



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingaefolium*) TERHADAP TEBAL PLANTAR
MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENAN**

SKRIPSI

Oleh:

**Wilda Yuniar
NIM 132210101024**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) TERHADAP TEBAL PLANTAR
MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENAN**

SKRIPSI

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

Oleh

Wilda Yuniar
NIM 132210101024

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

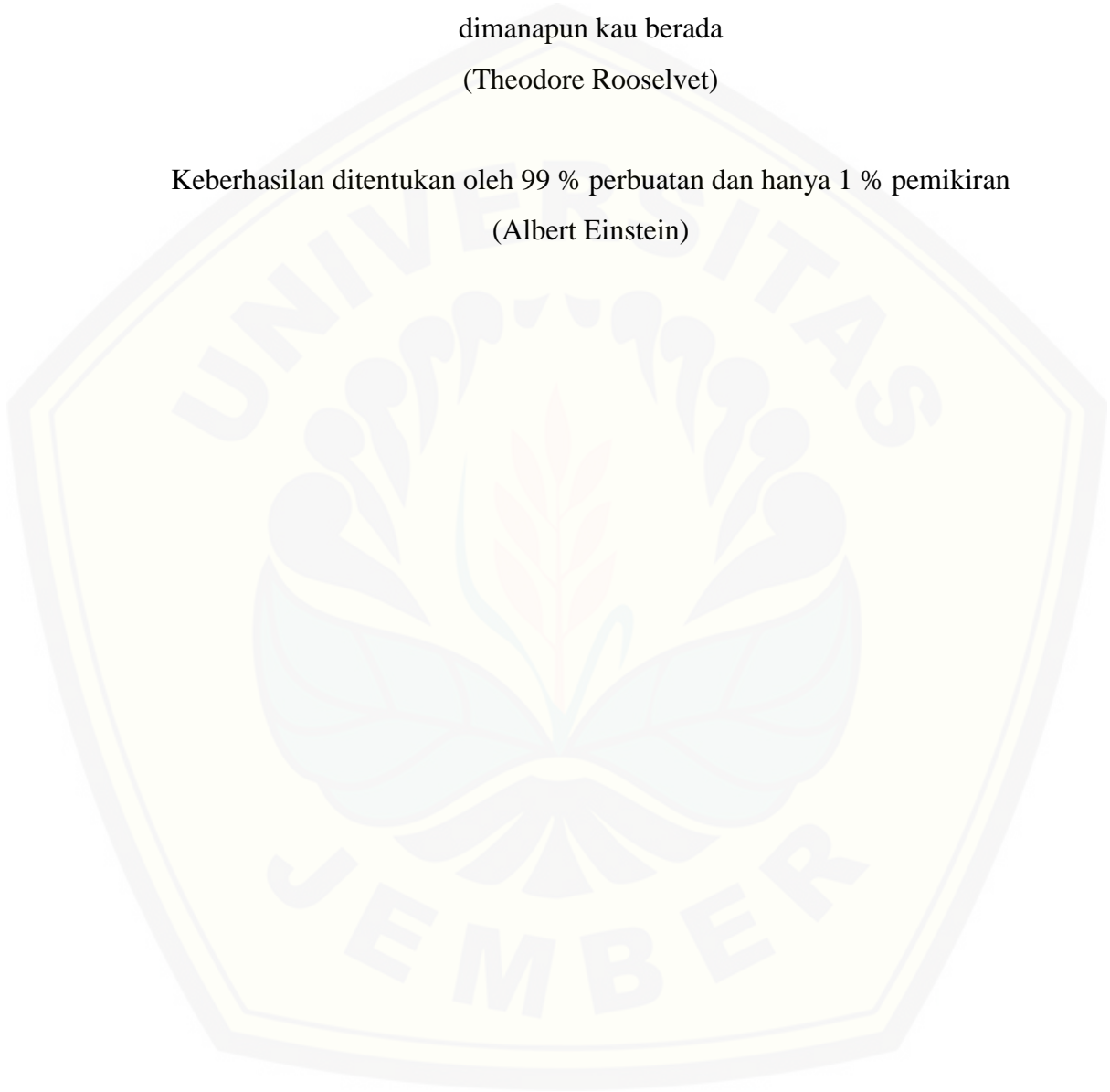
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Subhanahu Wa Ta'ala dan Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi Wa Sallam;
2. Ayahanda Imam Sayuti, Ibunda Arlisa Diana, Saudara-saudaraku Tara Adi Prakoso dan Jagat Adi Samudra serta keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti serta pengorbanan yang dilakukan setiap waktu;
3. Guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang sekolah dasar sampai dengan perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa;
4. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Lakukan apapun yang dapat kau lakukan dengan apa yang kau miliki dan
dimanapun kau berada
(Theodore Roosevelt)

Keberhasilan ditentukan oleh 99 % perbuatan dan hanya 1 % pemikiran
(Albert Einstein)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wilda Yuniar

NIM : 132210101024

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Tebal Plantar Mencit yang Diinduksi Karagenan” adalah benar karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 September 2017

Yang menyatakan,

Wilda Yuniar

NIM 132210101024

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% BATANG
MENTIGI (*Vaccinium varingiaefolium*) TERHADAPTEBAL PLANTAR
MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENAN**

Oleh

Wilda Yuniar

132210101024

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm.,Apt.

PENGESAHAN

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Tebal Plantar Mencit yang Diinduksi Karagenan” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 20 September 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Indah Yulia N., S.Farm., M.Farm., Apt.

Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP 198407122008122002

NIP 198404062009122008

Tim Penguji:

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,



Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt

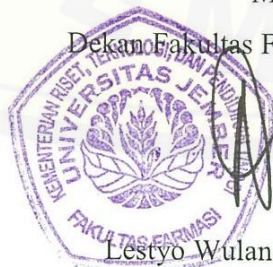
Diana Holiday, S. F., M.Farm., Apt.

NIP198201292009121003

NIP 197812212005012002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Tebal Plantar Mencit yang Diinduksi Karagenan; Wilda Yuniar, 132210101024; 2017: 72 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Inflamasi adalah respon terhadap cedera jaringan dan infeksi. Respon ini adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Parameter keberhasilan uji aktivitas antiinflamasi ini ditandai dengan adanya penurunan tebal plantar mencit setelah induksi karagenan. Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) merupakan tanaman yang tumbuh di pulau Jawa dan hidup di sekitar kawah pegunungan berapi, tumbuhan ini termasuk dalam famili Ericaceae. Menurut beberapa penelitian, tanaman mentigi mengandung senyawa polifenol, flavonoid, antosianin, saponin, dan tanin. Sehingga diduga kuat tanaman mentigi ini memiliki aktivitas antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap tebal plantarmencit yang diinduksi karagenan, sehingga dapat digunakan sebagai terapi antiinflamasi dan mengetahui perbedaan aktivitas dari berbagai macam kelompok dosis dan kelompok kontrol serta mengetahui kadar polifenol dan flavonoid total.

Uji aktivitas antiinflamasi menggunakan hewan uji mencit yang diinduksi karagenan dengan model inflamasi akut. Hewan uji akan diberi variasi dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi paling optimal dengan melihat penurunan tebal plantar mencit pada kelompok dosis dan kelompok kontrol. Pada pengujian aktivitas antiinflamasi diawali dengan pengukuran tebal plantar mencit dengan menggunakan jangka sorong. Tebal plantar sebelum perlakuan disebut sebagai tebal plantar awal (T_0). Mencit diberikan perlakuan 1 jam sebelum diinduksi dengan suspensi karagenan 1%. Pengukuran tebal plantar dilakukan pada waktu 0,5; 1; 2; 3; 4; dan 5 jam setelah injeksi karagenan (T_t). Data tebal plantar yang didapat dihitung % radang, nilai AUC, dan % daya antiinflamasi. Nilai % radang dan nilai AUC masing-masing mencit dianalisis menggunakan uji analisis varians (ANOVA) satu arah. Sedangkan pada ekstrak etanol 70% batang mentigidilakukan penetapan kadar polifenol dan flavonoid total. Data yang diperoleh dari penetapan kadar polifenol dan flavonoid total tersebut akan disajikan secara deskriptif.

Hasil dari uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan bahwa dosis 1.200 mg/kgBB ekstrak etanol 70% batang mentigi merupakan dosis yang terbaik dari penelitian ini yang dapat digunakan sebagai alternatif antiinflamasi. Dosis 1.200 mg/kgBB batang mentigi dapat menurunkan tebal plantar mencit dibandingkan dengan dosis ekstrak batang mentigi lainnya. Hasil uji statistik dosis 1.200 mg/kgBB dan kontrol positif menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan yang berarti memiliki kemampuan antiinflamasi yang hampir sama dengan asetosal 1%

(kontrol positif). Senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi adalah polifenol dan flavonoid. Mekanisme senyawa tersebut sebagai antiinflamasi adalah menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga mengurangi pembentukan protaglandin, leukotrien, dan mediator inflamasi lainnya. Hasil penetapan kadar polifenol dan flavonoid total yaitu sebesar $86,8 \pm 0,790$ mg GAE/g ekstrak dan $26,905 \pm 0,119$ mg QE/g ekstrak.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*) terhadap Tebal Plantar Mencit yang Diinduksi Karagenan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Lusia Oktora R. K. S., S.Farm., M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis selaku menjadi mahasiswa;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga untuk membimbing dan mengarahkan, memberikan ilmu, masukan, saran, dan semangat sejak proposal skripsi, pelaksanaan penelitian sampai pada penyusunan skripsi;
4. Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Diana Holiday, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
6. Laboran Laboratorium Biologi dan Biomedik Ibu Widi, Mbak Parka, Mbak Indri, dan Mbak Dini yang telah memberikan kemudahan dalam hal penggunaan alat dan bahan untuk keperluan penelitian;
7. Ayahanda Imam Sayuti, Ibunda Arlisa Diana, mas Tara, dan adek Jagat yang tak henti-hentinya selalu memberikan dorongan moril, materil, spiritual hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik, serta menjadi

sumber motivasi penulis untuk selalu mengejar cita-cita dan selalu memberikan yang terbaik;

8. Teman-teman seperjuangan penelitian sekaligus sahabat “Olympus” Sri Anita P. A. W. dan Zulfiah Nur F. serta Sahabat “Ulala” Nur Marlinah dan Yuli Antika W. yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
9. Bebeb bebeb Marsalita Irine P. dan Dita Isnaini P. yang telah memberikan dukungan tiada henti hingga selesainya skripsi ini;
10. Anak BBG’s Kost Siska, Wulan, Lista, Vera, Popon, Livia, Azizah, Anna, Rani dan mbak Kikin yang menemani susah dan senang mulai awal kuliah hingga selesainya skripsi ini;
11. Keluarga Besar Farmasetamol Fakultas Farmasi UNEJ 2013 yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan perhatian selama penulis berjuang menempuh perkuliahan dan penelitian;
12. “Pencinta Tumbuhan Squad” dan “Pencinta Hewan Squad” yang telah memberikan motivasi, semangat, dukungan, kebahagiaan yang sangat berlebih kepada penulis;
13. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, September 2017

Penulis

DAFTAR ISI

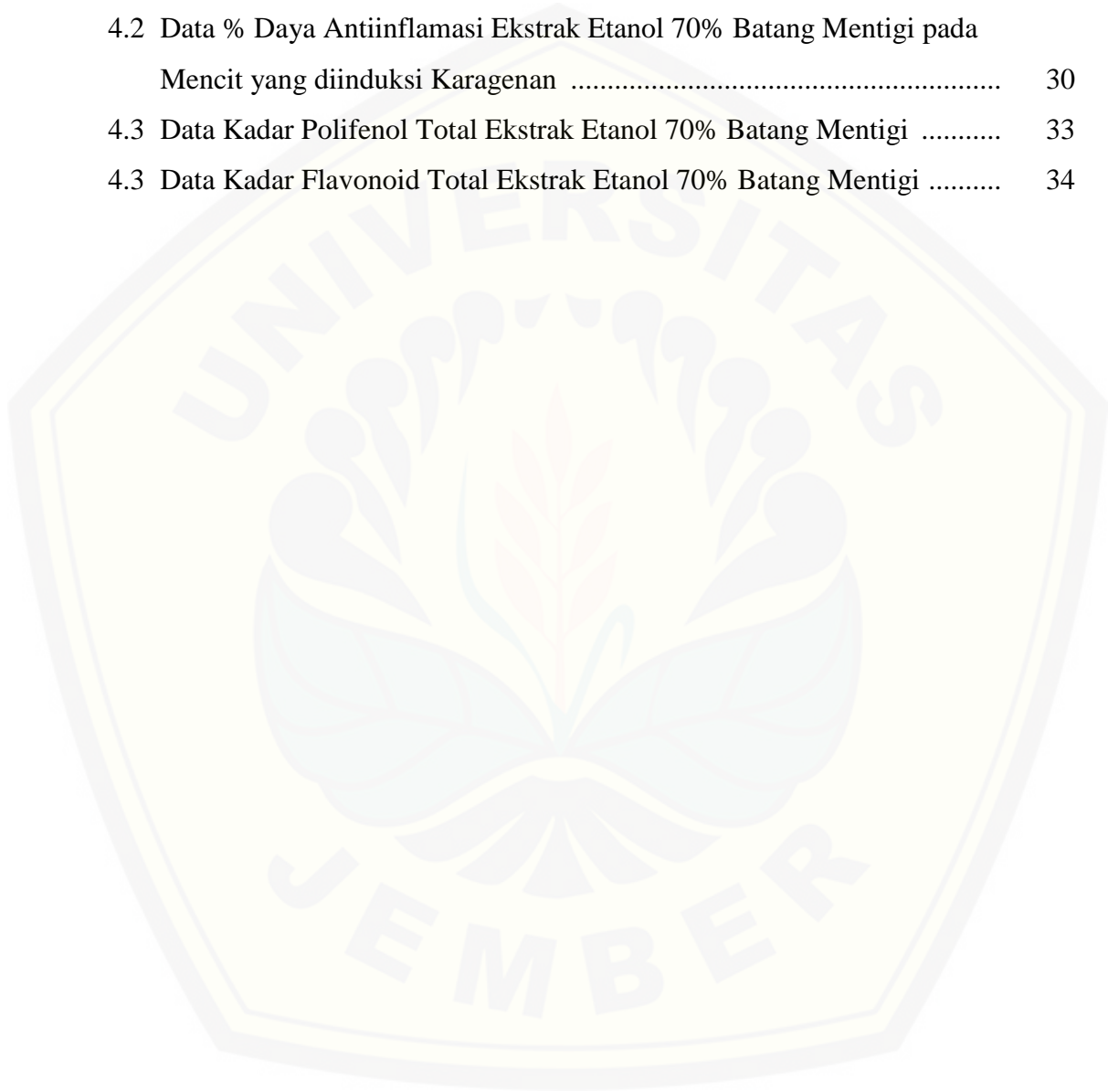
| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN SAMPUL | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Tinjauan Mentigi | 5 |
| 2.1.1 Klasifikasi Tanaman | 5 |
| 2.1.2 Deskripsi Tanaman | 5 |
| 2.1.3 Kandungan dan Aktivitas Tanaman..... | 6 |
| 2.2 Tinjauan tentang Inflamasi | 7 |
| 2.2.1 Definisi Inflamasi..... | 7 |
| 2.2.2 Jenis Inflamasi | 8 |
| 2.2.3 Tanda-tanda Inflamasi | 10 |
| 2.2.4 Mekanisme Inflamasi..... | 11 |

