

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN OBAT ANTI RADANG
ANTARA NIMESULIDE DENGAN ASAM MEFENAMAT TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR NEUTROFIL (PMN)
DARAH TEPI PADA RESPON RADANG LUKA GORES**
Penelitian Eksperimental Laboratoris

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Asal :	Hadiah	Klass
	Pembelian	617.632
No. Induk :		KHA
Pengkatalog :	<i>jay</i>	P

Pembimbing :

drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM (DPU)
drg. Winny Andriatmoko, M.Kes. (DPA)

Disusun Oleh :

IKHRAM KHARIS
001610101006

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN OBAT ANTI RADANG
ANTARA NIMESULIDE DENGAN ASAM MEFENAMAT TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR NEUTROFIL (PMN)
DARAH TEPI PADA RESPON RADANG LUKA GORES
Penelitian Eksperimental Laboratoris**

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Pembimbing :

drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM (DPU)

drg. Winny Adriatmoko, M.Kes. (DPA)

Disusun oleh:

IKHRAM KHARIS

001610101006

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN OBAT ANTI RADANG
ANTARA NIMESULIDE DENGAN ASAM MEFENAMAT TERHADAP
JUMLAH LEUKOSIT POLIMORFONUKLEAR NEUTROFIL (PMN)
DARAH TEPI PADA RESPON RADANG LUKA GORES**
Penelitian Eksperimental Laboratoris

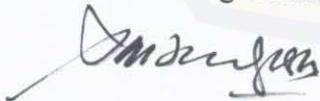
**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh:

Ikhran Kharis
NIM.001610101006

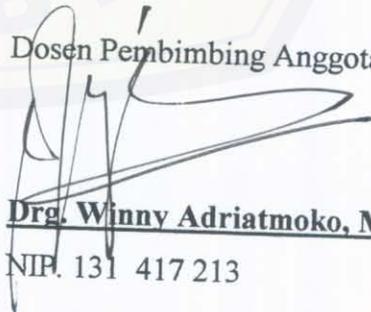
Dosen Pembimbing Utama



Drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM

NIP. 140 146 683

Dosen Pembimbing Anggota



Drg. Winny Adriatmoko, M.Kes.

NIP. 131 417 213

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

Diterima Oleh:

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Sabtu

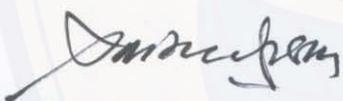
Tanggal : 11 Juni 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji,

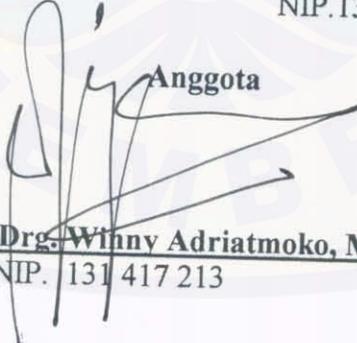
Ketua

Sekretaris


Drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM
NIP. 140 146 683


Drg. Abdul Rochim, Mkes, MMR
NIP. 131 692 724

Anggota

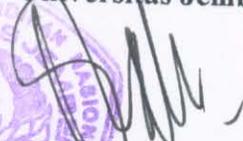

Drg. Winny Adriatmoko, M.Kes
NIP. 131 417 213

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran gigi

Universitas Jember




Drg. Zahrenj Hamzah, M. S.
NIP. 131 558 576

MOTTO

"Sesungguhnya Allah sekali-kali tidak akan merubah sesuatu yang telah dianugerahkan-Nya kepada suatu kaum, hingga kaum itu mengubah apa yang ada pada diri mereka sendiri."

(QS. AL-ANFAAL: 53)

"Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti kami akan menambah (nikmat) kepadamu, dan jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azab-Ku sangat pedih"

(QS. IBRAHIM : 7)

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini kepada:

- ◆ *Kedua orang tuaku: Ayahanda (Drs. Masaa Badje) dan Ibunda (Hj. Darmina) yang tiada hentinya memberikan cinta, kasih sayang, dorongan semangat, nasihat dan segala pengorbanan mereka yang tidak terkirakan, serta senantiasa mengiringi langkahku dengan doa dan harapan.*
- ◆ *Kakakku Aqib Ahmad Malik, serta Adikku tercinta Jalaluddin Akbar,*
- ◆ *Guru-guruku, Almamaterku yang senantiasa kujunjung tinggi, Agama, Bangsa dan Negaraku tercinta.*



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Perbedaan Pengaruh Pemberian Obat Anti Inflamasi Antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat Terhadap Jumlah Leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN) Darah Tepi Pada Respon Radang Luka Gores” dapat terselesaikannya dengan baik. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil penelitian eksperimental laboratoris pada mencit jantan Strain Balb/C.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan berkat bantuan, dukungan dan bimbingan dari semua pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. drg. Zahreni Hamzah, M.S. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes. Selaku Pembantu Dekan Urusan Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,
3. drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) beserta drg. Winny Adriatmoko, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan, arahan dan petunjuk dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini,
4. drg. Abdul Rochim, Mkes, MMR,selaku sekretaris penguji, terimakasih atas bimbingan dan petunjuknya demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini,
5. Mas Agus dan mbak Wahyu selaku staf BIOMEDIK yang telah banyak membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini,
6. Kedua orang tuaku: Ayahanda (Drs. Masaa Badje) dan Ibunda (Hj. Darmina) terima kasih atas segala pengorbanan untukku selama ini.

7. Teman-temanku Fidiah, Tadho, Firi dan Elvi yang selalu mewarnai hari-hariku dan tak pernah bosan mendengar keluh kesahku selama ini,
8. Teman-teman KKN 2004 kelompok 18 Desa Kaliwining; Auliya, Anang, Ana, Hesti, Novi dan Filia, terima kasih untuk semua hari indah yang pernah kita lewati bersama.
9. Ummu Sa'adah beserta keluarga yang selalu memberi bantuan dan dorongan semangat untukku selama ini,
10. Teman baikku Siswati Z.A yang sudah banyak membantuku menyelesaikan pengetikan skripsi ini, serta
11. Semua rekan-rekan angkatan 2000 yang telah mewarnai hari-hariku selama ini.
12. Semua pihak yang telah banyak membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Akhirnya, semua saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan guna kesempurnaan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini memberikan manfaat bagi khasanah keilmuan di bidang Kedokteran Gigi.

Jember, Juni 2005

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengajuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Halaman Motto	iv
Halaman Persembahan	v
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Lampiran	xii
Ringkasan	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Radang	5
2.1.1 Definisi radang.....	5
2.1.2 Mekanisme terjadinya radang.....	5
2.1.3 Tanda-tanda peradangan.....	6
2.2 Leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN).....	8
2.3 Asam Mefenamat.....	9
2.3.1 Sifat Fisiko Kimiawi Asam Mefenamat.....	10
2.3.2 Kelarutan dan Penyimpanan Asam Mefenamat.....	11
2.3.3 Mekanisme Kerja Asam Mefenamat.....	11
2.3.4 Farmakokinetik	13
2.3.5 Efek Samping dan Kontra Indikasi	13

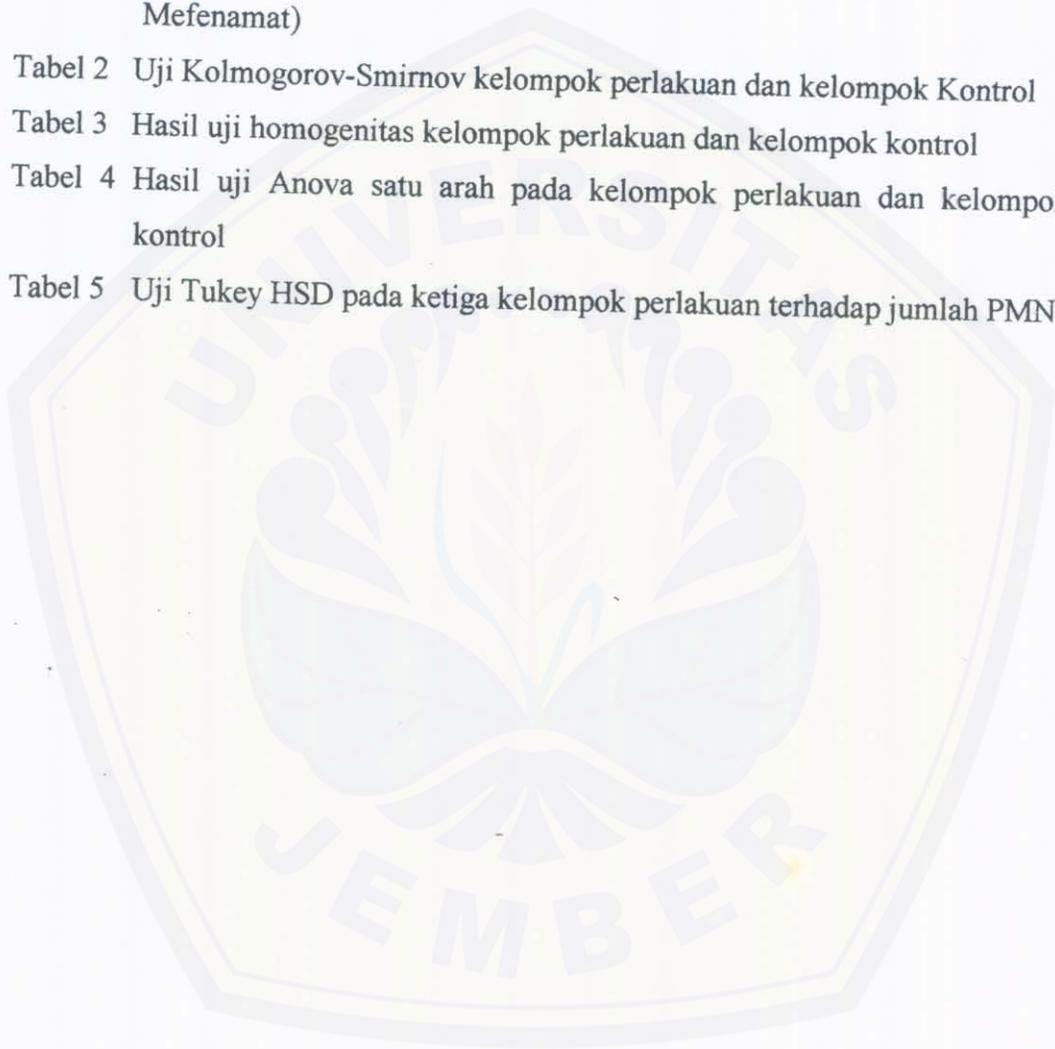
2.4 Nimesulide	13
2.4.1 Struktur Kimia	13
2.4.2 Mekanisme Kerja Nimesulide	13
2.4.3 Indikasi Terapi dan Efek Samping	15
2.5 Sel Darah Putih Mencit	16
2.6 Hipotesis	16
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	17
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.3 Variabel Penelitian	17
3.3.1 Variabel Bebas	17
3.3.2 Variabel Terikat	17
3.3.3 Variabel Terkendali	17
3.4 Definisi Operasional.....	18
3.4.1 Keradangan.....	18
3.4.2 Asam Mefenamat.....	18
3.4.3 Nimesulide	18
3.4.4 Lekosit PMN.....	18
3.5 Alat dan bahan	18
3.5.1 Alat.....	18
3.5.2 Bahan.....	19
3.6 Sampel penelitian.....	19
3.6.1 Kriteria Sampel.....	19
3.6.2 Jumlah Sampel.....	19
3.7 Prosedur dan Alur Penelitian.....	20
3.7.1 Alur Penelitian.....	20
3.7.2 Prosedur Penelitian.....	20
3.7.2.1 Tahap Persiapan.....	21
3.7.2.2 Tahap Perlakuan.....	21
3.7.3 Pengambilan Sampel Darah.....	22
3.7.4 Pembuatan Sediaan Hapusan Darah.....	22

