflammation In Mice. *International immunopharmacology*, 39:218-228.
- Welkriana, P. W. dan H. R. Khasanah. 2020. Gambaran Jumlah Monosit pada Petani Terapar Pestisida di Desa Keban Agung Kabupaten Kepahiang. *Jurnal Ilmiah*, 15(1):27-33.
- Widyarini, S., Sugiyono, Y. P. Kristiangingrum dan B. Sutrisno. 2023. Karagenin Sebagai Model Inflamasi Pada Kulit Punggung Mencit : Gambaran Makroskopik Dan Histopatologis. *Jurnal Sain Veteriner*, 41(1):88-97.
- Yuniza, M. R. G. dan Mardalena. 2021. Efektivitas Salep Ekstrak Daun Kelengkeng terhadap Inflamasi pada Rattus Novergicus. *Jurnal aisyiyah medika*, 6(1):298-307.
- Zahra, A. P. Dan N. Carolia. 2017. Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid (OAINS): Gastroprotektif Vs Kardiotoksik. *Jurnal majority*, 6(3):153-157.
- Zahara, H., T. Karma, F. Novia, M. F. Amanda, M. R. Syahputra dan M. Yusuf. 2023. Klasifikasi Daun Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dari Lokasi berbeda menggunakan Spektroskopi Inframerah dan Kemometrik. *Lantanida journal*, 11(2):107-117.

LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat Keterangan Ethical Clearance
- Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman Biduri
- Lampiran 3. Surat Izin Penelitian Laboratorium Kedokteran Gigi Dasar
- Lampiran 4. Surat Izin Penelitian Laboratorium RSGM
- Lampiran 5. Surat Izin Penelitian Laboratorium FMIPA
- Lampiran 6. Surat Izin Penelitian Laboratorium Polije
- Lampiran 7. Alat dan Bahan Penelitan
- Lampiran 8. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Biduri
- Lampiran 9. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Biduri
- Lampiran 10. Prosedur Perlakuan Hewan Coba
- Lampiran 11. Prosedur Pengamatan
- Lampiran 12. Hasil Penelitian
- Lampiran 13. Hasil Analisis Data
- Lampiran 14. Tabel Hasil uji Least Significant Difference
- Lampiran 15. Tabel Hasil Perhitungan Jumlah Monosit
- Lampiran 16. Sertifikat Karagen



<https://drive.google.com/drive/folders/1g2UGGhnHAwk5E7O14n3xAU7Fcu5S-fBG>