| | |
|---|----|
| 2.3 Tinjauan tentang Obat Antiinflamasi | 12 |
| 2.3.1 Obat Antiinflamasi Non-Steroid..... | 12 |
| 2.3.2 Obat Antiinflamasi Steroid..... | 12 |
| 2.4 Tinjauan tentang Asetosal | 13 |
| 2.5 Tinjauan tentang Karagenan | 14 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN | |
| 3.1 Jenis Penelitian | 16 |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian | 16 |
| 3.3 Alat dan Bahan Penelitian | 16 |
| 3.3.1 Alat..... | 16 |
| 3.3.2 Bahan..... | 16 |
| 3.4 Jumlah dan Kriteria Hewan Penelitian | 17 |
| 3.4.1 Jumlah Hewan Penelitian..... | 17 |
| 3.4.2 Kriteria Hewan Penelitian..... | 17 |
| 3.5 Variabel Penelitian | 17 |
| 3.5.1 Variabel Bebas..... | 17 |
| 3.5.2 Variabel Terikat..... | 17 |
| 3.5.3 Variabel Terkendali..... | 18 |
| 3.6 Definisi Operasional | 18 |
| 3.7 Rancangan Penelitian | 18 |
| 3.8 Prosedur Penelitian | 19 |
| 3.8.1 Tahap Persiapan..... | 19 |
| 3.8.2 Tahap Perlakuan..... | 21 |
| 3.8.3 Tahap Pengamatan..... | 22 |
| 3.8.4 Penetapan Kadar Polifenol dan Flavonoid Total..... | 23 |
| 3.9 Analisis Data | 25 |
| 3.10 Skema Kerja Penelitian | 26 |
| 3.10.1 Skema Kerja..... | 26 |
| 3.10.2 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan.. | 27 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1 Hasil | 28 |

| | |
|--|----|
| 4.1.1 Determinasi Tanaman Mentigi | 28 |
| 4.1.2 Ekstraksi Batang Mentigi | 28 |
| 4.1.3 Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi | 28 |
| 4.1.4 Kandungan Polifenol Total | 31 |
| 4.1.5 Kandungan Flavonoid Total | 33 |
| 4.2 Pembahasan | 34 |
| BAB 5. PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan | 39 |
| 5.2 Saran | 39 |
| DAFTAR PUSTAKA | 40 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 4.1 Data % Radang tiap Kelompok Mencit yang diinduksi Karagenan | 29 |
| 4.2 Data % Daya Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi pada Mencit yang diinduksi Karagenan | 30 |
| 4.3 Data Kadar Polifenol Total Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi | 33 |
| 4.3 Data Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi | 34 |



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Tanaman Mentigi | 6 |
| 2.2 Gambaran Inflamasi Akut dibandingkan Normal | 9 |
| 2.3 Mekanisme Inflamasi | 11 |
| 2.4 Struktur Kimia Asetosal | 13 |
| 3.1 Rancangan Skematis Penelitian Uji Antiinflamasi | 19 |
| 3.2 Skema Kerja | 26 |
| 3.3 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan | 27 |
| 4.1 Kurva Waktu Inkubasi Penetapan Kadar Polifenol Total | 32 |
| 4.2 Kurva Baku Asam Galat | 32 |
| 4.3 Kurva Waktu Inkubasi Penetapan Kadar Flavonoid Total | 33 |
| 4.4 Kurva Baku Kuersetin | 34 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| A. Perhitungan..... | 46 |
| A.1 Perhitungan % Rendemen | 46 |
| A.2 Perhitungan Berat Ekstrak | 46 |
| A.3 Perhitungan dalam Pengujian Polifenol Total | 48 |
| A.4 Perhitungan dalam Pengujian Flavonoid Total | 50 |
| B. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum | 53 |
| B.1 <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat | 53 |
| B.2 <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin | 53 |
| C. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi | 54 |
| C.1 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Polifenol Total | 54 |
| C.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Flavonoid Total..... | 54 |
| D. Hasil Analisis Kandungan Polifenol Total | 55 |
| D.1 Hasil Analisis Larutan Standar Asam Galat | 55 |
| D.2 Hasil Analisis Larutan Sampel | 55 |
| E. Hasil Analisis Kandungan Flavonoid Total | 56 |
| E.1 Hasil Analisis Larutan Standar Kuersetin | 56 |
| E.2 Hasil Analisis Larutan Sampel | 56 |
| F. Data Tebal Plantar Mencit Dan Nilai AUC | 57 |
| G. Analisis Data Statistik | 60 |
| G.1 Analisis <i>One Way</i> ANOVA % Radang Mencit | 60 |
| G.2 Analisis <i>One Way</i> ANOVA Nilai AUC | 61 |
| G.3 Analisis Uji t tidak berpasangan Waktu Inkubasi Penetapan Kadar Polifenol Total | 63 |
| G.4 Analisis Uji t tidak berpasangan Waktu Inkubasi Penetapan Kadar Flavonoid Total | 66 |
| H. Dokumentasi..... | 70 |
| I. Hasil Determinasi dan Komisi Etnik Penelitian..... | 71 |
| I.1 Hasil Determinasi Tanaman Mentigi | 71 |

I.2 Komisi Etik Penelitian 72



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi adalah gangguan yang sering terjadi pada manusia serta binatang yang ditandai dengan timbulnya kemerahan, panas, pembengkakan, rasa nyeri yang mengganggu, dan hilangnya fungsi dari jaringan. Inflamasi adalah respon terhadap cedera jaringan dan infeksi. Respon ini adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan (Mycek *et al.*, 2001). Inflamasi dimulai dengan inflamasi akut yang merupakan respon awal terhadap kerusakan jaringan yaitu pelepasan mediator inflamasi prostaglandin, histamin, serotonin, bradikinin, dan leukotrin (Eming *et al.*, 2007). Contoh penyakit inflamasi yang umum dialami oleh masyarakat adalah radang sendi. Radang sendi merupakan suatu penyakit yang menyebabkan terjadinya inflamasi di dalam satu atau beberapa sendi. Gejala yang dirasakan penderita biasanya berupa rasa sakit, bengkak, dan kemerahan. Radang sendi juga bisa menyebabkan sendi menjadi kaku dan sulit untuk digerakkan.

Penderita radang sendi di Indonesia mencapai 81% dari populasi, namun hanya 24% yang pergi ke dokter, sedangkan 71% penderita cenderung langsung mengkonsumsi obat-obatan yang dijual bebas. Angka ini menempatkan Indonesia sebagai negara yang paling tinggi menderita radang sendi jika dibandingkan dengan negara di Asia lainnya, seperti Hongkong, Malaysia, Singapura dan Taiwan. Prevalensi radang sendi secara nasional berdasarkan wawancara sebesar 30,3% dan diagnosis tenaga kesehatan adalah 14% (Riskesdas, 2007). Obat-obatan dalam mengobati radang sendi tidak jauh berbeda dengan penyakit inflamasi pada umumnya. Obat-obat yang biasa digunakan untuk mengatasi inflamasi adalah obat-obat golongan antiinflamasi nonsteroid atau AINS. Obat-obat AINS golongan salisilat seperti asetosal merupakan antiinflamasi yang penggunaannya sangat luas di masyarakat. Namun, sebagian besar masyarakat Indonesia khususnya di daerah pedesaan cenderung menggunakan obat tradisional untuk mengobati suatu penyakit (Elfahmi *et al.*, 2014).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian, atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-menurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI, 2012). Obat tradisional mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan obat modern yaitu efek samping yang relatif lebih rendah jika digunakan secara tepat dan benar, meliputi takaran, waktu, cara penggunaan, pemilihan bahan, dan penyesuaian indikasi tertentu (Katno, 2007). Tingginya penggunaan obat herbal dikarenakan banyak masyarakat beranggapan bahwa penggunaan tanaman memberikan efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan obat sintesis (Juckett, 2004).

Salah satu tanaman obat yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antiinflamasi adalah mentigi (*Vaccinium varingiaefolium*). Mentigi memiliki potensi cukup besar untuk dimanfaatkan karena ketersediaannya di alam cukup melimpah. Tumbuhan mentigi merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh alami di pulau Jawa. Tumbuhan ini hidup di sekitar kawah pegunungan berapi. Berdasarkan penelitian Ristoja (2016), diketahui bahwa daun mentigi digunakan oleh suku Tengger sebagai obat pegal linu dengan cara merebus daunnya sebanyak satu genggam dalam 5 gelas air. Namun belum terdapat penelitian tentang uji aktivitas antiinflamasi pada tumbuhan mentigi.

Penelitian yang dilakukan oleh Yulyana *et al.* (2016) menyebutkan bahwa daun dan buah mentigi mengandung senyawa antosianin. Sedangkan, ekstrak buah mentigi mengandung senyawa antosianidin peonidin dan sianidin yang berfungsi sebagai antioksidan (Sadiyah dan Kodir, 2012). Daun mentigi juga mengandung aglikon antosianin sianidin dan peonidin yang berfungsi sebagai *antifeedant* serta ditemukan 34 senyawa kimia yang mudah menguap seperti terpenoid 80% dan metil benzoat 18% (Yulyana *et al.*, 2016), dimana antosianin dapat berperan sebagai antiinflamasi dan antioksidan (Miguel, 2011).

Selain antosianin, senyawa yang dapat berperan sebagai antiinflamasi adalah polifenol dan flavonoid. Polifenol diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan mengontrol stress oksidatif (Biesalski, 2007). Sedangkan,

flavonoid dapat bertindak sebagai antiinflamasi, antiaterosklerotik, antitrombogenik, antitumor, antiosteoporosis, dan anti virus (Nijveldt, 2001). Flavonoid juga dapat bertindak sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiulser, antiarthritis, dan antidiare (Patel, 2008).

Berdasarkan studi pustaka, penelitian aktivitas antiinflamasi terhadap batang mentigi belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan batang mentigi muda berwarna merah, dimana warna merah (kemerahan), ungu, biru, biru-hitam/ungu-hitam merupakan ciri yang mudah diamati dari tumbuhan yang mengandung antosianin (Andersen dan Markham, 2006). Karena ciri-ciri diatas, bagian batang mentigi muda diduga mengandung antosianin yang memiliki aktivitas antiinflamasi.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti akan melakukan penetapan kadar flavonoid dan polifenol total ekstrak etanol 70% batang mentigi serta pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol 70% batang mentigi pada dosis 400 mg/kg BB, 800 mg/kg BB, dan 1.200 mg/kg BB terhadap mencit yang diinduksi karagenan dengan menggunakan asetosal sebagai pembanding.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi pada dosis 400 mg/kg BB, 800 mg/kg BB, dan 1.200 mg/kg BB terhadap tebal plantar mencit yang diinduksi karagenan?
2. Berapakah kadar polifenol dan flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% batang mentigi?

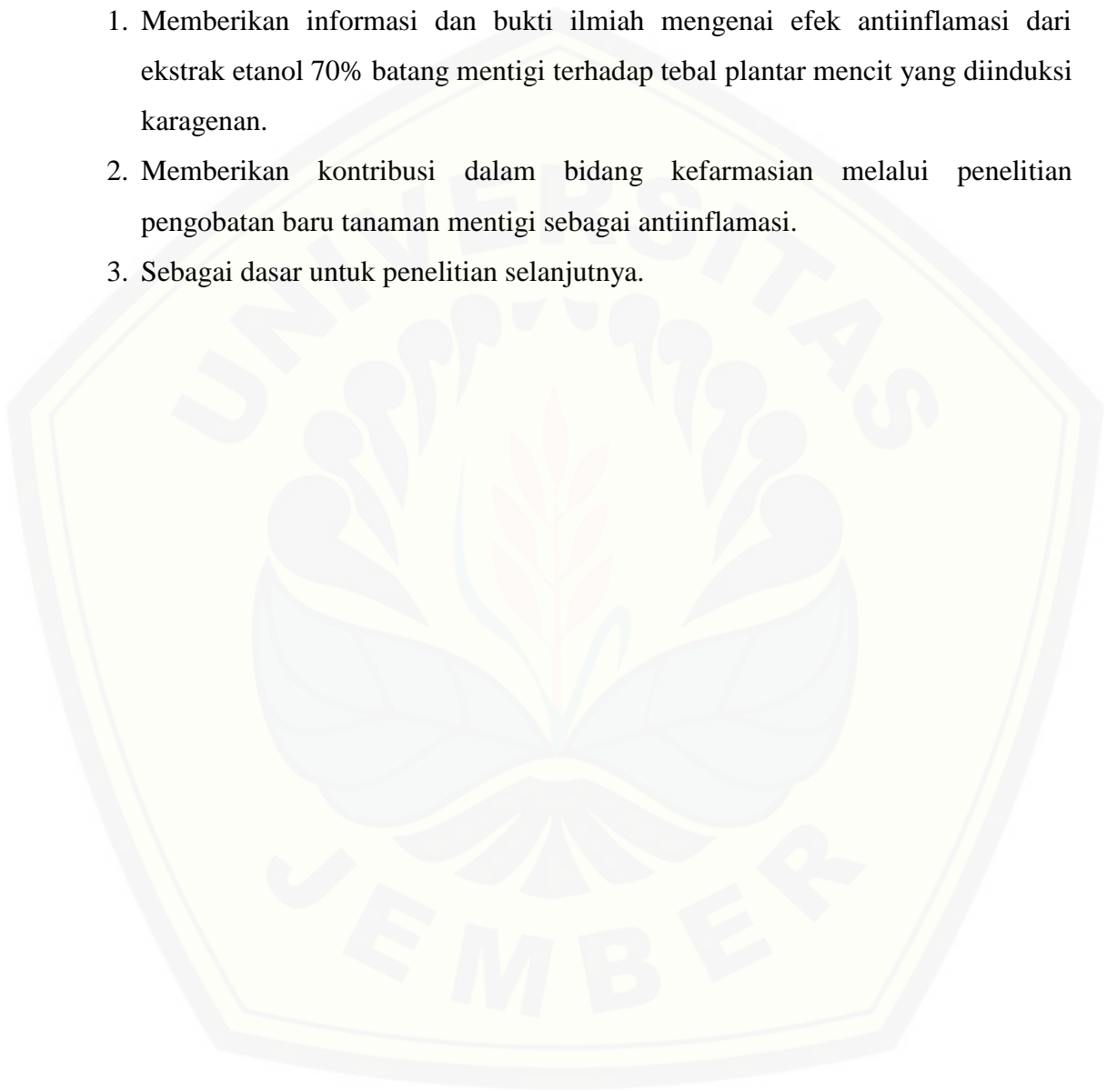
1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi pada dosis 400 mg/kg BB, 800 mg/kg BB, dan 1.200 mg/kg BB terhadap tebal plantar mencit yang diinduksi karagenan.

2. Untuk mengetahui kadar polifenol dan flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% batang mentigi.

1.4 Manfaat

1. Memberikan informasi dan bukti ilmiah mengenai efek antiinflamasi dari ekstrak etanol 70% batang mentigi terhadap tebal plantar mencit yang diinduksi karagenan.
2. Memberikan kontribusi dalam bidang kefarmasian melalui penelitian pengobatan baru tanaman mentigi sebagai antiinflamasi.
3. Sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Mentigi

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman mentigi atau *V. varingiaefolium* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Ericales
Famili : Ericaceae
Genus : *Vaccinium*
Spesies : *Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.
(Backer dan Bakhuizen, 1965).