3.7.5 Pengecatan Hapusan Darah (Wright's stain).....	23	
3.7.6 Cara Pemeriksaan.....	24	
3.8 Analisa Data	24	
BAB IV HASIL DAN ANALISA DATA		
4.1 Hasil Penelitian.....	25	
4.2 Hasil Analisa Data.....	26	
BAB V PEMBAHASAN.....		31
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1 Kesimpulan	35	
6.2 Saran	35	
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		



DAFTAR TABEL

- Tabel 1 Jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi mencit jantan Strain Balb/C pada kelompok perlakuan (Nimesulide dan Asam Mefenamat)
- Tabel 2 Uji Kolmogorov-Smirnov kelompok perlakuan dan kelompok Kontrol
- Tabel 3 Hasil uji homogenitas kelompok perlakuan dan kelompok kontrol
- Tabel 4 Hasil uji Anova satu arah pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol
- Tabel 5 Uji Tukey HSD pada ketiga kelompok perlakuan terhadap jumlah PMN



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Perhitungan besar sampel
- Lampiran 2 Rumus tabel analisa varians (ANOVA)
- Lampiran 3 Data hasil penelitian
- Lampiran 4 Analisa data Anova satu arah
- Lampiran 5 Foto Pelaksanaan Penelitian



RINGKASAN

Ikhran Kharis, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, 001610101006, Perbedaan Pengaruh Pemberian Obat Anti Inflamasi Antara Nimesulide Dan Asam Mefenamat Terhadap Jumlah Leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN) Darah Tepi Pada Respon Radang Luka Gores. Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Mencit Jantan Strain Balb/C), dibawah bimbingan drg. Budi Sumarsetyo, Sp.BM dan drg. Winny Adriatmoko, M.Kes.

Tindakan pencabutan gigi dapat timbul komplikasi pasca bedah seperti rasa sakit, peradangan dan sebagainya. Banyak obat dipakai dikalangan dokter gigi untuk menghilangkannya seperti golongan anti inflamasi non steroid (AINS). Salah satu mediator inflamasi adalah prostaglandin yang dibentuk dengan perantaraan siklooksigenase (COX). Semua AINS konvensional menghambat COX secara non spesifik pada dosis standart. Obat AINS beredar luas ditengah masyarakat dengan berbagai pilihan harga, dosis dan efek terapi maupun efek samping. Asam Mefenamat merupakan salah satu preparat yang banyak dipilih karena memiliki efek anti inflamasi yang memadai. AINS terus berkembang hingga ditemukan Nimesulide yang bekerja menghambat prostaglandin secara selektif pada enzim COX-2.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian obat anti inflamasi antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores pada mencit jantan Strain Balb/C.

Sebanyak 24 ekor mencit jantan Strain Balb/C dikelompokkan menjadi 3 kelompok perlakuan. Mencit kemudian diberi luka gores pada punggungnya dengan panjang 1 mm sedalam 0,5 mm, kemudian kelompok pertama diberi Nimesulide, kelompok dua diberi Asam Mefenamat, sedangkan kelompok tiga diberi aquadest secara peroral dengan sonde lambung. Tiga hari post perlakuan ekor mencit jantan dipotong dan diambil tetesan darah sebanyak 0,5 cc kemudian dibuat hapusan darah, dicat dengan Wright's stain dan diperiksa di bawah mikroskop.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah rata-rata PMN mencit jantan pada perlakuan dengan Nimesulide adalah 48,12 sedangkan jumlah rata-rata PMN pada perlakuan Asam Mefenamat adalah 63,5, Jumlah rata-rata PMN pada kelompok kontrol adalah 67,5.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Nimesulide mempunyai pengaruh yang lebih besar terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) pada darah tepi mencit jantan Strain Balb/C dibanding Asam Mefenamat.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam bidang kedokteran gigi, pembedahan merupakan tindakan yang sering dilakukan. Pencabutan gigi secara pembedahan atau prosedur perawatan lain yang memerlukan tindakan bedah, sering kali tidak dapat dihindari terjadinya komplikasi radang dan infeksi. Radang merupakan peristiwa normal paska pembedahan, tetapi dikatakan komplikasi apabila terjadi secara berlebihan. Oleh karena itu memerlukan pencegahan, salah satunya adalah dengan obat-obatan. Beberapa preparat anti radang yang kemudian berkembang dan banyak dipakai dikalangan kedokteran gigi adalah golongan anti inflamasi non steroid (AINS) yang sekaligus mempunyai efek analgetik yang kuat (Simandjuntak, 2000).

Pada respon peradangan terjadi pelepasan enzim lisosom dari leukosit, kemudian asam arakhidonat dilepaskan dari senyawa prekursor oleh fosfolipase. Enzim siklooksigenase mengubah asam arakhidonat menjadi endoperoksida yang aktif secara biologis dan bermasa hidup singkat. Senyawa ini cepat diubah menjadi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan A₂. Secara in vitro adanya peningkatan pada prostasiklin dan prostaglandin dapat menyebabkan vasodilatasi, eritema dan peningkatan aliran darah lokal sehingga migrasi lekosit termasuk PMN ke daerah radang semakin tinggi (Katzung, 1995).

Salah satu mediator inflamasi yang penting adalah prostaglandin. Senyawa ini dibentuk dari asam arakhidonat dengan perantaraan siklooksigenase (COX). COX mempunyai 2 isoenzim, yaitu COX-1 dan COX-2. Semua AINS konvensional menghambat COX secara non spesifik pada dosis standar. Efek anti inflamasi dan analgesik timbul sebagai akibat penghambatan COX-2, sebaliknya, efek non terapi yang timbul karena penghambatan COX-1 merupakan faktor penting untuk mempertahankan integritas mukosa lambung (Nugroho, 2002).

Obat AINS beredar luas ditengah masyarakat dengan berbagai pilihan harga, dosis dan efek terapi maupun efek samping. Salah satunya yang sering digunakan adalah Asam Mefenamat yang merupakan turunan N-arantranilat, terutama digunakan sebagai anti inflamasi untuk mengobati rheumatik, dan sebagai analgesik untuk mengurangi rasa nyeri ringan sampai moderat. Zat ini dua kali sampai tiga kali lebih aktif dari pada Aspirin dalam meredakan rasa nyeri kronis (Soekardjo, 1995). Asam Mefenamat dengan dosis 250 mg lebih bagus dibanding 500 mg Aspirin, dan melipat duakan dosis (500 mg) memberikan kenaikan kemanjuran yang tajam (Doerge, 1990). Obat ini dipasarkan berupa kapsul atau kaplet 250-500 mg (Informasi Spesialite Obat Indonesia, 2000).

Asam mefenamat pertama kali dipakai pada tahun 1963 merupakan salah satu preparat yang paling banyak dipilih karena memiliki efek anti inflamasi yang cukup memadai. Namun pada pemakaiannya ternyata preparat ini sering menimbulkan efek samping pada gastrointestinal, oleh karena itu perlu berhati-hati dalam penggunaannya (Simandjuntak, 2000).

AINS pada perjalanannya terus berkembang sampai ditemukannya Nimesulide, yang bekerja menghambat prostaglandin secara selektif pada enzim COX-2 dan menurunkan pelepasan mediator-mediator rasa sakit lainnya seperti sitokin, histamin, bradikinin dan lain-lain. Penghambatan secara selektif pada enzim COX-2 ternyata sangat menguntungkan, karena hambatan enzim COX-1 sangat berperan dalam fungsi fisiologis dinding lambung, proses pembekuan darah serta fungsi sekresi pada ginjal sangat minimal sehingga efek samping yang mungkin ditimbulkan terutama pada gastro intestinal sangat jarang terjadi. Nimesulide bekerja lebih cepat dan mempunyai aktifitas menurunkan rasa sakit lebih baik dan bekerjanya lebih lama dibanding AINS lain seperti Asam Mefenamat (Simandjuntak, 2000).

Nimesulide merupakan AINS penghambat COX-2 yang pertama dipasarkan pada tahun 1995. Beberapa penelitian mengenai efek samping Nimesulide menyimpulkan bahwa kerusakan mukosa lambung pada pasien yang mendapat Nimesulide lebih baik dari AINS konvensional. Disamping selektivitasnya terhadap COX-2, Nimesulide juga memiliki sifat asam yang sangat

lemah (pKa 6,5) dan hal ini diduga ikut berpengaruh terhadap rendahnya efek samping terhadap gastrointestinal (Bennet dan Villa, 2000). Obat ini dipasarkan berupa tablet 100 mg (MIMS, 2002). Dosis yang direkomendasikan adalah 100 mg, dua kali sehari (Kulkarni, 2002).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui tentang perbedaan pengaruh pemberian obat anti inflamasi antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat yang beredar dipasaran terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores, mengingat banyaknya kelebihan yang dimiliki Nimesulide dibanding AINS lainnya.

Penelitian ini menggunakan mencit jantan sebagai hewan coba, karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, siklus hidupnya relatif panjang, pemeliharaannya cukup mudah dan dapat dipakai untuk mewakili mamalia termasuk manusia oleh karena tikus mempunyai sistem neuroendokrin yang sama dengan manusia, disamping itu juga sebagai fasilitas untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia (Baker, 1979). Metode eksperimental laboratoris dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkendali, terukur, dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Notoatmodjo, 2002).

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian diatas, timbul permasalahan tentang bagaimanakah perbedaan pengaruh pemberian obat anti radang antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores pada mencit jantan Strain Balb/C?

1.3 Tujuan penelitian

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian obat anti inflamasi antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores pada mencit jantan Strain Balb/C.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan tentang pemilihan obat-obatan anti inflamasi non steroid (AINS) yang efektif dalam penurunan respon peradangan dan aman untuk penderita.
2. Dapat dipakai sebagai acuan untuk penelitian berikutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radang

2.1.1 Definisi Radang

Radang ialah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas, dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel tubuh di tempat jejas. Proses radang berperan dalam pemusnahan, melarutkan dan membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk pemulihan jaringan yang rusak pada tempat itu (Robins dan Kumar, 1995).

Jejas dapat berbentuk radang maupun infeksi. Ketika proses radang berlangsung, terjadi reaksi vaskuler dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih dan mediator kimia berkumpul pada tempat cedera jaringan atau infeksi. Proses radang merupakan suatu mekanisme perlindungan, dimana tubuh berusaha menetralsir dan membasmi agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera dan mempersiapkan keadaan untuk perbaikan jaringan (Kee dan Hayes, 1996)

Menurut Prince dan Wilson 1995, proses radang adalah reaksi vaskuler yang hasilnya merupakan pengiriman cairan, zat-zat terlarut dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan intersisial pada daerah cedera atau nekrosis.

2.1.2 Mekanisme Terjadinya Radang

Proses radang merupakan suatu mekanisme penting untuk melindungi badan dari serangan mikroorganisme penginvasi, tetapi peradangan juga menyebabkan ketidakmampuan yang menyertai berbagai kelainan seperti trauma dan lain sebagainya. Kerusakan sel yang menyertai peradangan menyebabkan pelepasan enzim lisosom dari leukosit melalui kerja atas membran sel, kemudian asam arakhidonat dilepaskan dari senyawa prekursor oleh fosfolipid. Enzim siklooksigenase merubah asam arakhidonat menjadi peroksida yang aktif secara biologis dan bermasa hidup singkat. Senyawa ini cepat diubah menjadi postaglandin dan tromboksan.

Lipooksigenase adalah enzim yang mengubah asam arakhidonat menjadi leukotrien. Leukotrien mempunyai efek kemotaktik yang kuat atas eusinofil, neutrofil dan makrofag serta meningkatkan bronkokonstriksi dan permeabilitas vaskuler. Kinin dan histamin juga dilepaskan pada tempat jaringan cedera, seperti juga komponen komplemen, serta produk leukosit lainnya dan trombosit. Perangsangan membran neutrofil menghasilkan rantai bebas yang memberi oksigen. Anion superoksida dibentuk oleh reduksi oksigen molekuler yang bisa merangsang produksi molekul reaktif lain, seperti hidrogen peroksida dan rantai hidroksil. Interaksi senyawa ini dengan asam arakhidonat menghasilkan pembentukan senyawa kemotaktik sehingga mengekalkan proses peradangan (Katzung, 1995).

Kee dan Hayes 1996 menjelaskan bahwa inflamasi adalah cedera jaringan akibat dilepaskannya mediator-mediator kimia yang menyebabkan baik respon vaskuler dan cairan serta sel-sel (leukosit atau SDP) untuk bermigrasi ke tempat cedera. Mediator mediator kimianya adalah (1) histamin (2) kinin (3) prostaglandin. Histamin, mediator pertama dalam proses inflamasi, menyebabkan dilatasi arteriol dan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga cairan dapat meninggalkan kapiler dan mengalir ke daerah cedera. Kinin, seperti bradikinin, juga meningkatkan permeabilitas kapiler dan rasa nyeri. Prostaglandin dilepaskan menyebabkan bertambahnya vasodilatasi, permeabilitas kapiler nyeri dan demam.

2.1.2 Tanda-tanda Radang

Menurut Kee dan Hayes (1996), ada lima respon pada cedera jaringan dikenal sebagai tanda-tanda utama radang : kemerahan/eritema (rubor), pembengkakan/edema (tumor), Nyeri (dolor), panas (kalor) dan hilang fungsi (functiolessa).

1. Eritema

Kemerahan pada daerah radang terjadi pada tahap pertama dari proses radang. Oleh karena darah berkumpul pada daerah tersebut akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin dan histamin). Histamin berperan terhadap terjadinya dilatasi arteriol.

2. Edema

Pembengkakan merupakan tahap kedua dari proses radang. Plasma merembes ke dalam jaringan intersisial pada daerah radang, kinin mendilatasi arterioler dan meningkatkan permeabilitas kapiler.

3. Panas

Panas pada daerah radang disebabkan oleh bertambahnya kumpulan darah dan mungkin juga oleh karena pirogen (substansi yang menimbulkan demam), yang mengganggu pusat pengatur panas pada hipotalamus.

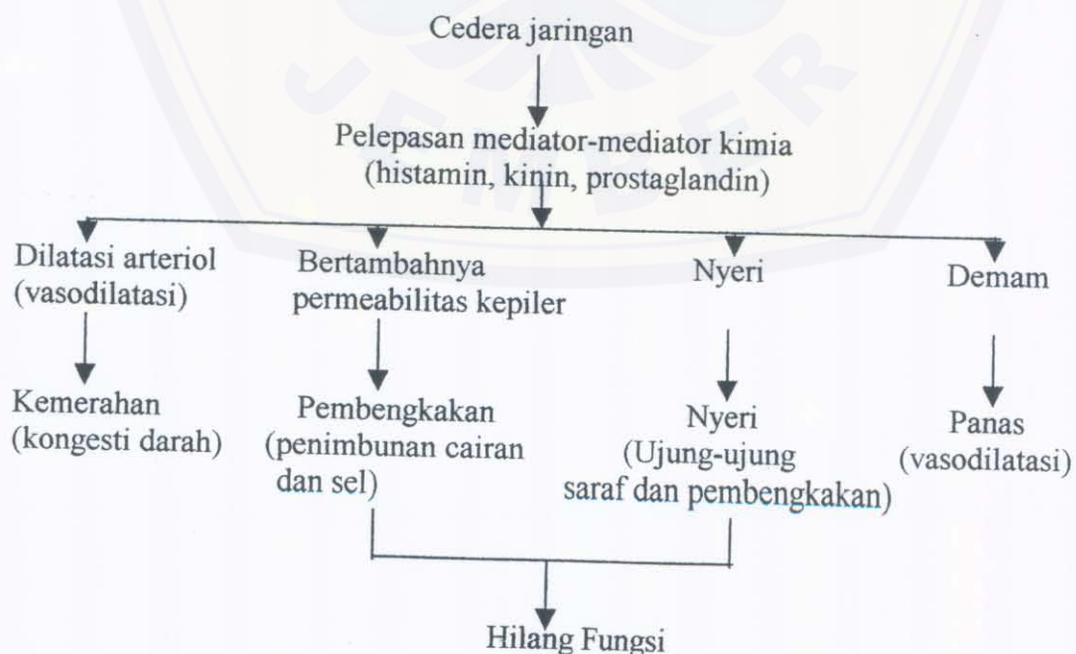
4. Nyeri

Nyeri terjadi sebagai akibat edema dan pelepasan mediator-mediator kimia pada proses radang.

5. Hilang Fungsi

Hilangnya fungsi terjadi akibat penumpukan cairan dan rasa nyeri yang mengurangi mobilitas pada tempat yang terkena (Kee dan Hayes, 1996).

Hal-hal tersebut diatas dapat digambarkan dengan jelas pada skema 1 dibawah ini :



Skema 1. Respon mediator kimia terhadap cedera jaringan (Kee dan Hayes, 1996)

2.2 Leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN)

Leukosit merupakan unit yang mobil/aktif dari sistem pertahanan tubuh. Leukosit ini sebagian dibentuk di sumsum tulang (granulosit dan monosit serta sedikit limfosit) dan sebagian lagi di jaringan limfe (limfosit dan sel-sel plasma). Ada enam macam sel darah putih yang secara normal ditemukan dalam darah. Keenam sel tersebut adalah neutrofil polimorfonuklir, eosinofil polimorfonuklir, basofil polimorfonuklir, monosit, limfosit dan kadang-kadang sel plasma (Guyton dan Hall, 1997).

Persentase normal dari sel darah putih kira-kira sebagai berikut :

Netrofil polimorfonuklir	62,0%
Eosinofil polimorfonuklir	2,3%
Basofil polimorfonuklir	0,4%
Monosit	5,3%
Limfosit	30,0%

Pada manusia dewasa dapat dijumpai sekitar 7000 sel darah putih per mikroliter darah (Guyton dan Hall, 1997).

Neutrofil dan makrofag yang terutama menyerang dan menghancurkan bakteri, virus, dan bahan-bahan merugikan lain yang menyerbu masuk kedalam tubuh. Netrofil adalah sel sel matang yang dapat menyerang dan menghancurkan bakteri dan virus, bahkan dalam darah sirkulasi. Banyak bahan kimia dalam jaringan dapat menyebabkan netrofil dan makrofag bergerak menuju sumber bahan kimia. Fenomena ini dikenal sebagai kemotaksis. Proses kemotaksis bergantung pada perbedaan konsentrasi bahan-bahan kemotaksis. Pada daerah dekat sumber, konsentrasi bahan-bahan ini paling tinggi, yang menyebabkan gerakan terarah dari sel darah putih. Kemotaksis bersifat efektif sampai jarak 100 mikrometer dari jaringan meradang; karena hampir tidak ada area jaringan yang jauhnya lebih dari 50 mikrometer dari kapiler, maka sinyal kemotaksis dapat dengan mudah memindahkan serombongan besar sel darah putih dari kapiler ke daerah yang meradang (Guyton dan Hall, 1997)

Fungsi yang terpenting dari netrofil dan makrofag adalah fagositosis, yang berarti pencernaan selular terhadap bahan-bahan yang mengganggu. Dalam

beberapa jam sesudah dimulainya radang akut yang berat, maka di dalam darah terjadi kenaikan jumlah neutrofil, kadang-kadang sampai empat hingga limakali lipat dari jumlah normal 4000 sampai 5000 menjadi 15.000 sampai 25.000 neutrofil permikroliter. Keadaan ini disebut netrofilia. Netrofilia disebabkan oleh produk peradangan yang memasuki aliran darah. Netrofilia disebabkan oleh produk peradangan yang memasuki aliran darah, kemudian ditransport kesumsum tulang, dan disitu bekerja pada kapiler sumsum dan pada neutrofil yang tersimpan untuk menggerakkan neutrofil-netrofil ini dengan segera kedalam darah sirkulasi. Hal ini membuat lebih banyak lagi neutrofil yang tersedia pada area jaringan yang meradang (Guyton dan Hall, 1997)

Peradangan merupakan reaksi antigen antibody dan komplemen yang menyebabkan terbentuknya factor kemotaksis yang menjadi penarik leukosit. Secara invitro terbukti bahwa PGE_2 dan prostasiklin (PGI_2) dalam jumlah nanogram menimbulkan eritema, vasodilatasi dan peningkatan aliran darah lokal. Migrasi sel leukosit ke jaringan radang merupakan aspek penting dalam proses peradangan. Pada AINS (Anti inflamasi non steroid) dosis tinggi terlihat penghambatan migrasi sel tanpa mempengaruhi enzim lipoksigenase (Munaf, 1994).