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Mentigi memiliki beberapa nama lain seperti Manis Rejo (Jawa), Cantigi (Sunda), dan Delima Montak (Kalimantan Timur) (Yulyana *et al.*, 2016). Tanaman Kayunya sangat keras (*lignosus*). Mentigi merupakan perdu atau pohon kecil yang memiliki daun agak tebal, bentuk jorong (*ovalis*) sampai lanset (*lanceolatus*). Daun mudanya berwarna kemerahan, kemudian akan berubah menjadi oranye, kekuningan, dan akhirnya hijau. Tangkai daun berwarna merah, daun muda berwarna ungu kemerahan, dan daun tua berwarna hijau. Perbungaannya (*flos*) di ujung dan berbentuk malai (*terminalis*). Bunganya kecil, berwarna ungu gelap, berbentuk lonceng, dan berbau seperti *almond*. Buahnya bulat dan dapat dimakan (Backer dan Bakhuizen, 1965).

Bagian dalam buah mentigi terdapat kulit buah yang dilanjutkan dengan daging buah. Daging buah mentigi memiliki warna lebih terang (ungu kemerahan). Biji buah mentigi berwarna ungu kecil. Buah mentigi tidak beraroma khas, tapi memiliki rasa yang manis kesat (Sadiyah dan Kodir, 2012).

Tidak banyak informasi yang didapat mengenai tanaman ini. Sebagian besar informasi terkait dengan keberadaannya yang khas mendominasi sekitar kawah di pegunungan. Tanaman ini dapat ditemui di seluruh pulau Jawa pada ketinggian antara 1500-3300 m di atas permukaan laut (dpl) (Backer dan Bakhuizen, 1965).



Gambar 2.1. Tanaman Mentigi (Sumber: Dokumen Pribadi)

2.1.3 Kandungan dan Aktivitas Tanaman

Daun dan buah mentigi mengandung senyawa antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan (Yulyana *et al.*, 2016). Ekstrak buah mentigi mengandung senyawa antosianidin peonidin dan sianidin yang juga berfungsi sebagai antioksidan (Sadiyah dan Kodir, 2012).

Daun mentigi mengandung aglikon antosianin sianidin dan peonidin yang berfungsi sebagai *antifeedant* serta ditemukan 34 senyawa kimia yang mudah menguap seperti terpenoid 80% dan metil benzoat 18% (Yulyana *et al.*, 2016). Penelitian Hermawan (2009) menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun mentigi juga berfungsi sebagai *antifeedant*. Sedangkan ekstrak *n*-heksan, etilasetat, dan etanol 95% daun mentigi dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukimia L1210 (Yulyana *et al.*, 2016). Ekstrak metanol daun bilberry (*Vaccinium leschenaultia*) dan buahnya pada dosis 400mg/kg diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan dan antiulcerogenik (Nagulsamy *et al.*, 2015).

Berdasarkan kemotaksonomi, golongan tanaman dalam satu genus dimungkinkan memiliki kandungan kimia dan khasiat yang hampir sama (Liufetto, 2010). Tanaman bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) kaya akan kandungan senyawa antosianin yang berperan penting dalam aktivitas antiinflamasi (Luo *et al.*, 2014). Buah blueberry (*Vaccinium corymbosum*) memiliki kandungan antosianin, asam fenolik, dan flavonoid yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antinosiseptif (Torri *et al.*, 2007). Bagian daun dan buah bilberry (*Vaccinium leschenaultia*) memiliki kandungan senyawa fenolik, tanin, flavonoid yang berperan penting dalam aktivitas antiinflamasi, antiulcerogenik dan antioksidan (Nagulsamy *et al.*, 2015). Bagian buah dan daun berry (*Vaccinium glaucoalbum*) memiliki kandungan senyawa antosianin, flavonol, asam kolinergik yang berperan sebagai antioksidan (Feng *et al.*, 2016).

2.2 Tinjauan tentang Inflamasi

2.2.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi jaringan tubuh terhadap luka, seperti trauma fisik, benda asing, zat kimia, pembedahan, radiasi, atau arus listrik. Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar keduanya dapat mengisolasi, menghancurkan, atau menginaktifkan antigen yang masuk, membersihkan debris, dan mempersiapkan untuk proses penyembuhan (Robbins, 2007). Inflamasi adalah respon fisiologi yang didefinisikan sebagai reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera yang melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun (Baratawidjaja, 2010).

Inflamasi adalah respon protektif yang melibatkan sel induk, pembuluh darah, dan protein serta mediator lain yang dimaksudkan untuk penyembuhan pada kerusakan sel. Proses inflamasi berperan dalam memusnahkan, melarutkan, dan membatasi agen penyebab cedera dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu (Kumar *et al.*, 2012). Inflamasi adalah respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi

menghancurkan dan mengurangi agen pencedera maupun jaringan yang cedera (Dorland, 2002).

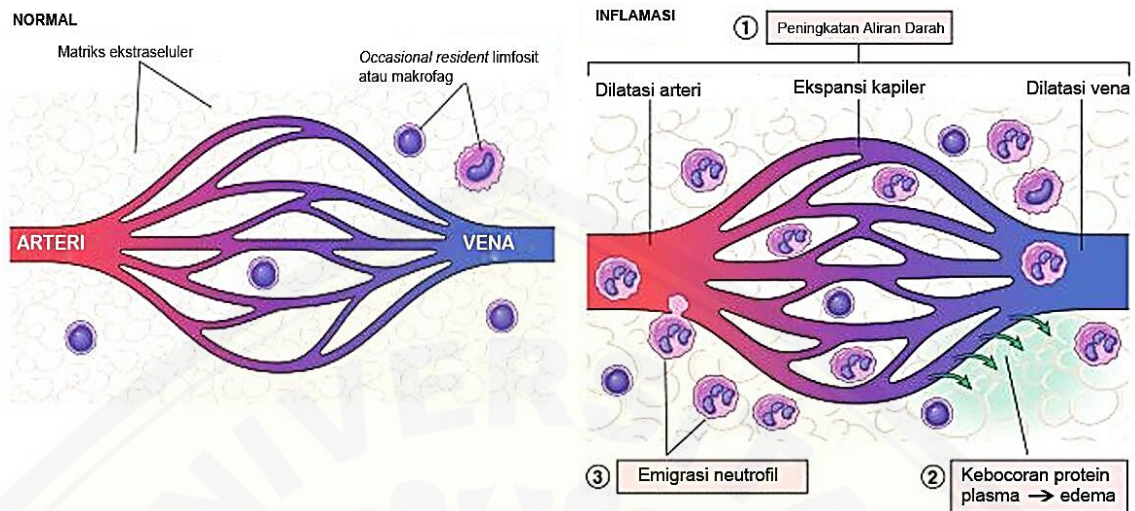
2.2.2 Jenis Inflamasi

Inflamasi dapat dibedakan menjadi inflamasi akut atau kronik (Tambayong, 2000). Inflamasi akut terjadi secara cepat dengan onset dan durasi pendek, berlangsung selama beberapa menit hingga beberapa hari dan ditandai dengan adanya cairan, leukosit yang didominasi neutrofil, serta eksudasi protein plasma. Sedangkan inflamasi kronik memiliki durasi lebih lama dan ditandai oleh masuknya limfosit dan makrofag yang terkait proliferasi di dalam pembuluh darah dan fibrosis (Price dan Wilson, 2006).

a. Inflamasi Akut

Respon inflamasi akut dengan cepat menghadirkan leukosit dan protein plasma ke lokasi cedera. Pada lokasi cedera, leukosit membersihkan invasi dan memulai proses mencerna dan menyingkirkan jaringan nekrotik. Inflamasi akut memiliki dua komponen utama, yaitu:

1. Perubahan vaskular adalah perubahan dalam pembuluh kapiler yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan perubahan dinding pembuluh yang memungkinkan protein plasma untuk meninggalkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas pembuluh darah). Selain itu, sel-sel endotel diaktifkan yang mengakibatkan peningkatan adhesi dan migrasi leukosit melalui dinding pembuluh darah.
2. Peristiwa seluler adalah emigrasi leukosit dari sirkulasi dan akumulasi dalam cedera (perekrutan selular), diikuti oleh aktivasi leukosit yang memungkinkan mereka untuk menghilangkan agen penyebab inflamasi. Leukosit utama dalam inflamasi akut adalah neutrofil (Tambayong, 2000).



Gambar 2.2 Gambaran Inflamasi Akut dibandingkan Normal
(Sumber: Kumar *et al.*, 2012)

Reaksi inflamasi akut dipicu oleh berbagai rangsangan (Kumar *et al.*, 2012), antara lain:

- a) Infeksi (bakteri, virus, jamur, parasit) merupakan salah satu penyebab paling umum dan secara medis penting sebagai penyebab inflamasi.
- b) Trauma fisik dan berbagai senyawa kimia (misalnya, cedera termal, seperti luka bakar, iradiasi, toksisitas dari bahan kimia lingkungan hidup tertentu) yang melukai sel induk dan menimbulkan reaksi inflamasi.
- c) Jaringan nekrosis termasuk iskemia (seperti dalam infark miokard) serta cedera fisik dan kimia.
- d) Benda asing (serpihan, kotoran, jahitan, kristal deposit).
- e) Respon imun (reaksi hipersensitivitas).

b. Inflamasi Kronik

Inflamasi kronik disebabkan oleh rangsangan yang menetap, seringkali selama beberapa minggu atau bulan menyebabkan infiltrasi mononuklear dan proliferasi fibroblas. Sel-sel darah putih yang tertimbun sebagian besar terdiri dari sel makrofag dan limfosit, kadang-kadang juga ditemukan sel plasma sehingga eksudat leukosit pada inflamasi kronis disebut monomorfonuklear untuk

membedakan dari eksudat polimorfonuklear pada inflamasi akut (Tambayong, 2000).

2.2.3 Tanda-tanda Inflamasi

Menurut Price dan Wilson (2006), terdapat lima tanda-tanda pokok inflamasi yaitu kemerahan (*rubor*), pembengkakan (*tumor*), panas (kalor), pembengkakan (*tumor*), nyeri (*dolor*), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*).

Ciri khas inflamasi dikenal dengan tanda-tanda utama inflamasi, yaitu :

a. *Rubor*

Kemerahan terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi. Darah berkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator-mediator kimia tubuh.

b. *Tumor*

Pembengkakan merupakan tahap kedua dari inflamasi. Plasma merembes ke dalam jaringan interstisial pada tempat cedera. Kinin mendilatasi arteriol meningkatkan permeabilitas kapiler.

c. Kalor

Panas pada tempat inflamasi disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah dan mungkin juga karena pirogen (substansi yang menimbulkan demam) yang mengganggu pusat pengatur panas pada hipotalamus.

d. *Dolor*

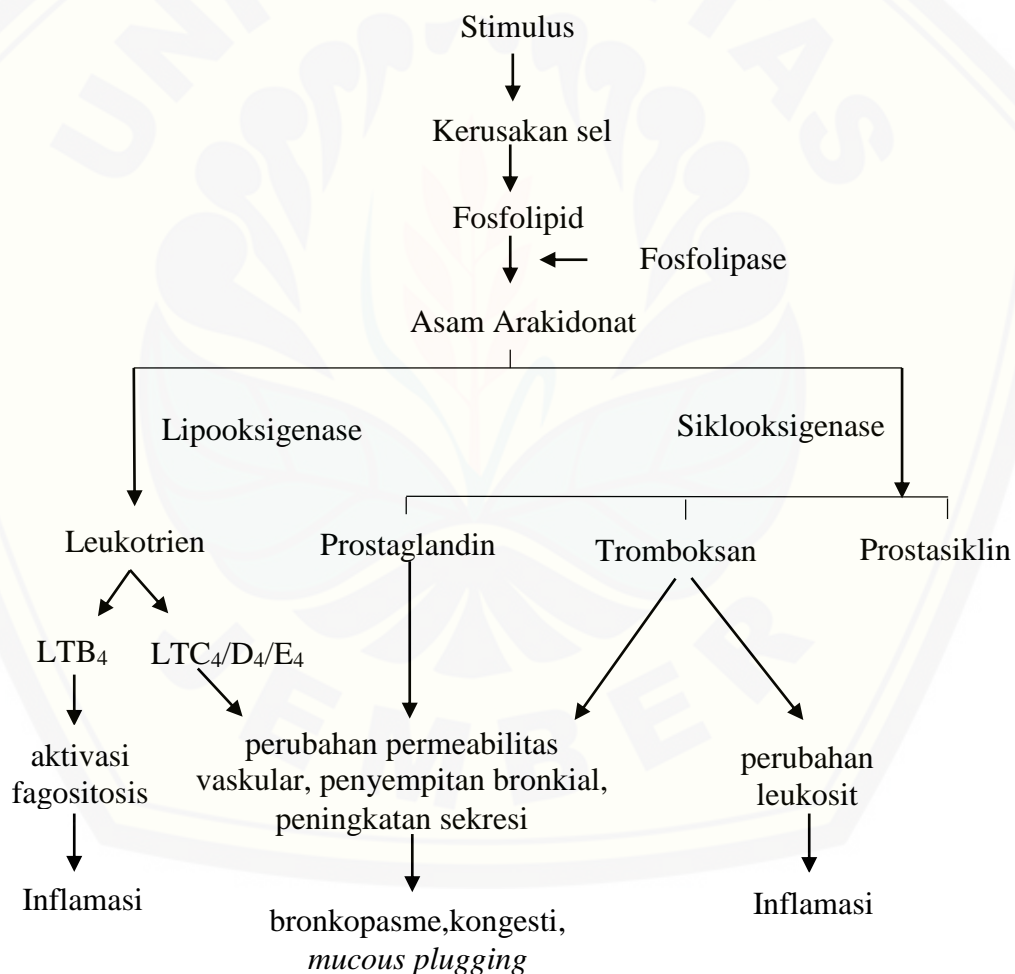
Nyeri disebabkan oleh pembengkakan dan pelepasan mediator-mediator kimia.

e. *Functio laesa*

Penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan dan karena rasa nyeri, yang mengurangi mobilitas pada daerah yang terkena.

2.2.4 Mekanisme Inflamasi

Proses inflamasi dimulai dari stimulus yang akan mengakibatkan kerusakan sel, sebagai reaksi terhadap kerusakan sel maka sel tersebut akan melepaskan beberapa fosfolipid yang diantaranya adalah asam arakidonat (Calder, 2006). Setelah asam arakidonat tersebut bebas akan diaktifkan oleh beberapa enzim, diantaranya siklooksigenase dan lipooksigenase. Enzim tersebut merubah asam arakidonat ke dalam bentuk yang tidak stabil dan selanjutnya dimetabolisme menjadi leukotrien, prostaglandin, prostasiklin, serta tromboksan yang menyebabkan terjadinya inflamasi. (Ricklin dan Lambris, 2013).



Gambar 2.3 Mekanisme Inflamasi (Sumber: Katzung, 2006)

2.3 Tinjauan tentang Obat Antiinflamasi

2.3.1 Obat Antiinflamasi Non-steroid

Obat Antiinflamasi Nonsteroid (OAINS) adalah suatu golongan obat yang memiliki khasiat analgetik, antipiretik, serta antiinflamasi dan banyak digunakan untuk menghilangkan gejala penyakit reumatoid seperti arthritis reumatoid, artrosis dan spondilosis (Tjay dan Rahardja, 2007).