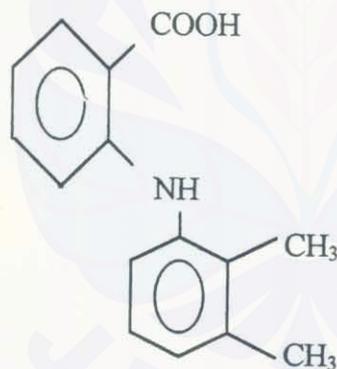
2.3 Asam Mefenamat

AINS adalah merupakan salah satu kelompok obat yang digunakan untuk analgetik, antipiretik dan anti inflamasi. Efek terapinya selalu dibandingkan dengan aspirin (acetosal) sebagai senyawa AINS yang pertama ditemukan, sehingga senyawa AINS lainnya dikenal sebagai obat yang bekerja mirip Aspirin atau "Aspirin like drug". Asam fenamat termasuk golongan ini dan merupakan derivat N-phenyl Asam anthranilat yang beranggotakan Asam Mefenamat, Flufenamat, Tolfenamat, Meclofenamat dan Asam Isofenamat. Aktivitas obat ini ditemukan sejak tahun 1950. Salah satu dari Asam Fenamat, yaitu Asam Mefenamat, merupakan jenis yang paling banyak digunakan di Indonesia terutama sebagai analgetik, karena efektivitasnya sebagai anti radang lebih rendah dibandingkan Aspirin (Bowman dan Gilman dalam Farida, 1991).

Asam Mefenamat kelihatan merupakan anti flogistik analgesik murni yang pertama kali ditemukan sejak Aminopirin. Diyakini Aspirin dan Aminopirin memiliki efek analgesik yang bersifat umum yang merupakan kombinasi efek perifer dan pusat. Berbagai macam Asam Antranilat dipilih untuk aktivitas antinosiseptif (analgesik) apabila menunjukkan reaksi anti radang yang nyata. Telah dibuktikan bahwa kombinasi kedua efek ini jarang diketemukan pada senyawa tersebut. Mekanisme aksi analgesik diyakini berhubungan dengan kemampuan memblok sintetase prostaglandin, tidak berhubungan dengan distribusi lipid-plasma, koefisien pertisi atau pKa yang telah dicatat (Doerge, 1990).

2.3.1 Sifat Fisiko Kimiawi Asam Mefenamat

Asam Mefenamat dengan rumus kimia $C_{15}H_{15}NO_2$, ditunjukkan dalam rumus bangun seperti pada gambar 1 berikut ini :



Gambar 1. Rumus bangun Asam Mefenamat ($C_{15}H_{15}NO_2$)

Bentuk dasar Asam Mefenamat berupa serbuk kristalin putih kekuningan, yang tidak larut dalam air dan sedikit larut dalam alkohol, tidak atau hampir tidak berbau, tidak berasa pada saat pertama, tetapi meninggalkan sedikit rasa pahit sesudahnya, titik lebur $230^{\circ}C$; pKa 4,2 (Auterhoff dan Koval, 1997).

2.3.2 Kelarutan dan Penyimpanan Asam Mefenamat (Auterhoff dan Koval, 1997)

a. Kelarutan

- Praktis tidak larut dalam air (1 : 180).
- Sukar larut dalam alkohol, metanol atau asam acetat glasial.
- Sukar larut dalam chloroform (1 : 150).
- Larut sebagian dalam eter (1 : 80) atau aseton (1 : 75)
- Larut dalam alkali hidroksida

b. Penyimpanan

Penyimpanan dilakukan dalam tempat tertutup rapat.

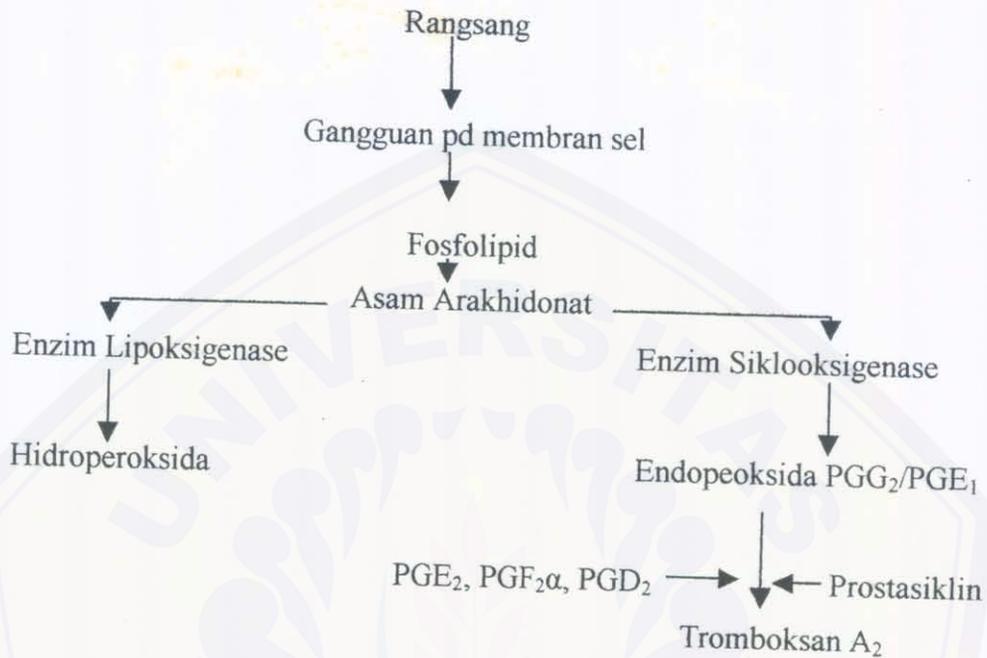
2.3.3 Mekanisme Kerja Asam Mefenamat

Mekanisme kerja obat yang termasuk AINS pada proses radang baru kemudian diketahui sesudah kelompok obat ini dalam waktu lama menunjukkan efek terapinya sebagai analgetik dan anti-piretik yang efektif. Berbagai macam teori tentang konsep analgesik telah dicoba pembuktiannya, tetapi baru pada tahun 1971 Vane berhasil membuktikan khasiatnya dalam menghambat sintesa prostaglandin, yaitu senyawa yang dihasilkan dari asam arachidonat. Berdasarkan pembuktian Vane, nyeri perifer terjadi karena kerusakan jaringan yang mengakibatkan timbulnya reaksi nyeri dan radang. Pada jaringan yang rusak terjadi pelepasan prostaglandin yang diduga merupakan mediator proses biokimia dari proses radang (Ahaditomo, 1990).

Prostaglandin berasal dari asam lemak tidak jenuh dengan rantai atom C tinggi yang dipecah oleh enzim Cyclooxygenase. Enzim ini merupakan katalisator dari Cyclic endoperoksidase yaitu suatu enzim lain yang sangat berpengaruh dalam pembentukan prostaglandin. Hasil pemecahan prostaglandin oleh enzim Cyclooxygenase adalah prostaglandine E₂ dan prostacyclin. Kedua senyawa tersebut bertanggung jawab terhadap proses radang (Ahaditomo, 1990).



Proses metabolisme prostaglandin dalam jalur siklooksigenase ditunjukkan oleh skema 2 berikut ini :



Skema 2. Proses metabolisme prostaglandin (Munaf, 1994)

Seperti golongan AINS lainnya, mekanisme kerja Asam Mefenamat terjadi dengan jalan menghambat kerja enzim Cyclooxygenase dalam sintesa prostaglandin sehingga produksi prostaglandin menurun; akibatnya reaksi inflamasi atau stimulasi nyeri akan berkurang. Efek antipiretiknya juga terjadi dengan mekanisme yang sama yaitu menghambat enzim cyclooxygenase yang terdapat di hypothalamus, bagian dari otak yang mengatur suhu tubuh. Perbedaan mekanisme kerja Asam Mefenamat dengan obat-obat AINS lainnya terletak pada potensinya menghambat enzim cyclooxygenase (Ahaditomo dalam Farida, 1991).

Selain efek analgetik, antipiretik dan anti inflamasi, Asam Mefenamat juga mempunyai sifat anti platelet. Prinsip mekanisme kerjanya juga terjadi dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase. Dalam proses ini enzim bertanggung jawab terhadap pembentukan TX-2 atau Tromboxan yaitu senyawa yang menyebabkan terjadinya agregasi platelet. Oleh karena itu Asam Mefenamat secara tidak langsung dapat memperpanjang waktu pembekuan darah (Gilman et al dalam Farida, 1991).

2.3.4 Farmakokinetik

Absorpsi Asam Mefenamat melalui saluran cerna sesudah pemberian per oral tidak terlalu cepat, puncak konsentrasi plasma terjadi antara 2-4 jam. Pada manusia lebih kurang 50% dosis diekskresi melalui urine dan lebih kurang separohnya dikonjugasi dengan 3-Hidroksymethyl metabolite dan sebagai 3-carboxymethyl metabolit. Pada faeses dijumpai terutama sabagai 3-carboxyl metabolite yang tidak terkonjugasi (20%) (Gilman et al dalam Farida, 1991).

2.3.5 Efek Samping dan Kontra Indikasi

Efek samping Asam Mefenamat yang paling sering timbul adalah gangguan terhadap saluran cerna yaitu dispepsia atau gejala iritasi lain terhadap mukosa lambung, diare dan ruam kulit. Pada penderita geriatric, efek samping diare terjadi lebih parah. Efek lainnya adalah meningkatkan efek "cumarin anticoagulant", dan pada dosis berlebihan dapat menginduksi "tonic-clonic (grandmal) convulsions".

Asam Mefenamat dengan dosis 250 mg, lebih baik dibandingkan 600 mg Aspirin sebagai analgesik, dan melipat gandakan dosis memberikan kenaikan manfaat yang tajam. Studi klinik obat ini terhadap efek perdarahan gastro intestinal menunjukkan bahwa, terjadinya efek samping ini lebih rendah dibanding dengan Aspirin. Jika telah disertai diare, rasa ngantuk dan kepala pusing dan kemungkinan adanya gangguan darah, segera dibatasi pemakaian sampai tujuh hari. Pemakaian tidak dianjurkan untuk anak-anak dan semasa kehamilan (Deorge, 1990).

2.4 Nimesulide

2.4.1 Struktur Kimia

- Nama kimia : N - (-4 -Nitro -2 -phenoxyphenil) methanesulfonamide.
- Rumus empiris : $C_{13} H_{12} N_2 O_5 S$

2.4.2 Mekanisme Kerja Nimesulide

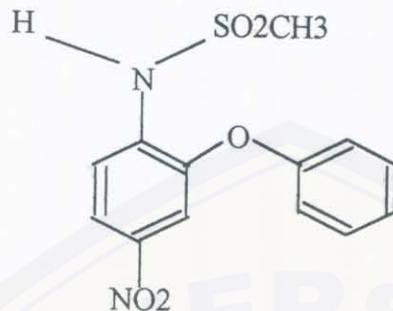
Nimesulide secara kimiawi berbeda dari obat-obatan AINS lainnya, karena adanya kandungan Sulfonanilide didalamnya. Seperti semua AINS lainnya, nimesulide menghambat sintesis prostaglandin dengan memblokade enzyim cyclooxygenase (COX).

Ada dua isoform dari isoenzim COX, yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 berperan sebagai penyusun utama pada banyak sel dan terlibat dalam kerja prostanooid pada proses-proses fisiologis, seperti pemeliharaan integritas mukosa lambung dan fungsi ginjal. Sedang COX-2 diinduksi oleh *proinflammatory cytokines* dan mitogens pada daerah radang atau jaringan yang terkena jejas.

Nimesulide mempunyai kemampuan analgesik, anti inflamasi, dan aktivitas anti piretik pada pemberian per oral ataupun per rectal. Melalui penerimaan aktivitas COX-1, Nimesulide mempunyai resiko relatif lebih rendah terjadinya lesi gastroduodenal dengan AINS lainnya. Nimesulide lebih menghambat COX-2 pada assay darah manusia, dan mencapai 5-20 kali lipat dibanding COX-1. Disamping itu, Nimesulide juga menghambat produk radikal bebas oksigen, monochloramin, dan asam hipochlorus yang terbentuk dari pengaktifan neutrofin dan sel-sel radang lain. Nimesulide mempunyai kemampuan dalam menghambat fosfodiesterase tipe IV dan mempunyai efek antiprotease untuk melawan elastase neutrophil, kolagenase kartilago dan stromelysin. Nimesulide juga berperan pada inhibisi pelepasan histamin dari mast sel dan basofil serta pada produksi PAF (platelet activating factor) dari neutrophil.

Beberapa penelitian tentang kemampuan anti radang dan analgesik sering dilakukan, diantaranya tentang edema dengan induksi karagenan, induksi ajuvan pada arthritis, Test Randal Sellito, eritema kulit yang induksi UV terhadap eritema kulit, dan Whriting test pada tikus yang diinduksi phenylguinone. Pada radang akut dan kronik, Nimesulide lebih efektif dari plasebo dan kemampuan anti radangnya sebanding AINS lain (Kulkarni, 2002).

Nimesulide dengan rumus kimia $C_{13}H_{12}N_2O_5S$, ditunjukkan dalam rumus bangun seperti pada gambar 2 berikut ini :



Gambar 2. Rumus bangun Nimesulide (Kulkarni, 2002)

2.4.3 Indikasi Terapi dan Efek Samping

Dari data epidemiologi, pengobatan jangka panjang dengan Nimesulide pada dosis anti inflamasi (100mg, 2 kali sehari) tidak menyebabkan gangguan gastrointestinal serius. Nimesulide aman digunakan pada pasien asthma yang sensitif terhadap Aspirin, serta bermanfaat pada pengurangan gejala rhinitis, rhinopharyngitis, tubaritis dan otitis media secretory yang masih dalam pengobatan antibiotik .

Karena bentuk aksi multifaktorial yang istimewa, nimesulide mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap rasa sakit dan kondisi inflamasi. Sehingga obat ini dapat diindikasikan untuk radang sendi, nyeri osteoarthritis, demam, penyakit muskuloskeletal non rheumatoid, nyeri akut serta pada kondisi perioperatif dan dismenore. Dosis yang direkomendasikan adalah 100mg b.i.d. untuk situasi-situasi klinis seperti ini.

Observasi klinik pada pengobatan dengan Nimesulide, diindikasikan adanya hubungan antara penggunaan Nimesulide dengan prevalensi terjadinya hepatotoksik pada anak-anak. Rata-rata insiden dan reaksi jantung yang tidak dapat diprediksi adalah berkisar 0.1 per 100.000 pasien yang dirawat, dimana hal ini tidak terlalu tinggi jika dibandingkan dengan AINS lain seperti Diklofenak (Kulkarni, 2002).

2.5 Sel Darah Putih Mencit

Crescoff dkk. mengatakan bahwa tidak terdapat perbedaan penting pada leukosit untuk perhitungan deffeerential pada mencit berdasarkan jenis kelaminnya. Rata-rata jumlah leukosit berkisar 9000 leukosit/ μm dengan rata-rata berkisar 6000-18.000. Vondruska dkk. Melakukan penghitungan jumlah leukosit pada mencit jantan umur 2.5 bulan dengan rata-rata leukosit 10.000 leukosit/ μm sedang yang betina umur 2.5 bulan rata-rata leukositnya 14.140 leukosit/ μm . Neutrofil polimorfonuklear pada mencit berdiameter 11-12 μm dengan satu inti yang terdiri 2-5 lobus (biasanya 3 lobus) yang berbentuk sosis yang satu dengan lainnya saling terkait oleh benang-benang halus kromatin, dimana nukleusnya tidak begitu tampak jelas. Granula pada sitoplasma berbintik khas meski tidak sejelas pada granula manusia.

Jumlah rata-rata normal neutrofil mencit jantan usia 8-14 minggu adalah berkisar antara 15.7-19.4, sedang pada mencit betina berkisar antara 19.3-23.1 (Baker dkk.,1979).

2.6 Hipotesis

Ada perbedaan pengaruh pemberian obat anti inflamasi antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada repon radang luka gores.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Oktober 2004 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

- Obat anti radang yaitu Nimesulide dan Asam mefenamat

3.3.2 Variabel Terikat

- Jumlah leukosit Polimorfonuklear Neutrofil (PMN)

3.3.3 Variabel Terkendali

- Jenis hewan coba
- Jenis kelamin hewan coba
- Berat badan hewan coba
- Nutrsi hewan coba
- Dosis Asam Mefenamat dan Nimesulide
- Jenis, lokasi, ukuran dan kedalaman luka
- Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Keradangan

Keradangan merupakan respon tubuh terhadap jejas (berupa luka gores pada punggung mencit dengan panjang \pm 1mm dan kedalaman 0.5 mm) (Robins dan Kumar, 1995).

3.4.2 Asam mefenamat

Sediaan Asam mefenamat yang berpotensi sebagai anti radang dengan dosis 1.3 mg/20gr mencit (Paget dan Barnes, 1964).

3.4.3 Nimesulide

Sediaan Nimesulide yang berpotensi sebagai anti inflamasi dengan dosis 0.26 mg/20gr mencit (Paget dan Barnes, 1964).

3.4.4 Leukosit PMN

Merupakan salah satu jenis leukosit, sering pula disebut leukosit Polimorfonuklear Neutrofil, mempunyai inti polimorf, terdiri atas 3 sampai 5 lobus bentuk lonjong tak teratur yang saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus (leeson, 1991)

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

- Kandang ukuran 30 x 40 cm
- Kawat kasa untuk tutup kandang
- Tempat makanan dan minum hewan coba
- Gelas ukur
- Mortal dan pastel
- Sonde lambung
- *Disposyble syringe*
- Kapas
- Timbangan untuk mengukur berat badan hewan coba
- *Glass obyek*
- Mikroskop binokuler
- *Scalpel* nomor 12

3.5.2 Bahan

- Asam mefenamat
- Nimesulide
- Hewan coba (mencit jantan strain Balb/C) berat 20-30 gram
- Makanan ternak untuk mencit
- Bahan pengecatan (Wright's stain)
- Minyak emersi
- Larutan buffer
- Methanol
- Alkohol
- Aquadest steril