Mekanisme dari OAINS yaitu prostaglandin dilepaskan saat terjadi kerusakan sel dan OAINS menghambat biosintesis prostaglandin. Obat-obat tersebut tidak menghambat pembentukan mediator inflamasi lain atau leukotrien. Enzim pertama dalam jalur pembentukan prostaglandin adalah prostaglandin G/H sintetase, atau yang dikenal dengan nama siklooksigenase (COX) (Brunton *et al.*, 2008). Enzim ini mengubah asam arakidonat (AA) menjadi Prostaglandin G₂ (PGG₂) dan Prostaglandin H₂ (PGH₂), yang akan diubah menjadi tromboksan A₂ (TXA₂) dan bentuk prostaglandin lainnya. Dosis terapeutik OAINS menurunkan biosintesis prostaglandin dengan menghambat COX, dan terdapat korelasi antara potensi sebagai penghambat COX dan aktivitas antiinflamasi (Rao dan Knaus, 2008).

Efek samping dari OAINS berhubungan dengan saluran pencernaan karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis prostaglandin. Gangguan yang dapat terjadi meliputi anoreksia, mual, dispepsia, nyeri abdominal, dan anemia akibat perdarahan saluran cerna (Cuzick *et al.*, 2009).

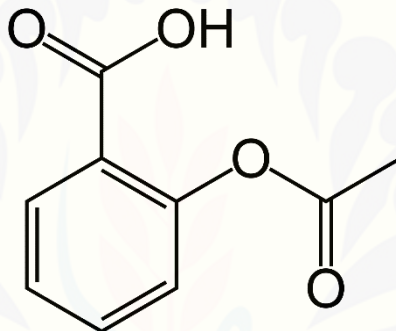
2.3.2 Obat Antiinflamasi Steroid

Obat antiinflamasi steroid merupakan obat golongan glukokortikoid (disebut juga obat-obat golongan kortikosteroid). Kortikosteroid sendiri digolongkan menjadi dua berdasarkan aktivitasnya, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Glukokortikoid memiliki peranan pada metabolisme glukosa, sedangkan mineralokortikoid berperan sebagai retensi garam (Katzung, 2009). Pada manusia, glukokortikoid alami contohnya seperti kortisol atau hidrokortison, sedangkan mineralokortikoid utama adalah aldosteron (Rhen dan Cidlowski, 2005). Selain steroid alami, telah banyak disintesis glukokortikoid sintetik, yang

termasuk golongan obat yang penting karena secara luas digunakan terutama untuk pengobatan penyakit-penyakit inflamasi (Ikawati, 2006).

Obat antiinflamasi steroid bekerja dengan cara menghambat fosfolipase, yaitu suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakidonat dari membran lipid. Contoh obat golongan ini adalah prednisolone, hidrokortison, deksametason, dan betametason (Katzung, 2006). Efek samping dari obat antiinflamasi steroid adalah hiperglikemia, intoleransi gastrointestinal, insomnia, mudah terkena infeksi, dan retensi cairan (Aulakh dan Singh, 2008).

2.4 Asetosal



Gambar 2.4. Struktur Kimia Asetosal (Sumber: Sweetman, 2009)

Asam asetil salisilat (ASA) yang lebih dikenal sebagai asetosal atau aspirin adalah obat antiinflamasi non steroid (*non steroidal anti inflammatory drugs*). Asetosal merupakan golongan obat yang bekerja terutama di perifer berfungsi sebagai analgesik (peredam nyeri), antipiretik (penurun panas) dan antiinflamasi (anti radang) (Tjay dan Rahardja, 2007). Obat antiinflamasi non steroid diindikasikan pada penyakit-penyakit reumatik yang disertai radang, seperti *rheumatoid arthritis* dan *osteoarthritis* untuk menekan reaksi peradangan dan meringankan nyeri (Dannhardt dan Laufer, 2000).

Pada dosis biasa, efek samping utama asetosal adalah gangguan pada lambung. Asetosal adalah suatu asam dengan harga pKa 3,5, sehingga pada pH lambung tidak terlarut sempurna dan partikel asetosal dapat kontak langsung dengan mukosa lambung. Akibatnya, pemberian asetosal dapat merusak sel

mukosa lambung bahkan sampai timbul perdarahan pada lambung. Gejala yang timbul akibat perusakan sel mukosa lambung oleh pemberian asetosal adalah nyeri epigastrium, dan muntah. Muntah dapat terjadi sebagai akibat rangsangan susunan saraf pusat setelah absorpsi dosis besar asetosal. Oleh karena itu sangat dianjurkan asetosal diberi bersama makanan dan cairan volume besar untuk mengurangi gangguan saluran cerna (Katzung *et al.*, 2006). Pada pH lambung, asetosal tidak dibebaskan sehingga obat akan mudah menembus sel mukosa. Kemudian asetosal akan mengalami ionisasi (menjadi bermuatan negatif) dan terperangkap. Hal inilah yang berpotensi menyebabkan kerusakan sel secara langsung (Mycek *et al.*, 2001).

2.5 Karagenan

Karagenan adalah sulfat polisakarida bermolekul besar sebagai induktor inflamasi (Corsini *et al.*, 2005). Karagenan berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, dan memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C (Rowe *et al.*, 2009).

Uji aktivitas antiinflamasi dengan induksi karagenan merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antiinflamasi yang sederhana, mudah dilakukan dan sering dipakai. Karagenan berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut (Singh *et al.*, 2008). Karagenan digunakan sebagai penginduksi inflamasi karena ada beberapa keuntungan yang didapat, antara lain tidak menimbulkan kerusakan jaringan, tidak menimbulkan bekas, dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi (Vogel, 2002).

Ada tiga fase pembentukan udem yang diinduksi oleh karagenan. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian udem berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi. Pelepasan prostaglandin juga bersamaan dengan migrasi leukosit pada daerah radang. Prostaglandin merupakan mediator inflamasi yang berasal dari asam arakidonat oleh aksi dari siklooksigenase. Neutrofil akan bermigrasi ke tempat terjadinya inflamasi yaitu tempat

dilepaskannya mediator inflamasi (Morris, 2003). Udem yang disebabkan oleh karagenan bisa bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Corsini *et al.*, 2005).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu yang nantinya akan diberikan kelompok kontrol sebagai pembanding.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi bagian Farmasi Klinik Komunitas Fakultas Farmasi. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2017 sampai selesai.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, neraca analitik, maserator, *rotary evaporator* (E-scientific), oven (Memmert), corong *buchner*, oven, cawan porselen, spektrofotometer (Hitachi U1800), jangka sorong, kandang mencit, tempat makan dan minum mencit, alat-alat suntik untuk injeksi (*One Med Disposable syringe*), penghitung waktu (*stopwatch*), mortir dan stamper.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang mentigi yang diperoleh dari Desa Ngadisari, Kecamatan Sukapura, Probolinggo, Jawa Timur. Bahan lain yang digunakan adalah etanol 70%, etanol 90%, natrium karbonat (NaCO_3) (Brataco Ermika), $\text{AlCl}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), reagen folin (Sigma-Aldrich), natrium hidroksida (NaOH) (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), asam galat (Sigma-Aldrich), kloroform, NaCl, karagen, CMC-Na, asetosal, dan akuadestilata.

3.4 Jumlah dan Kriteria Hewan Penelitian

3.4.1 Jumlah Hewan Penelitian

Jumlah sampel percobaan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer (Ridwan, 2013):

$$\{(n-1)(p-1)\} \geq 15$$

Keterangan :

n : Jumlah hewan yang diperlukan

p : Jumlah kelompok perlakuan

Apabila $p = 5$

maka, $\{(5-1)(n-1)\} \geq 15$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi, pada penelitian ini digunakan mencit sebanyak 25 ekor, dimana 5 ekor untuk masing-masing kelompok kontrol dan perlakuan.

3.4.2 Kriteria Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan strain Balb-C sebanyak 25 ekor, sehat, berumur 2-3 bulan dengan BB 20-30 gram.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dari dosis ekstrak etanol 70% batang mentigi yang diberikan pada mencit.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah tebal plantar mencit.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, jenis kelamin mencit, umur mencit, berat badan mencit, pemeliharaan mencit, waktu dan lama perlakuan serta prosedur pengujian.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

1. Ekstrak mentigi diperoleh dari hasil ekstraksi batang mentigi muda (warna kemerahan) menggunakan pelarut etanol 70%. Batang mentigi muda diambil pada bulan Juni 2016 di Desa Ngadisari, Kecamatan Sukapura, Probolinggo, Jawa Timur dan telah diidentifikasi oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan.
2. Kondisi inflamasi terjadi akibat adanya induksi karagenan pada telapak kaki mencit dan parameter pengujian respon terhadap inflamasi diperoleh dari pengukuran tebal plantar menggunakan jangka sorong pada masing-masing mencit.
3. Kadar polifenol dan flavonoid total yang diukur merupakan kadar polifenol dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% batang mentigi, serta dinyatakan dalam mg ekuivalen asam galat (GAE)/g ekstrak dan mg ekuivalen kuersetin (QE)/g ekstrak.

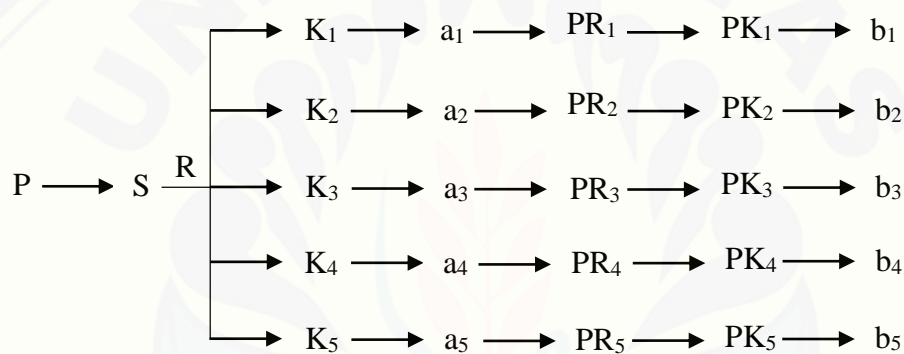
3.7 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *Posttest only with Control Group Design*. Secara skematis rancangan penelitian digambarkan pada Gambar 3.1.

Keterangan :

- P : Populasi
S : Sampel
R : Randomisasi
K : Kelompok
a : Data tebal plantar mencit sebelum penyuntikan karagen (T_0)

- b : Data tebal plantar mencit setelah penyuntikan karagen pada waktu $t (T_t)$
- PR : Perlakuan
- PK : Penyuntikan karagenan 1% sebanyak 0.05 mL
- 1 : Kontrol negatif (suspensi CMC Na 0,5%)
- 2 : Kontrol positif (suspensi asetosal 1% dalam CMC-Na 0,5%)
- 3 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dosis 400 mg/kg BB
- 4 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dosis 800 mg/kg BB
- 5 : Suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dosis 1.200 mg/kg BB



Gambar 3.1. Rancangan Skematis Penelitian Uji Antiinflamasi

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Penyiapan Hewan Uji

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari pada kandang yang memiliki ventilasi yang baik dan selalu dijaga kebersihannya, diberi makan standar, dan diberi minum *ad libitum*. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan keseragaman serta untuk mengontrol kesehatan hewan coba.

b. Penyiapan Simplisia Uji

Penyiapan simplisia uji meliputi determinasi tumbuhan dan pengumpulan simplisia.

1) Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan.

2) Pengumpulan dan Pembuatan Simplisia

Tanaman yang digunakan adalah batang mentigi yang didapat dari desa Ngadisari, Kecamatan Sukapura, Probolinggo, Jawa Timur dalam bentuk tanaman segar. Batang mentigi yang didapat kemudian disortasi basah, dicuci dan diangin-anginkan di bawah sinar matahari dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50 °C. Proses selanjutnya adalah sortasi kering batang mentigi. Lalu dilakukan perajangan pada batang mentigi menjadi ukuran yang lebih kecil dan selanjutnya dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk diayak hingga diperoleh ukuran serbuk yang seragam.

c. Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi batang muda mentigi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan remaserasi 2 kali dalam pelarut etanol 70%. Serbuk kering simplisia sebanyak 1000 gram dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 10 kali bobot serbuk. Campuran direndam sambil sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Maserat disaring dan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*, setelah itu diuapkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Perhitungan rendemen ditentukan berdasarkan persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Depkes RI, 2013).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

d. Penetapan dosis hewan uji

Pada penelitian ini dibuat dosis ekstrak batang mentigi dengan dosis 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB dan 1.200 mg/kgBB untuk mengetahui efek antiinflamasi.

e. Pembuatan larutan CMC-Na 0,5%

Ditimbang 500 mg CMC-Na dan ditaburkan dalam 10 mL air hangat (20 kali berat CMC) dan dibiarkan sampai mengembang. Kemudian diaduk sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah air sampai 100 mL.

f. Pembuatan suspensi asetosal 1%

Ditimbang 1 gr asetosal, kemudian digerus hingga ukuran partikelnya menjadi lebih kecil dan ditambahkan dengan 100 mL larutan CMC-Na 0,5%.

g. Pembuatan suspensi karagenan 1%

Ditimbang 1 gram karagenan dan disuspensikan dalam 100 mL CMC-Na 0,5%.

h. Pembuatan suspensi ekstrak

Ekstrak etanol batang mentigi ditimbang sebesar 400 mg, 800 mg, 1.200 mg untuk membuat dosis 400mg/kg BB, 800mg/kg BB, dan 1.200 mg/kg BB. Ekstrak yang ditimbang digerus dan dilarutkan dengan CMC-Na 0,5% hingga homogen sampai 10 ml.

3.8.2 Tahap Perlakuan

Mencit diadaptasikan selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan, selanjutnya mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berisi 5 ekor mencit. 18 jam sebelum perlakuan mencit dipuaskan tetapi tetap diberi air *ad libitum*. Kemudian dilakukan penimbangan dan mencit diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok I (Kontrol Negatif) : diberikan suspensi CMC-Na 0,5% dengan dosis 0,1 mL/kgBB mencit p.o
- b. Kelompok II (Kontrol Positif) : diberikan suspensi asetosal 1% dengan dosis 0,1 mL/kg BB mencit p.o
- c. Kelompok III (dosis 400 mg/kgBB) : diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 400 mg/kgBB p.o
- d. Kelompok IV (dosis 800 mg/kgBB) : diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 800 mg/kgBB p.o

- e. Kelompok V (dosis 1.200 mg/kgBB) : diberikan suspensi ekstrak etanol 70% batang mentigi dengan dosis 1600 mg/kgBB p.o

Selanjutnya dilakukan pengukuran tebal plantar mencit dengan menggunakan jangka sorong. Tebal plantar sebelum perlakuan disebut sebagai tebal plantar awal (T_0). Mencit diberikan perlakuan 1 jam sebelum diinduksi inflamasi dengan suspensi karagenan 1 % sebanyak 0,05 mL. Pengukuran tebal plantar dilakukan pada waktu 0,5; 1; 2; 3; 4; dan 5 jam setelah injeksi karagenan (T_t).