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

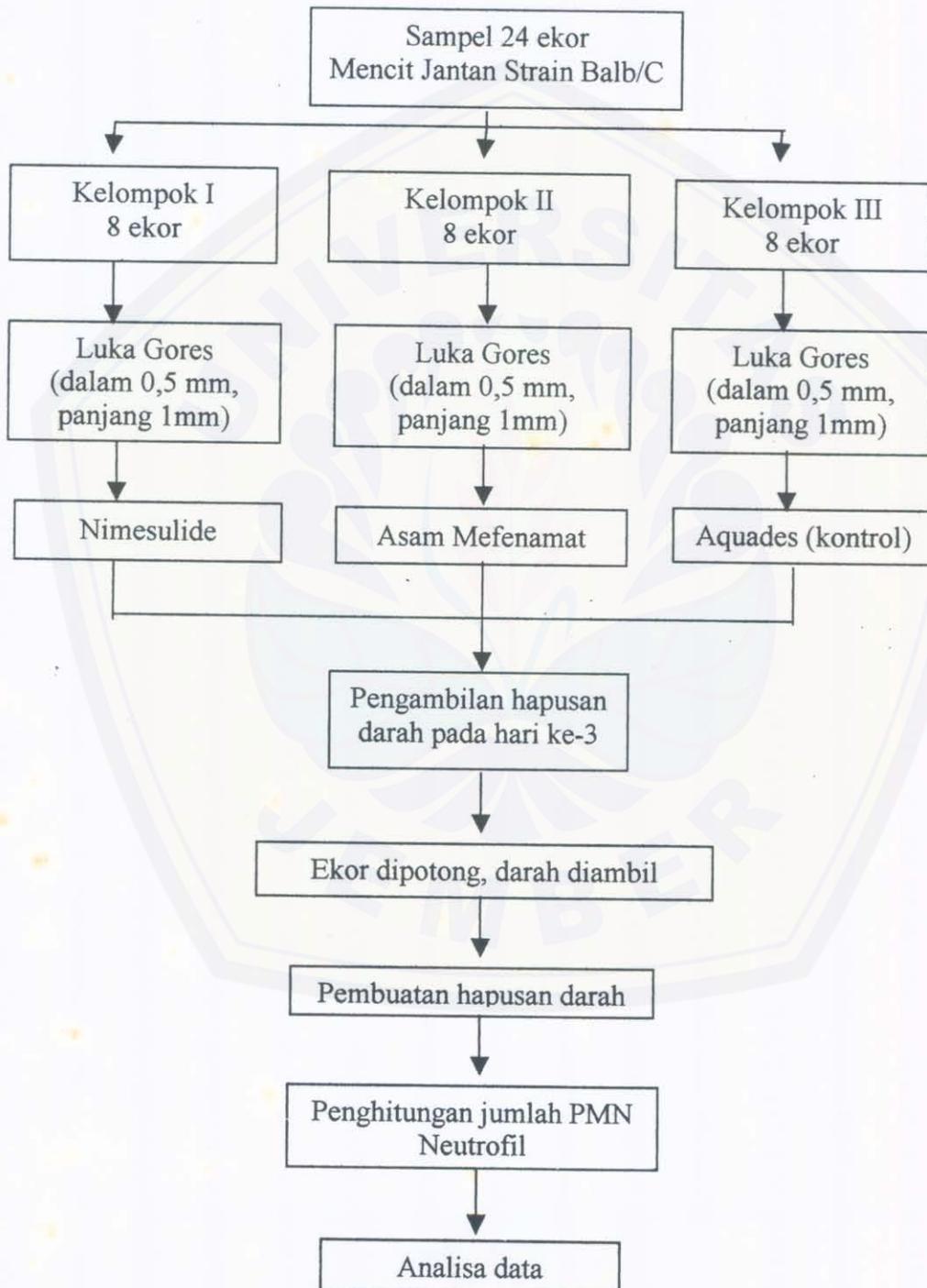
1. Mencit strain Balb/C
2. Jenis kelamin jantan (untuk homogenitas faktor hormonal)
3. Berat badan :20-30 gram
4. Umur : 2-3 bulan
5. Dalam keadaan sehat
6. Sudah diadaptasi selama seminggu

3.6.2 Jumlah Sampel

Sampel diambil secara random dari populasi mencit jantan strain Balb/C sebagai hewan coba. Jumlah total sampel yang digunakan adalah 24 ekor. Perhitungan besar sampel menurut Steel dan Torie (1995) diperoleh 8 (delapan) sampel untuk masing-masing kelompok (lampiran 1).

3.7 Prosedur dan Alur Penelitian

3.7.1 Alur Penelitian



3.7.2 Prosedur Penelitian

3.7.2.1 Tahap Persiapan

a. persiapan hewan coba

24 ekor mencit jantan strain Balb/C yang telah diadaptasi selama satu minggu, diberi makan dan minum seperti biasa secara *ad libitum* (sesukanya), agar diperoleh keadaan seragam sebelum dilakukan penelitian. Mencit jantan strain Balb/C dibagi menjadi tiga kelompok, dimana kelompok pertama sebagai kelompok yang diberi perlakuan Asam mefenamat, kelompok kedua diberi perlakuan Nimesulide, sedang kelompok ketiga, sebagai kelompok kontrol, diberi plasebo (aquadest).

b. Mempersiapkan larutan Asam mefenamat dan Nimesulide

- Sediaan larutan tablet Asam mefenamat diperoleh dengan cara menggerus tablet Asam mefenamat 250 mg dengan air sampai 250 ml. Hasilnya dapat diaplikasikan sesuai dosis.
- Sediaan larutan tablet nimesulide diperoleh dengan cara menggerus tablet Nimesulide 100mg dengan air sampai 100ml. Hasilnya dapat diaplikasikan sesuai dosis.

c. Dosis konversi Asam Mefenamat dan Nimesulide pada mencit strain Balb/C.

Konversi manusia (70 kg) ke mencit (20 gr) = 0.0026 (Paget dan Barnes, 1964)

- Dosis Asam mefenamat pada manusia (70 kg) = 500 mg.
Dosis Asam Mefenamat pada mencit (20gr) = $0.0026 \times 500 = 1.3$ mg/20gr.
- Dosis Nimesulide pada manusia (70 kg) = 100 mg.
Dosis Nimesulide pada mencit (20 gr) = $0.0026 \times 100 = 0.26$ mg/20 gr

d. Persiapan pembuatan hapusan darah

Satu tetes darah dipaparkan diatas gelas obyek yang bersih, kering, bebas lemak, permukaan rata dan licin dengan menggunakan kaca obyek yang telah hilang sudut-sudutnya (Eveline dkk, 2002).

3.7.2.2 Tahap Perlakuan

1. Hewan coba yang sudah diadaptasi selama seminggu dipuasakan selama ± 18 jam sebelum perlakuan. Air minum tetap di berikan *ad libitum* (sesukanya).
2. Pada hari pengujian mencit ditimbang berat badannya dan dikelompokkan menjadi tiga kelompok perlakuan yang terdiri dari kelompok pertama (Asam mefenamat), kelompok kedua (Nimesulide), kelompok ketiga sebagai kelompok kontrol (plasebo aquadest). Tiap mencit dibuat luka gores pada punggungnya dengan ukuran panjang ± 1 mm sedalam 0.5mm dengan menggunakan scalpel.
3. Setelah dibuat luka gores pada kelompok pertama dan kedua masing-masing diberikan Asam mefenamat dan Nimesulide sesuai dosis. Sedang pada kelompok ketiga diberi plasebo yang berupa aquadest steril 1ml/gr BB. Pemberian dilakukan per oral dengan menggunakan sonde lambung.

3.7.3 Pengambilan Sampel Darah

Tiga hari paska perlakuan, ekor mencit dipotong 0.5 cm dari ujung ekor dan diambil tetesan darahnya sebanyak 0.5 cc untuk pembuatan sediaan hapusan darah.

3.7.4 Pembuatan Sediaan Hapusan Darah

- a) Kaca obyek dipilih dengan tepi betul-betul rata untuk digunakan sebagai kaca penghapus. Kemudian sudut kaca obyek dipatahkan menurut garis diagonal agar sediaan hapusan darah tidak mencapai tepi kaca obyek
- b) Satu tetes darah diletakkan pada 2-3 mm dari ujung kaca obyek. Kaca penghapus diletakkan dengan sudut $30-45^{\circ}$ terhadap kaca obyek didepan tetes darah.
- c) Kaca penghapus ditarik kebelakang sehingga menyentuh tetes darah, ditunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut.
- d) Dengan gerak yang mantap kaca penghapus didorong sehingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca obyek. Darah harus habis

sebelum kaca penghapus mencapai ujung dari kaca obyek. Hapusan darah tidak terlalu tipis atau terlalu tebal, ketebalan dapat diatur dengan mengubah sudut antara kedua kaca obyek dan kecepatan menggeser. Makin besar sudut atau makin cepat menggeser, makin tipis hapusan darah yang dihasilkan.

- e) Hapusan darah dibiarkan mengering di udara dan diberi tanda sesuai perlakuan (Eveline dkk, 2002)

3.7.5 Pengecatan Hapusan Darah (Wright's stain)

- a) Pengecatan menggunakan reagen yang terdiri dari:

1. Wright's stain

Cat ini mengandung eosin dan methilen blue. Pelarutnya adalah methanol.

2. Buffer fosfat KH_2PO_4 dengan pH 6.4

R/ KH_2PO_4	6,63 gr
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$	3.20 gr
Aquadest ad	1 liter

- b) Teknik pengecatan

1. Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan Wright's stain pada hapusan darah, sampai hapusan tertutup seluruhnya. selama ± 2 menit.
2. Kemudian pengecatan dilanjutkan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya dengan Wright's stain tadi. Buffer dan Whright's stain segera dicampur dengan jalan meniup-niup beberapa kali. Setelah itu tunggu ± 20 menit sampai sel-sel tercat dengan baik dan membentuk Metallic Scum (buih logam).
3. Hapusan dicuci dengan aquadest atau air biasa.

Cara : Aquadest dituangkan pada hapusan yang berada diatas rak sehingga semua cat hanyut.

4. Hapusan diletakkan pada sisi yang tidak terdapat hapusan, tunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan dengan kertas saring, kapas dan sebagainya (Eveline dkk, 2002).

3.7.6 Cara Pemeriksaan

Satu tetes minyak emersi diletakkan pada bagian sediaan hapusan yang baik untuk diperiksa dan ditutup dengan kaca tutup. Kemudian dilihat dengan pembesaran obyektif yang sesuai (pembesaran 1000x) pada mikroskop binokuler dilakukan pengamatan PMN atas 100 leukosit. Dari 100 leukosit tersebut dapat diamati jumlah PMN (FKH UNAIR, 1998)

3.8 Analisa Data

Uji dalam penelitian ini adalah uji perbedaan. Sampel dipilih secara bebas (random). Variabel terikat berskala ratio, dan data yang diperoleh merupakan data kuantitatif yang dinyatakan dalam bentuk angka. Metode statistik yang digunakan adalah statistik parametrik (Santoso, 2004).

Sebelumnya dilakukan uji Kolmogorov Smirnov untuk menguji hipotesa bahwa tidak ada beda antara dua buah distribusi atau untuk menentukan apakah distribusi dua populasi mempunyai bentuk yang serupa (normal). Apabila didapatkan data terdistribusi normal, maka dilanjutkan uji homogenitas varian untuk menguji homogenitas variansi kedua populasi (Nasir, 2004).

Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok pengamatan dengan satu variable bebas pada masing-masing kelompok perlakuan. Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan yang bersifat mandiri (lain subyek), sehingga digunakan analisis varians satu arah (*One-Way ANOVA*), yang kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey HSD (*Highly Significant Difference*) untuk menyimpulkan perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan yang diperoleh bermakna atau tidak (Furqon, 2002). Tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 95% atau $P < 0.05$.

BAB IV
HASIL DAN ANALISIS DATA

4.1 Hasil Penelitian

Uji perbedaan pengaruh obat anti radang antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonular neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores mencit jantan strain Balb/C telah dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan 24 jumlah sampel. Data yang diperoleh berdasarkan rata-rata jumlah PMN pada setiap hapusan darah tepi mencit dengan pengamatan di bawah mikroskop. Hasil uji perbedaan pengaruh obat anti radang antara Nimesulide dengan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores mencit jantan strain Balb/C, disajikan dalam tabel (1) dibawah ini.

Tabel 1. Jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi mencit jantan strain Balb/C pada kelompok perlakuan (Nimesulide dan Asam Mefenamat) dan kelompok kontrol.

Mencit	Perlakuan		Kontrol
	Nimesulide	Asam Mefenamat	
1	51	63	71
2	51	65	60
3	56	53	79
4	48	64	76
5	50	50	54
6	47	64	65
7	45	77	68
8	37	72	67
Rata-rata	48,12	63,5	67,5

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah PMN seperti ditunjukkan pada tabel (1) diatas diketahui bahwa kelompok perlakuan dengan Nimesulide memiliki rata-rata jumlah PMN yang paling sedikit dibanding kelompok perlakuan dengan Asam Mefenamat, kelompok kontrol paling banyak dibanding rata-rata jumlah PMN kedua kelompok perlakuan. Tetapi jumlah PMN pada kelompok perlakuan dengan Asam Mefenamat tidak berbeda jauh dengan jumlah rata-rata pada kelompok kontrol.

4.2 Hasil Analisa Data

Analisa data penelitian didahului dengan uji Kolmogorov Smirnov (tabel 2) untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal dan kemudian dilakukan uji homogenitas varian (tabel 3) untuk menguji apakah data tersebut homogen atau tidak (Nazir, 1999). Setelah data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji ANOVA satu arah (*One-Way ANOVA*) untuk mengetahui kemaknaan dari tiap kelompok perlakuan, dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui perbandingan antara rata-rata antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lain bermakna atau tidak (Furqon, 2002).

Pengujian hipotesis pada semua uji diatas adalah sebagai berikut:

- a. Hipotesis: H_0 = tidak ada beda antara kedua distribusi
 H_A = kedua distribusi berbeda
- b. Tingkat signifikan $\alpha = 0,05$
- c. Daerah kritis atau daerah penolakan
 H_0 ditolak jika $P < 0,05$
 H_0 diterima jika $P > 0,05$

Tabel 2. Uji Kolmogorov-Smirnov kelompok perlakuan dan kontrol

		Kontrol	Asam Mefenamat	Nimesulide
N		8	8	8
Normal Parameter ^{a,b}	Mean	67.5000	63.5000	48.1250
	Std. deviation	8.1240	8.8641	5.56662
Most Extreme Differences	Absolute	0.129	0.228	0.178
	Positive	0.100	0.183	0.178
	Negative	-0.129	-0.228	-0.170
Kolmogorov-Smirnov Z		0.365	0.643	0.503
Sig. (2-tailed)		0.999	0.802	0.962

Berdasarkan hasil uji kolmogorov smirnov pada tabel (2), diperoleh nilai signifikansi $P = 0.999$ (kontrol), 0.802 (Asam Mefenamat) dan 0.962 (Nimesulide). Dari hasil tersebut disimpulkan bahwa nilai $P > 0.05$, sehingga dapat dinyatakan bahwa hipotesis (H_0) diterima., yang berarti bahwa data-data tersebut berdistribusi normal.

Tabel 3. Hasil uji homogenitas kelompok perlakuan dan kelompok kontrol

Levene statistic	Df1	Df2	Sig
.516	2	21	.605

Keterangan:

- Levene statistic : taraf kepercayaan
- Df1 : standart error
- Df2 : derajat bebas
- Sig : probabilitas



Berdasarkan pada uji statistik homogenitas (tabel 3) pada perlakuan 24 mencit, diketahui pada tabel 3 diatas, nilai $P = 0,605$ berarti $P > 0,05$ maka dapat dinyatakan bahwa Hipotesis (H_0) diterima. Dari hasil uji tersebut diatas berarti ragam dari semua perlakuan adalah sama (homogen). Selanjutnya dilakukan uji Anova satu arah dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0.05$) untuk mengetahui kemaknaan dari tiap kelompok perlakuan, hasil uji tersebut ditunjukkan pada tabel (4). Uji analisa varian satu arah didapatkan melalui perhitungan dengan menggunakan rumus analisa varian yang ditunjukkan pada lampiran (2).

Tabel 4. Hasil Uji Anova Satu Arah pada kelompok perlakuan dan kontrol

	Sum of squares	df	Mean squares	F	Sig
Between Groups	1674.083	2	837.042	14.304	.000
Within Groups	1228.875	21	58.518		
Total	2902.958	23			

Keterangan :

- Sum of square : jumlah kuadrat
- Df : derajat bebas
- Mean square : kuadrat tengah
- Sig : probabilitas

Berdasarkan hasil perhitungan uji statistic Anova satu arah (tabel 4)) diperoleh $P = 0.000$ yang berarti $P < 0,05$ maka hipotesis (H_0) ditolak. Dari hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan terhadap perubahan jumlah PMN. Setelah dilakukan uji Anova satu arah maka selanjutnya dilakukan uji statistik Tukey HSD untuk mengetahui perbandingan antara rata-rata antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lain bermakna atau tidak. Uji Tukey HSD menggunakan rumus yang ditunjukkan pada lampiran (2). Hasil uji tersebut disajikan dalam tabel (5).

Tabel 5. Uji Tukey HSD pada ketiga kelompok perlakuan terhadap jumlah PMN

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig	95% confidence interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Asam	4.0000	3.8248	.557	-5.6408	13.6408
	Mefenamat					
	Nimesulide	19.3750*	3.8248	.000	9.7342	29.0158
Asam Mefenamat	Kontrol	-4.0000	3.8248	.557	-13.6408	5.6408
	Nimesulide	15.3750*	3.8248	.002	5.7342	25.0158
Nimesulide	Kontrol	-19.3750*	3.8248	.000	-29.0158	-9.7342
	Asam Mefenamat	-15.3750*	3.8248	.002	-25.0158	-5.7342

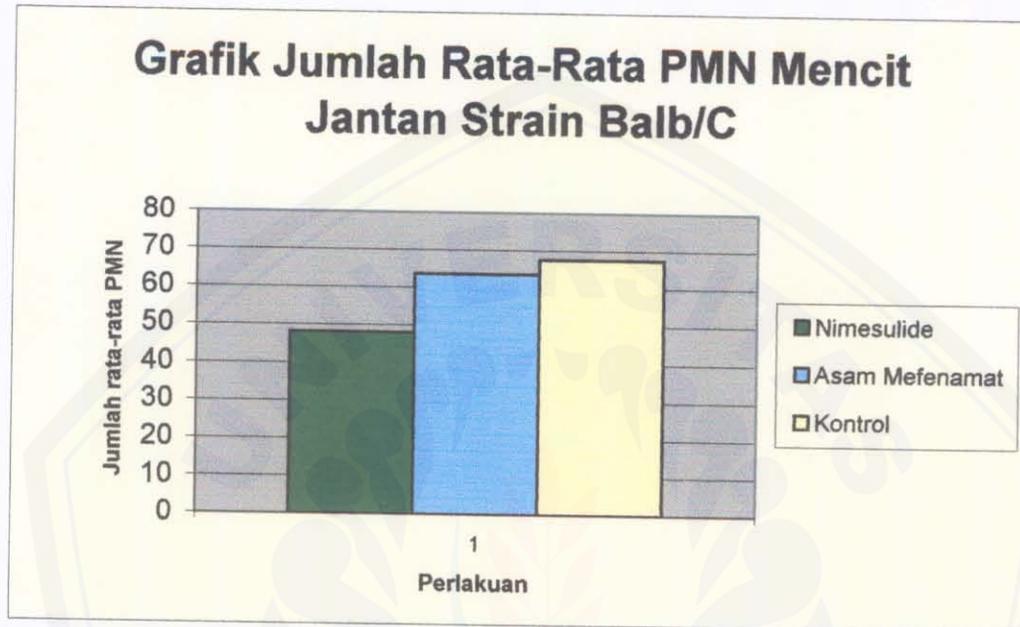
Keterangan : * = berbeda nyata (signifikan)

Dari tabel (5) dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok Nimesulide, dimana jumlah rata-rata PMN pada kelompok kontrol lebih besar dari kelompok Nimesulide.
2. terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Asam Mefenamat dengan kelompok Nimesulide, dimana jumlah rata-rata PMN pada kelompok Asam Mefenamat lebih besar dari kelompok Nimesulide.
3. terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok Nimesulide dengan kelompok perlakuan yang diberi Asam Mefenamat dan kelompok kontrol, dimana jumlah rata-rata PMN pada kelompok Nimesulide lebih kecil dari kelompok Asam Mefenamat dan kontrol.

Perbedaan jumlah rata-rata PMN juga dapat dilihat pada grafik 1 dibawah ini :

Grafik 1. Jumlah rata-rata PMN Mencit



BAB V PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) antara kelompok perlakuan (Nimesulide dan Asam Mefenamat) dengan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dengan Nimesulide memperlihatkan penurunan jumlah PMN yang lebih besar dibanding pada kelompok perlakuan dengan Asam Mefenamat. Sedangkan jumlah PMN terbesar terdapat pada kelompok kontrol. Adapun penurunan jumlah PMN pada kelompok perlakuan disebabkan oleh adanya perbedaan kandungan zat anti radang pada obat-obatan tersebut yaitu Nimesulide dan Asam Mefenamat.

Tubuh kita mempunyai suatu sistem khusus untuk memberantas bermacam-macam bahan yang infeksius dan toksik. Leukosit merupakan unit yang mobil/aktif dari sistem pertahanan tubuh. Neutrofil adalah sel-sel matang yang dapat menyerang dan melumpuhkan bakteri, virus bahkan dalam darah sirkulasi. Neutrofil sewaktu memasuki jaringan sudah merupakan sel-sel matur yang dapat segera memulai fagositosis. Sebuah sel neutrofil dapat memfagosit 5 sampai 20 bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi inaktif dan mati (Guyton dan Hall, 1997).