3.8.3 Tahap Pengamatan

Data yang diperoleh dari pengukuran tebal plantar mencit setiap waktu pada semua kelompok ditabulasikan. Tebal plantar mencit dinyatakan dalam mm. Perhitungan presentase radang dilakukan dengan membandingkannya terhadap tebal plantar awal (T_0) sebelum penyuntikan karagen. Rumus yang digunakan adalah (Hasnaeni, 2016):

$$\% \text{ radang} = \frac{T_t - T_0}{T_0} \times 100\%$$

Keterangan :

T_0 = tebal plantar mencit sebelum di induksi karagenan

T_t = tebal plantar mencit setelah di induksi karagenan (waktu 5 jam)

Setelah dilakukan perhitungan % radang, dicari nilai AUC_{0-5} yaitu luas daerah bawah kurva yang menunjukkan hubungan tebal plantar pada masing-masing mencit tiap satuan waktu (mm.jam). Nilai AUC_{0-5} dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Hidayati, 2008):

$$\begin{aligned} AUC_{0-5} = & \frac{T_0 + T_{0,5}}{2} (T_{0,5} - T_0) + \frac{T_{0,5} + T_1}{2} (T_1 - T_{0,5}) + \frac{T_1 + T_2}{2} (T_2 \\ & - T_1) + \frac{T_2 + T_3}{2} (T_3 - T_2) + \frac{T_3 + T_4}{2} (T_4 - T_3) \\ & + \frac{T_4 + T_5}{2} (T_5 - T_4) \end{aligned}$$

Selanjutnya, untuk melihat efek antiinflamasi, dapat dihitung % daya antiinflamasi dengan rumus sebagai berikut (Hasnaeni, 2016):

$$\% \text{ daya antiinflamasi} = \frac{AUC_{\text{kontrol}} - AUC_{\text{perlakuan}}}{AUC_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan :

AUC kontrol = AUC kontrol negatif

AUC perlakuan = AUC dengan perlakuan senyawa uji

3.8.4 Penetapan kadar Polifenol dan Flavonoid Total

A. Penetapan kadar Polifenol Total

Metode penentuan kadar polifenol total menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Singh *et al.*, 2014).

a. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Dibuat larutan induk terlebih dahulu dengan menimbang 7,5 mg asam galat, dan dilarutkan dengan akuades 25 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 300 µg/mL. Larutan 100 µg/mL diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 90, 120, 150, dan 180 µg/mL.

b. Penentuan Waktu Inkubasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar direaksikan dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 300-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

c. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 7,5 mg ekstrak batang mentigi dan direplikasi tiga kali. Kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dengan akuades 5 mL hingga diperoleh konsentrasi 1500 µg/mL.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Dipipet 0,5 mL larutan standar direaksikan dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama waktu 30 menit. Salah satu larutan standar dipilih untuk dilihat spektranya di spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi terbesar menunjukkan titik

puncak spektra dan digunakan sebagai panjang gelombang maksimal yang terpilih.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar lalu direaksikan dengan 5 mL reagen Folin Ciocalteu (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama 30 menit. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih.

f. Pengujian Polifenol Total

Dipipet 0,5 mL larutan sampel direaksikan dengan 5 mL reagen Folin Ciocalteu (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama 30 menit. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih. Kandungan polifenol total dinyatakan dalam mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 1 gram ekstrak.

B. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Metode penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode AlCl_3 (Ordenez *et al.*, 2006).

a. Pembuatan Larutan Standar Flavonoid

Dibuat larutan induk terlebih dahulu dengan menimbang 2,5 mg kuersetin, dilarutkan dengan etanol p.a 25 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 100 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 10, 15, 20, dan 25 $\mu\text{g/mL}$.

b. Penentuan Waktu Inkubasi

Dipipet 1 mL larutan standar direaksikan dengan 1 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol). Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-500 nm dengan spektrofotometer UV-Vis mulai menit ke-0 sampai menit ke-120 dengan selang waktu 5 menit.

c. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 3,5 mg ekstrak batang Mentigi dan direplikasi tiga kali. Kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dengan etanol p.a 5 mL hingga diperoleh konsentrasi 7000 $\mu\text{g/mL}$.

d. Penentuan Panjang Gelombang

Dipipet 1 mL larutan standar direaksikan dengan 1 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol) dan didiamkan selama 60 menit. Dipilih salah satu larutan standar untuk dilihat spektranya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra dan digunakan sebagai panjang gelombang maksimal yang terpilih.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dipipet 1 mL larutan standar direaksikan dengan 1 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol) dan didiamkan selama 60 menit dalam kuvet. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih.

f. Pengujian Flavonoid Total

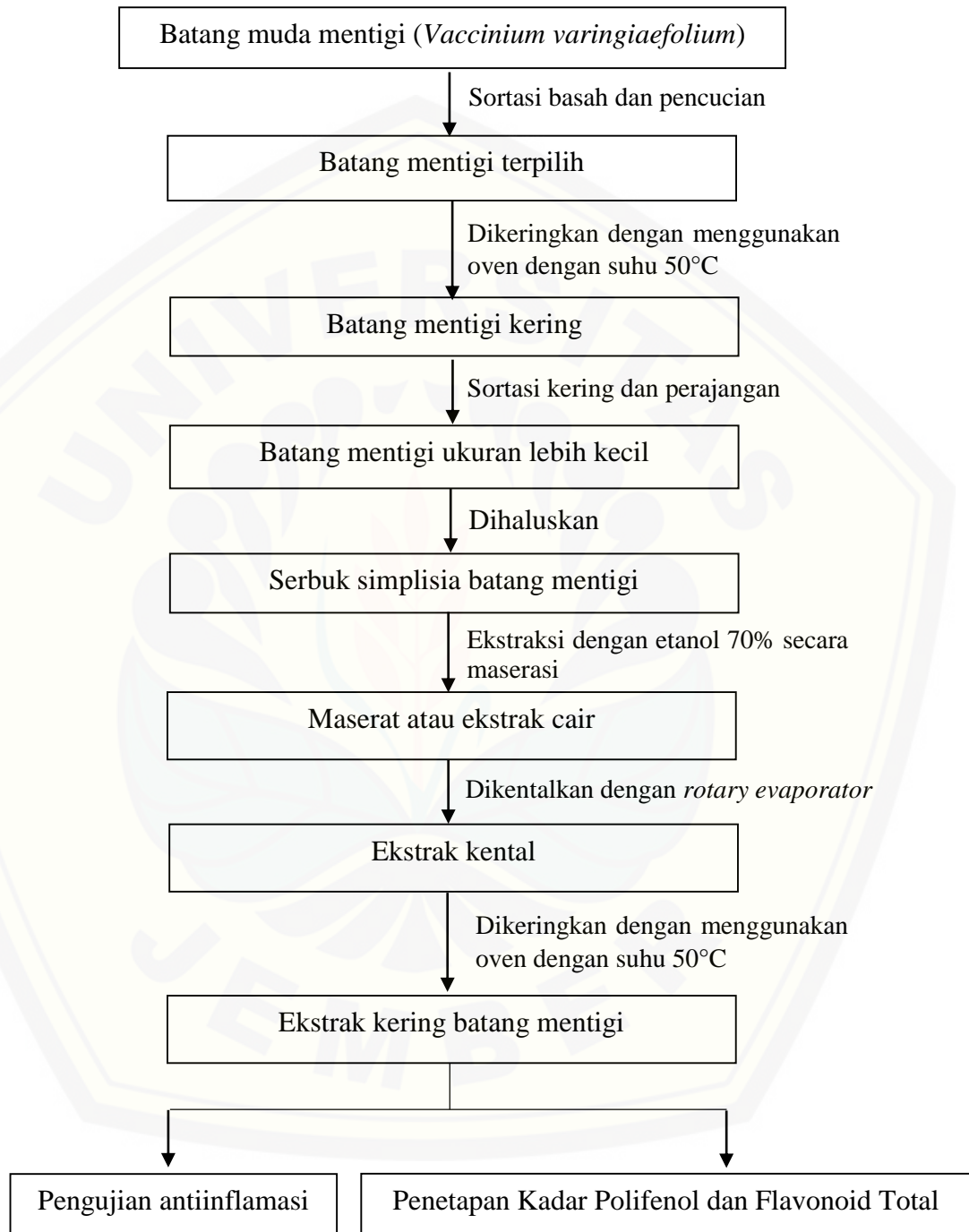
Dipipet 1 mL larutan sampel lalu direaksikan dengan 1 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol) dan didiamkan selama 60 menit dalam kuvet. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang terpilih. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg QE (ekuivalensi kuersetin) dalam 1 gram ekstrak.

3.9 Analisis Data

Data pengamatan aktivitas antiinflamasi berupa tebal plantar mencit. Data persen radang dan AUC masing-masing mencit dianalisis menggunakan uji analisis varians (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Dengan syarat uji homogenitas serta uji normalitas memenuhi persyaratan uji yaitu nilai $p > 0,05$. Bila terdapat perbedaan bermakna pada uji ANOVA, analisis dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Hasil uji ANOVA dan LSD dikatakan signifikan atau bermakna bila nilai $p < 0,05$. Jika uji homogenitas dan uji normalitas tidak memenuhi persyaratan, maka dipilih analisis statistika uji Kruskal-Wallis. Kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney jika terdapat perbedaan yang bermakna.

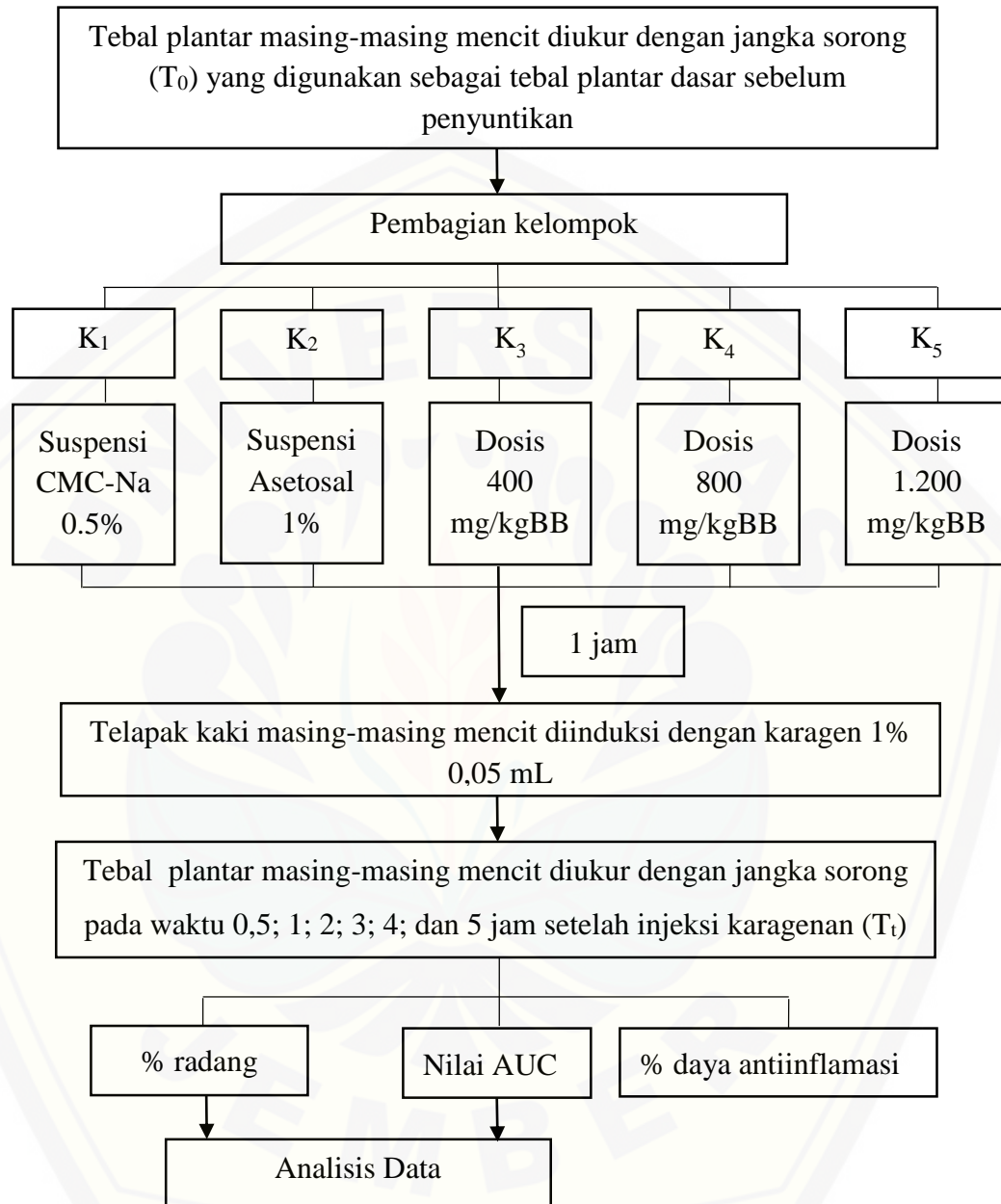
3.10 Skema Kerja Penelitian

3.10.1 Skema Kerja



Gambar 3.2 Skema Kerja

3.10.2 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan induksi Karagenan



Gambar 3.3 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 70% batang mentigi (*Vaccinium varingiaaeolium*) pada dosis 400 mg/kg BB, 800 mg/kg BB, dan 1.200 mg/kg BB mampu memberikan aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenan. Pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi pada dosis 1.200 mg/kg BB merupakan dosis yang terbaik dari penelitian ini sebagai antiinflamasi dalam menurunkan tebal plantar mencit yang diinduksi karagenan.
2. Kadar polifenol total dalam ekstrak etanol 70% batang mentigi yaitu sebesar $86,8 \pm 0,790$ mg GAE/g ekstrak. Kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% batang mentigi yaitu sebesar $26,905 \pm 0,119$ mg QE/g ekstrak.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimum yang aman dari ekstrak etanol 70% batang mentigi sebagai antiinflamasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol 70% batang mentigi yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, M. dan K. R. Markham. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications*. United States of America: Taylor and Francis Group.
- Aulakh, R. dan S. Singh. 2008. Strategies for Minimizing Corticosteroid Toxicity: A Review. *Indian Journal of Pediatrics*. Vol. 75: 1067-1073.
- Azwanida, N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. Vol 4(3): 1-6.
- Backer, C. A. dan R. C. Bakhuizen van den Brink. 1965. *Flora of Java*. Vol. II. Groningen-Netherland: N. V. P. Noordhooff.
- Baratawidjaja, K. G. dan I. Rengganis. 2010. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Biesalski, H. K. 2007. Polyphenols and Inflammation: Basic Interactions. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. Vol. 10: 724-728.
- Brunton, Parker, Blumenthal, dan Buxton. 2008. *Goodman dan Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Calder, P. C. 2006. n-3 Polyunsaturated Fatty Acids, Inflammation, and Inflammatory Diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 83: 1505-1519.
- Chang, C., M. Yang, H. Wen, dan J. Chern. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug analysis*. Vol. 10(3): 178-182.
- Corsini, Paola, Viviani, Genovese, Mazzon, dan Lucchi. 2005. Increased Carrageenan-Induced Acute Lung Inflammation in Old Rats. *Immunology*. Vol. 115(2): 63-253.
- Cuzick, J., F. Otto, J. A. Baron, P. H. Brown, J. Burn, P. Greenwald, J. Janskowski, C. L. Vecchia, F. Meykens, H. J. Senn, dan M. Thun. 2009. Aspirin and Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Cancer Prevention: an International Consensus Statement. *Review Oncology*. Vol. 10: 501-507.
- Dannhardt, G. dan S. Laufer. 2000. Structural Approach To Explain The Selectivity of COX-2 Inhibitors: Is There A Common Pharmacophore. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 7: 1101-1112.

- Depkes RI. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dorland, W.A.N. 2002. *Kamus Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Elfahmi, H. J. Woerdenbag, dan O. Kayser. 2014. Jamu: Indonesia Traditional Herbal Medicine Toward Rational Phytopharmacological use. *Journal of Herbal Medicine*. Vol. 4(2): 51-73.
- Eming, S. A., T. Krieg, dan J. M. Davidson. 2007. Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*. Vol. 127: 514-525.
- Fajriani, Z. N. 2017. Uji Aktivitas Analgesik dengan Induksi Termal dan Asam Asetat serta Skrining Fitokimia dari Ekstrak Etanol 70% Batang Mentigi. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Fitriyani, A., L. Winarti, S. Muslichah, dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 16(1): 34-42.
- Feng, C., W. Wang, J. Ye, S. Li, Q. Wu, D. Yin, B. Li, Y. Xu, dan L. Wang. 2016. Polyphenol Profile and Antioxidant Activity of The Fruit and Leaf of *Vaccinium glaucoalbum* from The Tibetan Himalayas. *Food Chemistry*. 1-28.
- Hasnaeni, Sudarsono, A. Nurrochmad, dan S. Widyarini. 2016. Kajian Efek Anti Radang Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 5(2): 17-21.
- Hermawan, W. 2009. Aktifitas Antifidan Ekstrak Daun Cantigi (*Vaccinium varingieafolium* Bl.Miq) terhadap *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Jurnal Bionatura*. Vol. 11(2): 137-145.
- Hidayati, N. A., S. Listyawati, A. D. Setyawan. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara* L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi*. Vol. 5(1): 10-17.
- Ikawati, Z. 2006. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: UGM Press.
- Juckett, G. 2004. *Herbal Medicine in Modern Pharmacology with Clinical Application*. Edisi 6. Philadelphia: Oceana Publications Inc.
- Katno, P. S. 2007. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Obat Tawangmangu. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.

- Katzung, B. G. 2006. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 10. New York: McGraw-Hill.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan A. J. Trevor. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 11. New York: McGraw-Hill.
- Kim, H. P., H. S. Kun, H. W. Chang, dan S. S. Kang. 2004. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. Vol. 96: 229-245.
- Kumar, V., A. K. Abbas, dan J. C. Aster. 2012. *Robbins Basic Pathology*. Edisi 9. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Kurniasari, I. 2006. Metode Cepat Penentuan Flavonoid Total Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Berbasis Teknik Spektroskopi Inframerah dan Kemometrik. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Li, C., J. Feng, W. Huang, dan X. An. 2012. Composition of Polyphenols and Antioxidant Activity of Rabbiteye Blueberry (*Vaccinium ashei*) in Nanjing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 61: 523-531.
- Liufetto, A. 2010. Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Pada Mencit Jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Luo, H., X. Lu, G. Wang, Y. Li, H. Kurihara, dan R. He. 2014. Anti-inflammatory Effects of Anthocyanins-rich Extract from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) on Croton Oil-induced Ear Edema and Propionibacterium Acnes Plus LPS-induced Liver Damage in Mice. *International Journal of Food Science and Nutrition*. Vol. 65(5): 594-601.
- Miguel, M. G. 2011. Anthocyanins: Antioxidant and/or Anti-inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 1(6): 07-15.
- Morris, C. J. 2003. Carageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. *Methods in Molecular Biology, Inflammation Protocols*. Vol. 225: 115-121.
- Mycek, M.J., R. A. Harvey, dan P. C. Champe. 2000. Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology. 2nd Edition. Hagerstwon, Maryland, U.S.A.: Lippincott Williams and Wilkins. Terjemahan oleh A. Agoes. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi 2. Jakarta: Widya Medika.
- Nagulsamy, P., R. Ponnusamy, dan P. Thangaraj. 2015. Evaluation of Antioxidant, Anti-inflammatory, and Antiulcer Properties of *Vaccinium leschenaultii*

- Wight: A therapeutic supplement. *Journal of Food And Drug Analysis*. 1-11.
- Nijveldt, R. J., E. Nood, D. E. Hoorn, P. G. Boelens, K. Norren, P. A. Leeuwen. 2001. Flavonoids: A Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 74: 418-425.
- Ordenez, Gomez, Vattuone, Isla. 2006. Antioxidant Activities of *Sechium edule* Swart Extract. *Food Chemistry*. Vol. 97: 425-458.
- Pan, M., C. Lai, dan C. Ho. 2010. Anti-inflammatory Activity of Natural Dietary Flavonoids. *Food and Function*. Vol. 1: 15-31.
- Patel, J.M. 2008. A Review of Potential Health Benefit of Flavonoids. *Lethbridge Undergraduate Research Journal*. Vol. 3(2): 1-5.
- Permenkes RI. 2012. *Permenkes RI Nomor 007 tentang Registrasi Obat Tradisional*. Jakarta: Permenkes.
- Price, S., dan L. M. Wilson. 2006. *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Processes*. Edisi 6. Jakarta: EGC.
- Ramakrishna, A., dan G. A. Ravishankar. 2011. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. *Plant Signaling and Behavior*. Vol. 6(11): 1720-1731.
- Rao, P. N. P., dan E. Knaus. 2008. Evolutio of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *Journal Pharmacy Pharmaceutical Science*. Vol. 11(2): 81 – 110.
- Rathee, P., H. Chaudhary, S. Rathee, D. Rathee, V. Kumar, dan K. Kohli. 2009. Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review. *Inflammation & Allergy – Drug Targets*. Vol. 8: 229-235.
- Rhen, T. dan J. A. Cidlowski. 2005. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids- New Mechanisms for Old Drugs. *The New England Journal of Medicine*. Vol. 353(16): 1711-1723.
- Ricklin, D. dan J. D. Lambris. 2013. Complement in Immune and Inflammatory Disorders: Phatophysiological Mechanisms. *Journal of Immunology*. Vol. 190: 3831-3838.
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *Journal Indonesia Medical Association*. Vol. 63(3): 112-116.

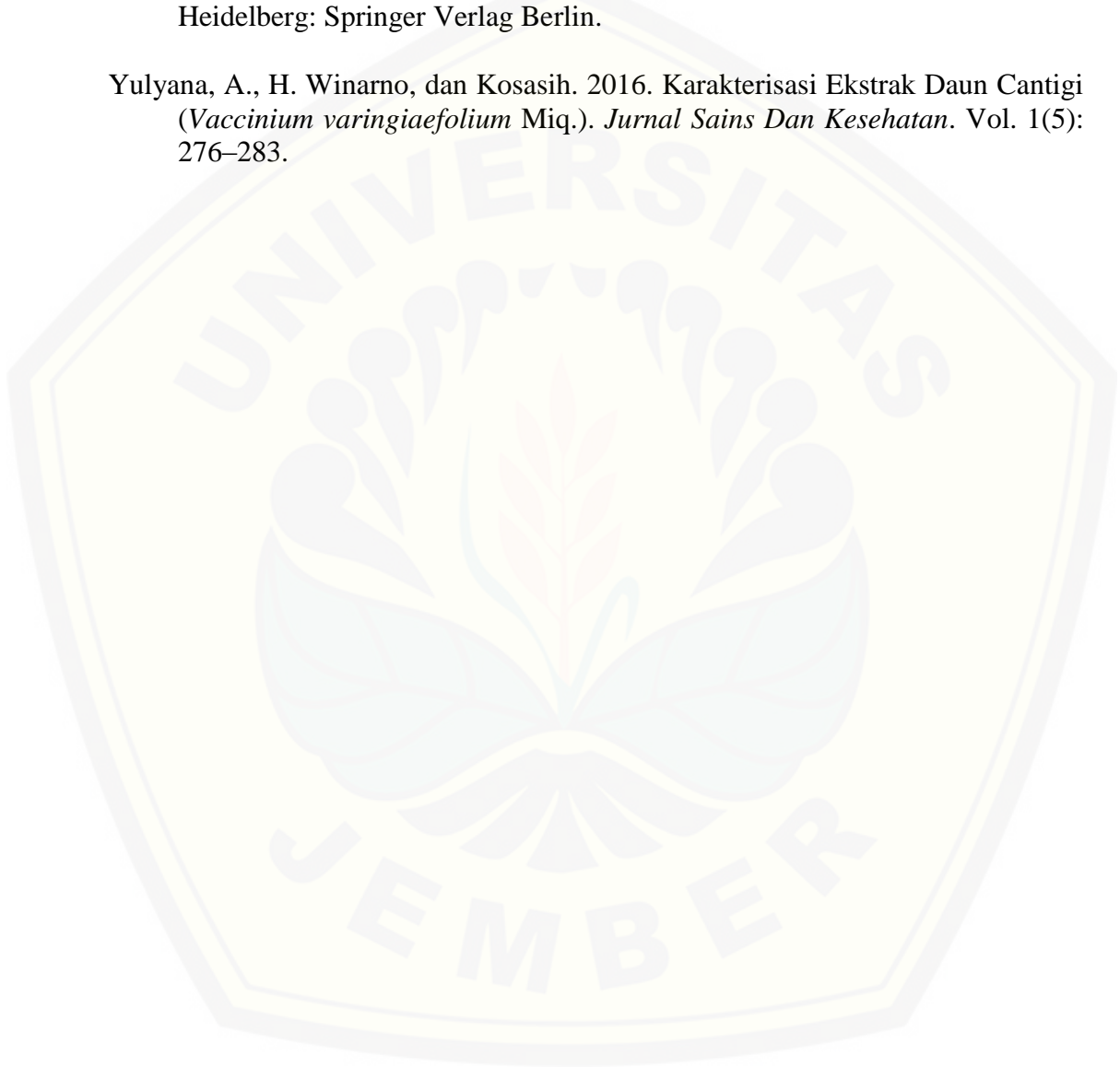
- Riskesdas. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Robbins, S. L., V. Kumar, dan R. S. Cotran. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Rowe, R.C., P. J. Sheskey, dan M. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Lexi-Comp: American Pharmaceutical Association, Inc.
- Sadiyah, E. R. dan R. A. Kodir. 2012. Studi Awal Kandungan Antosianin pada buah Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.) yang Berpotensi sebagai Suplemen Antioksidan. *Prosiding SNaPP2012: Sains, Teknologi, Dan Kesehatan*. Vol. 3(1): 95–100.
- Samad, N. B., T. Debnath, M. Ye, M. A. Hasnat, dan B. O. Lim. 2014. *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of Korean blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol 4(10): 807-815.
- Singh, A., S. Maholtra, dan R. Subban. 2008. Antiinflammatory and Analgesic Agents from Indian Medicinal Plants. *International Journal of Inegrative Biology*. Vol. 3(1): 57-72.
- Singh, S., dan G. Immanuel. 2014. Extraction of Antioxidants from Fruits Peels and Its Utilization in Paneer. *Journal Food Processing Technology*. Vol. 5(7): 1-5.
- Solikhah, A., F. A. Dian, dan D. Listyorini. 2017. Anatomy and Morphological Study of Mentigi Gunung (*Vaccinium varingiaefolium* (Blume) Miq.) in Area of Mount Batok-Indonesia. *Knowledge E Life Sciences*. Vol. 2017: 36-45.
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale The Complete Drug Reference*. Edisi 36. London: Pharmaceutical Press.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: EGC.
- Tursiman, P. A., dan R. Nofiani. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol. 1(1): 45-48
- Tjay, T. H., dan K. Rahardja. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi 6. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Torri, E., M. Lemos, V. Caliari, C. A. L. Kassuya, J. K. Bastos, dan S. F. Andrade. 2007. Anti-inflammatory and Antinociceptive Properties of Blueberry

Extract (*Vaccinium corymbosum*). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 591-596.

Veberic, R. 2016. The Impact of Production Technology on Plant Phenolics. *Horticulturae*. Vol. 2(3): 1-8.

Vogel, H.G. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. Heidelberg: Springer Verlag Berlin.

Yulyana, A., H. Winarno, dan Kosasih. 2016. Karakterisasi Ekstrak Daun Cantigi (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. Vol. 1(5): 276-283.



LAMPIRAN A PERHITUNGAN

A.1 Perhitungan Rendemen

Berat ekstrak yang diperoleh : 89,2 gram

Berat bahan yang diekstrak : 1000 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{89,2 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,92\% \end{aligned}$$

A.2 Perhitungan Berat Ekstrak

$$\text{Dosis} = \frac{\text{Berat ekstrak yang ditimbang}}{\text{Berat mencit}}$$

Perhitungan berat ekstrak pada masing-masing dosis yang diberikan pada mencit disesuaikan dengan berat badan mencit. Volume pemberian ekstrak etanol 70% batang mentigi adalah 0,2 ml/ 20 g BB. Setelah itu untuk perhitungan berat ekstrak yang akan ditimbang disesuaikan dengan volume larutan yang akan dibuat yaitu 10 ml.

1. Dosis 400 mg/kgBB

$$\frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 8 \text{ mg}$$

$$\frac{8 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 400 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 400 mg/kg BB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 400 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % b/v hingga homogen sampai 10 ml.

2. Dosis 800mg/kgBB

$$\frac{800 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 16 \text{ mg}$$

$$\frac{16 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 800 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 800 mg/kg BB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 800 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % b/v hingga homogen sampai 10 ml.

3. Dosis 1.200 mg/kgBB

$$\frac{1.200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 24 \text{ mg}$$

$$\frac{24 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 1.200 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 1.200 mg/kg BB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1.200 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % b/v hingga homogen sampai 10 ml.

Contoh perhitungan volume pemberian:

Volume pemberian per oral pada masing-masing mencit di sesuaikan dengan berat badan mencit. Volume pemberian per oral biasa diberikan 1% v/b (1 ml/100 g) sehingga didapatkan volume pemberian per oral untuk masing-masing mencit.

$$\frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{23,2 \text{ g}}$$

$$x = 0,232 \text{ ml}$$

Data volume pemberian per oral pada masing-masing mencit

| Kelompok | Mencit ke- | Berat badan (g) | Volume pemberian (ml) |
|--------------------|------------|-----------------|-----------------------|
| Kelompok Negatif | 1 | 23,2 | 0,232 |
| | 2 | 24 | 0,24 |
| | 3 | 22,6 | 0,226 |
| | 4 | 21,4 | 0,214 |
| | 5 | 22,1 | 0,221 |
| Kelompok Positif | 1 | 21 | 0,21 |
| | 2 | 23,7 | 0,237 |
| | 3 | 24,5 | 0,245 |
| | 4 | 21,6 | 0,216 |
| | 5 | 22 | 0,22 |
| Dosis 400 mg/kgBB | 1 | 24,2 | 0,242 |
| | 2 | 23,5 | 0,235 |
| | 3 | 22,8 | 0,228 |
| | 4 | 23 | 0,23 |
| | 5 | 22 | 0,22 |
| Dosis 800 mg/kBB | 1 | 23,4 | 0,234 |
| | 2 | 22,5 | 0,225 |
| | 3 | 21,4 | 0,214 |
| | 4 | 22,8 | 0,228 |
| | 5 | 21,5 | 0,215 |
| Dosis 1200 mg/kgBB | 1 | 21 | 0,21 |
| | 2 | 22,5 | 0,225 |
| | 3 | 21,8 | 0,218 |
| | 4 | 20,7 | 0,207 |
| | 5 | 23 | 0,23 |

A.3. Perhitungan dalam Pengujian Polifenol Total

a. Pembuatan larutan folin

Sebanyak 1 ml Folin diencerkan dengan akuades hingga 10 ml

b. Pembuatan Na_2CO_3

Sebanyak 7,5 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 ml akuades

c. Pembuatan larutan asam galat

Larutan induk yang digunakan 300 $\mu\text{g/ml}$

$$\frac{7,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{L}} = 300 \mu\text{g/ml}$$

Sebanyak 7,5 mg asam galat dilarutkan dalam 25 ml akuades sehingga didapatkan konsentrasi 300 $\mu\text{g/ml}$.

Larutan baku

$$\frac{1,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 300 \mu\text{g/ml} = 90 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 300 \mu\text{g/ml} = 120 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 300 \mu\text{g/ml} = 150 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{3 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 300 \mu\text{g/ml} = 180 \mu\text{g/ml}$$

d. Pembuatan ekstrak uji

$$\frac{7,5 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 1500 \mu\text{g/ml}$$

Sebanyak 7,5 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml akuades sehingga didapatkan konsentrasi 1500 $\mu\text{g/ml}$. Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

e. Pembuatan blanko negatif

0,5 ml akuades dan 5 ml Folin didiamkan selama 5 menit dalam vial kemudian ditambah 4 ml Na_2CO_3 dikocok 15 detik, didiamkan selama 30 menit.

f. Perhitungan kadar polifenol total

| Sampel | Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbansi standar asam galat | | | Absorbansi rata-rata | SD |
|---------|-------------------------------------|-------------------------------|-----------|-----------|-------------------------|-------|
| | | Replikasi | Replikasi | Replikasi | | |
| | | 1 | 2 | 3 | | |
| | 90 | 0,440 | 0,441 | 0,442 | 0,441 | 0,001 |
| Asam | 120 | 0,569 | 0,571 | 0,573 | 0,571 | 0,002 |
| Galat | 150 | 0,740 | 0,745 | 0,741 | 0,742 | 0,003 |
| | 180 | 0,844 | 0,846 | 0,845 | 0,845 | 0,001 |
| Ekstrak | 1500 | 0,672 | 0,680 | 0,682 | 0,678 | 0,005 |

Persamaan kurva standar yang diperoleh yaitu $y = 0,005x + 0,027$ dengan $r = 0,996$. Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kadar polifenol total larutan sampel ekstrak batang mentigi ekuivalen asam galat

dengan menghitung nilai x. Absorbansi sampel ekstrak batang mentigi dimasukkan ke y. Contoh perhitungan sebagai berikut:

$$y = 0,005x + 0,027$$

$$0,672 = 0,005x + 0,027$$

$$x = 129 \mu\text{g GAE/ml}$$

dari nilai x ini dapat dihitung kadar polifenol total per berat ekstrak batang mentigi dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Kadar polifenol total} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 129 \mu\text{g GAE/ml} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0075 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 86.000 \mu\text{g GAE/ g ekstrak}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 86 \text{ mg GAE/ g ekstrak}$$

g. Perhitungan standar deviasi

$$SD = \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}}$$

Keterangan : a,b = kadar polifenol total ekstrak mentigi

x = kadar rata-rata polifenol total ekstrak mentigi

n = banyaknya data

Contoh :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{(86-86,8)^2 + (87,067-86,8)^2 + (87,333-86,8)^2}{3-1}} \\ &= 0,790 \end{aligned}$$

A.4 Perhitungan Dalam Pengujian Flavonoid Total

a. Pembuatan larutan AlCl_3

AlCl_3 2 gram ad 100 ml etanol pa

b. Pembuatan larutan standar kuersetin

Larutan induk yang digunakan 100 $\mu\text{g/ml}$

$$\frac{2,5 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000 \frac{\text{ml}}{\text{L}} = 100 \mu\text{g/ml}$$

Sebanyak 2,5 mg kuersetin dilarutkan dalam 25 ml etanol pa sehingga didapatkan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$.

Larutan baku

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 15 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 20 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2,5 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ } \mu\text{g/ml} = 25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

c. Pembuatan ekstrak uji

$$\frac{3,5 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \times 1000 = 7000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Sebanyak 3,5 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml etanol pa sehingga didapatkan kosentrasi 7000 $\mu\text{g/ml}$. Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

d. Pembuatan blanko negatif

1 ml etanol pa dan 1 ml AlCl_3 dimasukkan dalam vial ditunggu 60 menit.

e. Perhitungan kadar flavonoid total

| Sampel | Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbansi standar kuersetin | | | Absorbansi rata-rata | SD |
|-----------|-------------------------------------|------------------------------|-----------|-----------|-------------------------|-------|
| | | Replikasi | Replikasi | Replikasi | | |
| | | 1 | 2 | 3 | | |
| Kuersetin | 10 | 0,284 | 0,287 | 0,290 | 0,287 | 0,003 |
| | 15 | 0,427 | 0,433 | 0,430 | 0,430 | 0,003 |
| | 20 | 0,547 | 0,550 | 0,553 | 0,550 | 0,003 |
| | 25 | 0,644 | 0,650 | 0,653 | 0,649 | 0,005 |
| Ekstrak | 7000 | 0,507 | 0,509 | 0,511 | 0,503 | 0,008 |

Persamaan kurva standar yang diperoleh yaitu $y = 0,024x + 0,057$ dengan $r = 0,997$. Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kandungan flavonoid total larutan sampel ekstrak batang mentigi ekivalen asam galat dengan menghitung nilai x. Absorbansi sampel ekstrak batang mentigi dimasukkan ke y. Contoh perhitungan sebagai berikut:

$$y = 0,024x + 0,057$$

$$0,507 = 0,024x + 0,057$$

$$x = 18,75 \text{ } \mu\text{g QE/ml}$$

dari nilai x ini dapat dihitung kadar polifenol total per berat ekstrak batang mentigi dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Kadar polifenol total} = \text{konsentrasi ekstrak} \times \frac{\text{volume larutan}}{\text{berat ekstrak}}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 18,75 \mu\text{g GAE/ml} \times \frac{5 \text{ ml}}{0,0035 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 26.785,714 \mu\text{g GAE/ g ekstrak}$$

$$\text{Kadar polifenol total} = 26,786 \text{ mg GAE/ g ekstrak}$$

f. Perhitungan standar deviasi

$$SD = \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}}$$

Keterangan : a,b = kadar flavonoid total ekstrak mentigi

x = kadar rata-rata flavonoid total ekstrak mentigi

n = banyaknya data

Contoh :

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{(26,786-26,905)^2 + (26,905-26,905)^2 + (27,024-26,905)^2}{3-1}} \\ &= 0,119 \end{aligned}$$

LAMPIRAN B**SCANNING PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM****B.1 Scanning Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat**Tabel B.1 Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum asam galat

| Konsentrasi (ppm) | Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi |
|-------------------|------------------------|------------|
| 60 | 762 | 0,136 |
| 70 | 760 | 0,197 |
| 80 | 758 | 0,265 |
| 90 | 758 | 0,375 |

B.2 Scanning Panjang Gelombang Maksimum KuersetinTabel B.2 Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum kuersetin

| Konsentrasi (ppm) | Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi |
|-------------------|------------------------|------------|
| 10 | 432 | 0,213 |
| 15 | 428 | 0,439 |
| 20 | 438 | 0,591 |
| 25 | 438 | 0,718 |

LAMPIRAN C
HASIL OPTIMASI WAKTU INKUBASI

C.1 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Polifenol Total

Tabel C.1 Hasil optimasi waktu inkubasi pengujian polifenol total

| Waktu (menit) | Absorbansi | | | Rata-rata absorbansi |
|---------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|
| | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | |
| 5 | 0,587 | 0,588 | 0,589 | 0,588 |
| 10 | 0,590 | 0,591 | 0,592 | 0,591 |
| 15 | 0,593 | 0,594 | 0,595 | 0,594 |
| 20 | 0,597 | 0,598 | 0,599 | 0,598 |
| 25 | 0,600 | 0,601 | 0,602 | 0,601 |
| 30 | 0,603 | 0,605 | 0,606 | 0,605 |
| 35 | 0,605 | 0,606 | 0,607 | 0,606 |
| 40 | 0,607 | 0,607 | 0,606 | 0,607 |

C2. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Flavonoid Total

Tabel C.2 Hasil optimasi waktu inkubasi pengujian flavonoid total

| Waktu (menit) | Absorbansi | | | Rata-rata absorbansi |
|---------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|
| | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | |
| 10 | 0,771 | 0,772 | 0,773 | 0,772 |
| 20 | 0,774 | 0,775 | 0,776 | 0,775 |
| 30 | 0,777 | 0,778 | 0,779 | 0,778 |
| 40 | 0,780 | 0,781 | 0,782 | 0,781 |
| 50 | 0,783 | 0,784 | 0,785 | 0,784 |
| 60 | 0,786 | 0,787 | 0,788 | 0,787 |
| 70 | 0,788 | 0,789 | 0,790 | 0,789 |
| 80 | 0,789 | 0,790 | 0,791 | 0,790 |

LAMPIRAN D**DATA ANALISIS KANDUNGAN POLIFENOL TOTAL****D.1 Hasil Analisis Larutan Standar Asam Galat**

Tabel D.1 Hasil analisis kandungan polifenol total standar asam galat

| Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbansi standar asam galat | | | Absorbansi rata-rata \pm SD |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------|-------------|----------------------------------|
| | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | |
| 90 | 0,440 | 0,441 | 0,442 | 0,441 \pm 0,001 |
| 120 | 0,569 | 0,571 | 0,573 | 0,571 \pm 0,002 |
| 150 | 0,740 | 0,745 | 0,741 | 0,742 \pm 0,003 |
| 180 | 0,844 | 0,846 | 0,845 | 0,845 \pm 0,001 |

D.2 Hasil Analisis Larutan Sampel

Tabel D.2 Hasil analisis kandungan polifenol total ekstrak

| Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Replikasi | Absorbansi | Kadar polifenol total (mg GAE/g ekstrak) | Rata-rata kadar polifenol total (mg GAE/g ekstrak) \pm SD |
|-------------------------------------|-----------|------------|--|---|
| 1500 | 1 | 0,672 | 86 | 86,8 \pm 0,790 |
| | 2 | 0,680 | 87,067 | |
| | 3 | 0,682 | 87,333 | |

LAMPIRAN E
DATA ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL

E.1 Hasil Analisis Larutan Standar Kuersetin

Tabel E.1 Hasil analisis kandungan flavonoid total standar kuersetin

| Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Absorbansi standar asam galat | | | Absorbansi rata-rata \pm SD |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------|-------------|----------------------------------|
| | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | |
| 10 | 0,284 | 0,287 | 0,290 | 0,287 \pm 0,003 |
| 15 | 0,427 | 0,433 | 0,430 | 0,430 \pm 0,003 |
| 20 | 0,547 | 0,550 | 0,553 | 0,550 \pm 0,003 |
| 25 | 0,644 | 0,650 | 0,653 | 0,649 \pm 0,005 |

E.2 Hasil Analisis Larutan Sampel

Tabel E.2 Hasil analisis kandungan flavonoid total ekstrak

| Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Replikasi | Absorbansi | Kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak) | Rata-rata kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak) \pm SD |
|-------------------------------------|-----------|------------|---|--|
| 7000 | 1 | 0,507 | 26,786 | 26,905 \pm 0,119 |
| | 2 | 0,509 | 26,905 | |
| | 3 | 0,511 | 27,024 | |

LAMPIRAN F
DATA TEBAL PLANTAR MENCIT DAN NILAI AUC

| Kelompok | Mencit ke- | Waktu (jam) | | | | | | | % Radang |
|---------------------|----------------|-------------|------|------|------|------|------|-------|----------------|
| | | 0 | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kelompok Negatif | 1 | 0,215 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,34 | 0,33 | 53,489 |
| | 2 | 0,205 | 0,32 | 0,33 | 0,36 | 0,35 | 0,34 | 0,33 | 60,976 |
| | 3 | 0,2 | 0,33 | 0,33 | 0,36 | 0,35 | 0,33 | 0,32 | 60 |
| | 4 | 0,2 | 0,34 | 0,34 | 0,35 | 0,36 | 0,33 | 0,31 | 55 |
| | 5 | 0,21 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,34 | 0,33 | 57,143 |
| | Rata-rata ± SD | | | | | | | | 57,322 ± 3,240 |
| Kelompok Positif | 1 | 0,225 | 0,31 | 0,32 | 0,33 | 0,31 | 0,3 | 0,28 | 24,444 |
| | 2 | 0,225 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,31 | 0,3 | 0,27 | 20 |
| | 3 | 0,23 | 0,33 | 0,32 | 0,33 | 0,3 | 0,3 | 0,29 | 26,087 |
| | 4 | 0,22 | 0,32 | 0,33 | 0,33 | 0,32 | 0,29 | 0,27 | 22,727 |
| | 5 | 0,22 | 0,31 | 0,32 | 0,33 | 0,31 | 0,29 | 0,28 | 27,273 |
| | Rata-rata ± SD | | | | | | | | 24,106 ± 2,650 |
| Dosis 400 mg/kgBB | 1 | 0,225 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,34 | 0,32 | 0,3 | 33,333 |
| | 2 | 0,225 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,33 | 0,32 | 0,3 | 33,333 |
| | 3 | 0,215 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,34 | 0,32 | 0,3 | 39,535 |
| | 4 | 0,2 | 0,32 | 0,34 | 0,36 | 0,34 | 0,32 | 0,29 | 45 |
| | 5 | 0,2 | 0,32 | 0,34 | 0,36 | 0,34 | 0,32 | 0,29 | 45 |
| | Rata-rata ± SD | | | | | | | | 39,240 ± 5,836 |
| Dosis 800 mg/kgBB | 1 | 0,21 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,33 | 0,32 | 0,275 | 30,952 |
| | 2 | 0,205 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,34 | 0,32 | 0,28 | 36,585 |
| | 3 | 0,225 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,33 | 0,31 | 0,29 | 28,889 |
| | 4 | 0,22 | 0,34 | 0,35 | 0,35 | 0,34 | 0,31 | 0,3 | 36,364 |
| | 5 | 0,21 | 0,33 | 0,34 | 0,35 | 0,33 | 0,32 | 0,28 | 33,333 |
| | Rata-rata ± SD | | | | | | | | 33,225 ± 3,359 |
| Dosis 1.200 mg/kgBB | 1 | 0,23 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,31 | 0,29 | 0,29 | 26,087 |
| | 2 | 0,225 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,31 | 0,29 | 0,29 | 28,889 |
| | 3 | 0,23 | 0,31 | 0,32 | 0,33 | 0,31 | 0,3 | 0,28 | 21,739 |
| | 4 | 0,23 | 0,32 | 0,32 | 0,32 | 0,31 | 0,3 | 0,3 | 30,435 |
| | 5 | 0,21 | 0,31 | 0,32 | 0,33 | 0,32 | 0,29 | 0,27 | 28,571 |
| | Rata-rata ± SD | | | | | | | | 27,144 ± 3,400 |

| Kelompok | Mencit ke- | Nilai AUC (mm.jam) | Rata-rata nilai AUC | % Daya Antiinflamasi |
|---------------------|------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| Kontrol Negatif | 1 | 1,678 | 1,674 ± 0,004 | - |
| | 2 | 1,674 | | |
| | 3 | 1,67 | | |
| | 4 | 1,67 | | |
| | 5 | 1,678 | | |
| Kontrol Positif | 1 | 1,531 | 1,531 ± 0,007 | 8,542 |
| | 2 | 1,529 | | |
| | 3 | 1,538 | | |
| | 4 | 1,538 | | |
| | 5 | 1,52 | | |
| Dosis 400 mg/kgBB | 1 | 1,636 | 1,634 ± 0,004 | 2,405 |
| | 2 | 1,639 | | |
| | 3 | 1,634 | | |
| | 4 | 1,63 | | |
| | 5 | 1,63 | | |
| Dosis 800 mg/kgBB | 1 | 1,61 | 1,621 ± 0,011 | 3,166 |
| | 2 | 1,621 | | |
| | 3 | 1,624 | | |
| | 4 | 1,638 | | |
| | 5 | 1,613 | | |
| Dosis 1.200 mg/kgBB | 1 | 1,53 | 1,530 ± 0,006 | 8,587 |
| | 2 | 1,529 | | |
| | 3 | 1,533 | | |
| | 4 | 1,538 | | |
| | 5 | 1,523 | | |

Contoh perhitungan % Radang:

$$\% \text{ radang} = \frac{Tt - T_0}{T_0} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ radang} &= \frac{0,33 - 0,215}{0,215} \times 100\% \\ &= 53,489 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

T₀ = tebal plantar mencit sebelum di induksi karagenan

T_t = tebal plantar mencit setelah di induksi karagenan (waktu 5 jam)

Contoh perhitungan AUC:

$$\begin{aligned}
 AUC_{0-5} &= \frac{T_0 + T_{0,5}}{2} (T_{0,5} - T_0) + \frac{T_{0,5} + T_1}{2} (T_1 - T_{0,5}) + \frac{T_1 + T_2}{2} (T_2 \\
 &\quad - T_1) + \frac{T_2 + T_3}{2} (T_3 - T_2) + \frac{T_3 + T_4}{2} (T_4 - T_3) \\
 &\quad + \frac{T_4 + T_5}{2} (T_5 - T_4) \\
 AUC_{0-5} &= \frac{0,215 + 0,33}{2} (0,33 - 0,215) + \frac{0,33 + 0,34}{2} (0,34 - 0,33) \\
 &\quad + \frac{0,34 + 0,35}{2} (0,35 - 0,34) + \frac{0,35 + 0,35}{2} (0,35 - 0,35) \\
 &\quad + \frac{0,35 + 0,34}{2} (0,34 - 0,35) + \frac{0,34 + 0,33}{2} (0,33 - 0,34) \\
 &= 1,678 \text{ mm.jam}
 \end{aligned}$$

Contoh perhitungan % daya antiinflamasi:

$$\% \text{ daya antiinflamasi} = \frac{AUC_{kontrol} - AUC_{perlakuan}}{AUC_{kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ daya antiinflamasi} &= \frac{1,674 - 1,531}{1,674} \times 100\% \\
 &= 8,542 \%
 \end{aligned}$$

Keterangan :

AUC kontrol = AUC kontrol negatif

AUC perlakuan = AUC dengan perlakuan senyawa uji

LAMPIRAN G
ANALISIS DATA STATISTIK

G.1 Analisis one way ANOVA % Radang Mencit

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

| perlakuan | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| hasil kontrol negatif | .200 | 5 | .200 [*] | .941 | 5 | .671 |
| kontrol positif | .156 | 5 | .200 [*] | .970 | 5 | .878 |
| Dosis 400 mg/kgBB | .231 | 5 | .200 [*] | .874 | 5 | .285 |
| Dosis 800 mg/kgBB | .280 | 5 | .200 [*] | .892 | 5 | .366 |
| Dosis 1200 mg/kgBB | .263 | 5 | .200 [*] | .901 | 5 | .416 |

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

hasil

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.187 | 4 | 20 | .107 |

ANOVA

hasil

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 3416.114 | 4 | 854.028 | 49.921 | .000 |
| Within Groups | 342.154 | 20 | 17.108 | | |
| Total | 3758.268 | 24 | | | |

c. Hasil uji LSD

Multiple Comparisons

hasil LSD

| (I) perlakuan | (J) perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol negatif | kontrol positif | 33.21800 [*] | 2.61593 | .000 | 27.7613 | 38.6747 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | 18.56000 [*] | 2.61593 | .000 | 13.1033 | 24.0167 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | 22.66800 [*] | 2.61593 | .000 | 17.2113 | 28.1247 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | 30.17800 [*] | 2.61593 | .000 | 24.7213 | 35.6347 |
| kontrol positif | kontrol negatif | -33.21800 [*] | 2.61593 | .000 | -38.6747 | -27.7613 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -14.65800 [*] | 2.61593 | .000 | -20.1147 | -9.2013 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -10.55000 [*] | 2.61593 | .001 | -16.0067 | -5.0933 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | -3.04000 | 2.61593 | .259 | -8.4967 | 2.4167 |
| Dosis 400 mg/kgBB | kontrol negatif | -18.56000 [*] | 2.61593 | .000 | -24.0167 | -13.1033 |
| | kontrol positif | 14.65800 [*] | 2.61593 | .000 | 9.2013 | 20.1147 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | 4.10800 | 2.61593 | .132 | -1.3487 | 9.5647 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | 11.61800 [*] | 2.61593 | .000 | 6.1613 | 17.0747 |
| Dosis 800 mg/kgBB | kontrol negatif | -22.66800 [*] | 2.61593 | .000 | -28.1247 | -17.2113 |
| | kontrol positif | 10.55000 [*] | 2.61593 | .001 | 5.0933 | 16.0067 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -4.10800 | 2.61593 | .132 | -9.5647 | 1.3487 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | 7.51000 [*] | 2.61593 | .009 | 2.0533 | 12.9667 |
| Dosis 1200 mg/kgBB | kontrol negatif | -30.17800 [*] | 2.61593 | .000 | -35.6347 | -24.7213 |
| | kontrol positif | 3.04000 | 2.61593 | .259 | -2.4167 | 8.4967 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -11.61800 [*] | 2.61593 | .000 | -17.0747 | -6.1613 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -7.51000 [*] | 2.61593 | .009 | -12.9667 | -2.0533 |

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

G.2 Analisis one way ANOVA nilai AUC

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

| perlakuan | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|--------------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| auc | kontrol negatif | .216 | 5 | .200 [*] | .852 | 5 | .201 |
| | kontrol positif | .219 | 5 | .200 [*] | .897 | 5 | .393 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | .235 | 5 | .200 [*] | .908 | 5 | .455 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | .199 | 5 | .200 [*] | .937 | 5 | .642 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .186 | 5 | .200 [*] | .987 | 5 | .966 |

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

| Test of Homogeneity of Variances | | | |
|----------------------------------|-----|-----|------|
| auc | | | |
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| .886 | 4 | 20 | .490 |

ANOVA

auc

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | .085 | 4 | .021 | 372.631 | .000 |
| Within Groups | .001 | 20 | .000 | | |
| Total | .086 | 24 | | | |

c. Hasil uji LSD

Multiple Comparisons

auc
LSD

| (I) perlakuan | (J) perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| kontrol negatif | kontrol positif | .145000' | .004767 | .000 | .13506 | .15494 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | .042400' | .004767 | .000 | .03246 | .05234 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | .055000' | .004767 | .000 | .04506 | .06494 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .145600' | .004767 | .000 | .13566 | .15554 |
| kontrol positif | kontrol negatif | -.145000' | .004767 | .000 | -.15494 | -.13506 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -.102600' | .004767 | .000 | -.11254 | -.09266 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -.090000' | .004767 | .000 | -.09994 | -.08006 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .000600 | .004767 | .901 | -.00934 | .01054 |
| Dosis 400 mg/kgBB | kontrol negatif | -.042400' | .004767 | .000 | -.05234 | -.03246 |
| | kontrol positif | .102600' | .004767 | .000 | .09266 | .11254 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | .012600' | .004767 | .016 | .00266 | .02254 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .103200' | .004767 | .000 | .09326 | .11314 |
| Dosis 800 mg/kgBB | kontrol negatif | -.055000' | .004767 | .000 | -.06494 | -.04506 |
| | kontrol positif | .090000' | .004767 | .000 | .08006 | .09994 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -.012600' | .004767 | .016 | -.02254 | -.00266 |
| | Dosis 1200 mg/kgBB | .090600' | .004767 | .000 | .08066 | .10054 |
| Dosis 1200 mg/kgBB | kontrol negatif | -.145600' | .004767 | .000 | -.15554 | -.13566 |
| | kontrol positif | -.000600 | .004767 | .901 | -.01054 | .00934 |
| | Dosis 400 mg/kgBB | -.103200' | .004767 | .000 | -.11314 | -.09326 |
| | Dosis 800 mg/kgBB | -.090600' | .004767 | .000 | -.10054 | -.08066 |

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

G.3 Analisis uji t tidak berpasangan waktu inkubasi penetapan kadar polifenol total

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

| waktu | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | | |
|------------|---------------------------------|------|------|--------------|-------|------|-------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| absorbansi | 5 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 10 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 15 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 20 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 25 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 30 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 35 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| | 40 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

| absorbansi | | | |
|------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| .727 | 11 | 24 | .703 |

ANOVA

absorbansi

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | .002 | 11 | .000 | 192.518 | .000 |
| Within Groups | .000 | 24 | .000 | | |
| Total | .002 | 35 | | | |

c. Hasil uji t tidak berpasangan

Waktu 5 dan 10 menit

Group Statistics

| waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 5 menit | .58800 | .001000 | .000577 |
| | 10 menit | .59100 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 10 dan 15 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 10 menit | 3 | .59100 | .001000 | .000577 |
| | 15 menit | 3 | .59400 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 15 dan 20 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 15 menit | 3 | .59400 | .001000 | .000577 |
| | 20 menit | 3 | .59800 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -4.899 | 4 | .008 | -.004000 | .000816 | -.006267 | -.001733 |
| | Equal variances not assumed | | | -4.899 | 4.000 | .008 | -.004000 | .000816 | -.006267 | -.001733 |

Waktu 20 dan 25 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 20 menit | 3 | .59800 | .001000 | .000577 |
| | 25 menit | 3 | .60100 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 25 dan 30 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 25 menit | 3 | .60100 | .001000 | .000577 |
| | 30 menit | 3 | .60400 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 30 dan 35 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 30 menit | 3 | .60400 | .001000 | .000577 |
| | 35 menit | 3 | .60600 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -2.449 | 4 | .070 | -.002000 | .000816 | -.004267 | .000267 |
| | Equal variances not assumed | | | -2.449 | 4.000 | .070 | -.002000 | .000816 | -.004267 | .000267 |

Waktu 35 dan 40 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 35 menit | 3 | .60600 | .001000 | .000577 |
| | 40 menit | 3 | .60700 | .000000 | .000000 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | 4.000 | .116 | -1.732 | 4 | .158 | -.001000 | .000577 | -.002603 | .000603 |
| | Equal variances not assumed | | | -1.732 | 2.000 | .225 | -.001000 | .000577 | -.003484 | .001484 |

G.4 Analisis uji t tidak berpasangan waktu inkubasi penetapan kadar flavonoid total

a. Uji Normalitas

Tests of Normality

| waktu | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| absorbansi 10 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 20 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 30 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 40 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 50 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 60 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 70 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |
| absorbansi 80 menit | .175 | 3 | . | 1.000 | 3 | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Homogenitas dan ANOVA Satu Arah

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|-------|
| .000 | 11 | 24 | 1.000 |

ANOVA

absorbansi

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | .002 | 11 | .000 | 215.091 | .000 |
| Within Groups | .000 | 24 | .000 | | |
| Total | .002 | 35 | | | |

c. Hasil uji t tidak berpasangan

Waktu 10 dan 20 menit

Group Statistics

| waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---------------------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi 10 menit | 3 | .77200 | .001000 | .000577 |
| 20 menit | 3 | .77500 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | | |
| | | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |

Waktu 20 dan 30 menit

Group Statistics

| waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---------------------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi 20 menit | 3 | .77500 | .001000 | .000577 |
| 30 menit | 3 | .77800 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | | |
| | | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |

Waktu 30 dan 40 menit

Group Statistics

| waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---------------------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi 30 menit | 3 | .77800 | .001000 | .000577 |
| 40 menit | 3 | .78100 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | | |
| | | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | | -.005267 | -.000733 |

Waktu 40 dan 50 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 40 menit | 3 | .78100 | .001000 | .000577 |
| | 50 menit | 3 | .78400 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 50 dan 60 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 50 menit | 3 | .78400 | .001000 | .000577 |
| | 60 menit | 3 | .78700 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -3.674 | 4 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |
| | Equal variances not assumed | | | -3.674 | 4.000 | .021 | -.003000 | .000816 | -.005267 | -.000733 |

Waktu 60 dan 70 menit

Group Statistics

| | waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------|----------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi | 60 menit | 3 | .78700 | .001000 | .000577 |
| | 70 menit | 3 | .78900 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -2.449 | 4 | .070 | -.002000 | .000816 | -.004267 | .000267 |
| | Equal variances not assumed | | | -2.449 | 4.000 | .070 | -.002000 | .000816 | -.004267 | .000267 |

Waktu 70 dan 80 menit

Group Statistics

| waktu | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---------------------|---|--------|----------------|-----------------|
| absorbansi 70 menit | 3 | .78900 | .001000 | .000577 |
| 80 menit | 3 | .79000 | .001000 | .000577 |

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|------------|-----------------------------|---|-------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| absorbansi | Equal variances assumed | .000 | 1.000 | -1.225 | 4 | .288 | -.001000 | .000816 | -.003267 | .001267 |
| | Equal variances not assumed | | | -1.225 | 4.000 | .288 | -.001000 | .000816 | -.003267 | .001267 |



LAMPIRAN H
DOKUMENTASI



Tanaman mentigi



Simplisia batang mentigi



Ekstrak batang mentigi



Pengukuran tebal plantar mencit

LAMPIRAN I

HASIL DETERMINASI DAN KOMISI ETIK PENELITIAN

I.1 Hasil Determinasi Tanaman Mentigi

| | | |
|--|--|---|
|  LIPI | <p align="center">LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI</p> <p align="center">Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 website : http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</p> |  |
| <u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI</u> | | |
| No. 0976/IPH.6/HM/VI/2016 | | |
| Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh : | | |
| <u>Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt, NIDN : 0012078401</u> | | |
| Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 01 Juni 2016 , berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965 , halaman 183 nama ilmiahnya adalah : | | |
| Genus | : <i>Vaccinium</i> | |
| Species | : <i>Vaccinium varingaefolium</i> (Bl.) Miq. | |
| Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII, klasifikasinya adalah sebagai berikut : | | |
| Divisio | : <i>Magnoliophyta</i> | |
| Sub-divisio | : <i>Magnoliopsida</i> | |
| Subclass | : <i>Dilleniidae</i> | |
| Ordo | : <i>Ericales</i> | |
| Family | : <i>Ericaceae</i> | |
| Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya. | | |
| Purwodadi, 7 Juni 2016 An. Kepala Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan | | |
|  | | |
| Deden Mudiana, S.Hut, M.Si | | |

I.2 Komisi Etik Penelitian

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN**

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL
Nomor : 893 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGEMBANGAN METIGI (*Vaccinium varingaefolium*) SEBAGAI SALAH SATU TUMBUHAN SUKU TENGGER YANG DIGUNAKAN UNTUK JAMU PEGAL LINU

Nama Peneliti Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.
Name of the principal investigator

NIP : 198407122008122002

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 02 Agustus 2016

 Yanti, Sp.PK