Radang adalah respon terhadap cedera jaringan dan infeksi (Kee dan Hayes, 1996). Sedang menurut Robins dan Kumar (1995), radang ialah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas.

Menurut Katzung (1995) kerusakan sel yang menyertai peradangan menyebabkan pelepasan enzim lisosom dari leukosit melalui kerja membran sel, kemudian asam arakidonat dilepaskan dari senyawa *precursor* oleh *fosfolipase*. Enzim *siklooksigenase* mengubah asam arakidonat menjadi endoperoksida yang aktif secara biologis dan bermasa hidup singkat. Senyawa ini cepat diubah menjadi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan A₂. Prostaglandin dan prostasiklin bukan termasuk zat kemotaktik. Secara invitro adanya peningkatan pada prostasiklin dan prostaglandin dapat menyebabkan vasodilatasi, eritem dan

peningkatan aliran darah local sehingga migrasi fagosit termasuk PMN ke area radang semakin tinggi.

Lipooksigenase adalah enzim yang merubah asam arakidonat menjadi leukotrin. Leukotrin mempunyai efek kemotaktik yang kuat atas eosinofil, neutrofil dan makrofag. Perangsangan membran neutrofil menghasilkan rantai bebas yang memberi oksigen. Anion superoksida dibentuk oleh reduksi molecular yang bisa merangsang produksi molekul reaktif lainnya. Interaksi senyawa ini dengan asam arakidonat menghasilkan pembentukan senyawa kemotaktik sebagai mediator kimiawi yang dapat merangsang migrasi leukosit termasuk PMN ke area radang sehingga mengekalkan proses peradangan (Katzung, 1995).

Pada luka gores dapat menimbulkan rusaknya kontinuitas kulit dan robeknya pembuluh darah. Adanya kerusakan jaringan yang parah dapat menimbulkan reaksi peradangan, oleh sebab itu peningkatan jumlah PMN pada kelompok kontrol sangat besar karena adanya proses peradangan yang kekal akibat tidak adanya faktor yang dapat menekan proses peradangan.

Obat-obatan anti inflamasi non steroid (AINS) mempunyai sejumlah aktifitas biokimia. Dikatakan obat-obat tersebut menghambat pembentukan mediator peradangan (histamin, serotonin, prostaglandin dan kinin) dan mengurangi aktifitas protease peradangan. Obat-obat tersebut juga diyakini menghambat fosforilasi oksidatif oleh jaringan yang meradang (Hamor, 1996). Golongan obat ini menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin terganggu (Wilmana dalam Ganiswarna, 1997). Pada kelompok perlakuan (Nimesulide dan Asam Mefenamat) terdapat penurunan jumlah PMN secara bermakna oleh karena pada mencit diberi obat-obatan anti inflamasi untuk menghambat enzim siklooksigenase sehingga migrasi sel radang menurun dan pada akhirnya terjadi penurunan jumlah PMN.

Pada kelompok perlakuan dengan Nimesulide, penurunan jumlah PMN sangat besar dibanding perlakuan dengan Asam Mefenamat. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan sulfonanilide pada struktur kimia Nimesulide yang membedakannya dengan obat-obatan lain di kelasnya. Kerja Nimesulide adalah menginhibisi sintesis prostaglandin sebagai akibat dari blokade enzim

siklooksigenase. Nimesulide juga meninhibisi produk radikal bebas oksigen monochloramin dan asam hipochlorus yang terbentuk dari pengaktifan neutrofil dan sel-sel radang lain. Nimesulide berperan pada penghambatan pelepasan histamin dari mast sel dan basofil serta produksi PAF (*Platelet Activating Factor*) dari neutrofil (Kulkarni, 2000). Hal inilah yang menyebabkan rendahnya jumlah PMN pada hapusan darah mencit.

Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan pemberian Asam Mefenamat, jumlah PMN juga mengalami penurunan. Namun terdapat perbedaan yang cukup signifikan dalam hal jumlah, jika dibandingkan dengan Nimesulide. Penurunan jumlah PMN pada kelompok ini cenderung lebih kecil. Hal ini disebabkan karena obat jenis ini mempunyai efektifitas anti inflamasi yang lebih rendah.

Seperti golongan AINS lainnya mekanisme kerja Asam Mefenamat terjadi dengan jalan menghambat kerja enzim siklooksigenase dalam sintesa prostaglandin, sehingga produksi prostaglandin menurun; akibatnya reaksi inflamasi atau stimulasi nyeri akan berkurang (Ahaditomo dalam Farida, 1991). Akan tetapi Asam Mefenamat diserap relatif lambat sehingga kadar maksimum dalam darah dicapai dalam dua sampai empat jam. Zat tersebut sangat kuat terikat pada protein plasma. Hasil metabolisme utama berasal dari langkah oksidasi gugus 3' metil, mula-mula terbentuk alkohol kemudian gugus karboksil membentuk diasid. Diasid bebas ini dan ester glukoronida dari Asam Mefenamat yang labil terhadap alkali serta dua senyawa hasil oksidasi merupakan produk ekskresi metabolisme utama. Namun senyawa-senyawa tersebut tidak mempunyai aktifitas analgesik dan anti radang yang berarti (Hamor, 1996). Oleh karena kandungan anti radang yang lebih rendah sehingga Asam Mefenamat paling banyak digunakan di Indonesia terutama sebagai analgetik.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Nimesulide merupakan obat golongan AINS yang lebih baik dalam mengatasi peradangan dibanding Asam Mefenamat. Terlihat dengan penurunan jumlah PMN yang lebih besar dibanding pada Asam Mefenamat. Selain itu Nimesulide juga mempunyai resiko yang rendah terhadap terjadinya lesi gastroduodenal. Hal ini terbukti pada penelitian

Simandjuntak (2000) yang menyatakan bahwa Nimesulide bekerja lebih cepat dan lama dibandingkan Asam Mefenamat, serta mempunyai aktifitas menurunkan rasa sakit yang lebih baik.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang perbedaan pengaruh obat anti inflamasi antara Nimesulide dan Asam Mefenamat terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) darah tepi pada respon radang luka gores mencit jantan strain Balb/C dapat disimpulkan bahwa Nimesulide mempunyai pengaruh yang lebih besar terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear neutrofil (PMN) pada darah tepi mencit jantan strain Balb/C dibanding Asam mefenamat. Hal ini disebabkan adanya kandungan sulfonanilide pada Nimesulide yang membedakannya dengan AINS lain. Oleh karena itu Nimesulide lebih efektif dalam menghambat proses peradangan di banding Asam mefenamat.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengaruh obat anti inflamasi Nimesulide dan Asam mefenamat terhadap jumlah mediator sel radang yang lain.
2. Perlu disampaikan tentang keuntungan dan kerugian dari penggunaan obat-obatan anti inflamasi Nimesulide dan Asam Mefenamat kepada masyarakat dan para tenaga kesehatan lain yang menggunakannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1998. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Autherhoff, H. dan K. Artorkovar. 1997. *Identifikasi Obat*. Bandung : Penerbit ITB.
- Baker, H. J. R. Lindsey, S. H. Weisbroth. 1979. *The Laboratory Rat*. Vol. I. London : Academic Press.
- Doerge, R. F. 1990. *Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi Dan Medisinal Organik*. Edisi VIII. Jakarta : Penerbit EGC.
- Eveline, J. dkk. 2002. *Petunjuk Praktikum Patologi Klinik*. Jember : Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Farida, N. 1991. *Monitoring Mutu Kapsul Asam Mefenamat yang Beredar di Surabaya*. Surabaya : Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Furqon. 2002. *Statistika Terapan Untuk Penelitian*. Bandung : PT. ALFABETA.
- Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta : Gaya Baru.
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta : Penerbit EGC.
- Hamor, G. H. 1996. *Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal*. Edisi II. Yogyakarta : Gajah Mada.
- Higgins, J. E. dan K. Baum. 1985. *Introduction to Randomized Clinical Trials Family Health International*. North Caroline.
- Informasi Spesialite Obat Indonesia. 2000. *ISO Indonesia Edisi Farmakoterapi*. Jakarta : PT. Anem Kosong Anem (AKA).
- Katzung, B. G. 1995. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 3. Jakarta : Penerbit EGC.
- Kulkarni, S. K. 2002. On The Safety of Nimesulide, a Preferential COX-2 Inhibitor. Dalam *Current Science*. Volume 83. No. 12.
- Kee, J. dan E. R. Hayes. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. Edisi I. Jakarta : Penerbit EGC.

- MIMS. 2002. *IIMS Indonesia*. Volume 31. Nomor 2. Jakarta : PT. Info Master.
- Nasir, M. 1999. *Metode Penelitian*. Jakarta : Ghalia Indonesia.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi revisi. Jakarta : PT Asdi Mahasatya.
- Nugroho, D. 2002. Anti Inflamasi Non Steroid Penghambat Siklooksigenase-2 Sebagai Analgesik Dan Anti Inflamasi Yang Aman. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi*. Edisi khusus FORIL. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- Paget, G and Barnes, JM. 1964. Toxicity Test in. Laurence, DR and Bacharah, Al. *Evaluation Drug Activities : Pharmacometries*. Volume I. London : Academia Press.
- Robbins, S. L. dan K. Vinay. 1995. *Buku Ajar Patologi I*. Edisi 4. Jakarta : Penerbit EGC.
- Santoso, S. 2004. *Buku Latihan SPSS Statistik Parametrik*. Jakarta : PT. Elex Media Komputindo
- Simandjuntak, R. M . 2001. Uji banding Efek Analgesik Antara Nimesulide Dengan Asam Mefenamat Pada Pasca Odontektomi Molar Ketiga Impaksi. *Majalah Kedokteran Gigi Dental Jurnal*. Vol. 34. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Hal: 481-483.
- Soekardjo, S. B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.

Lampiran 1

Perhitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus (Steel dan Torie, 1995) sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2} \right]$$

keterangan :

n = Besar Sampel Minimal

$Z\alpha$ = Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1.96).

$Z\beta$ = Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0.85).

$\sigma\rho^2$ = Diasumsikan $\sigma\rho^2 (2\delta^2)$

α = Tingkat signifikan (0.20)

β = 0.20

ρ = Persentase taksiran hal yang akan diteliti (0.8)

maka hasil penghitungan besar sampel adalah sebagai berikut :

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2} \right] = \left[\frac{(1.96 + 0.85)^2 2\delta^2}{\delta^2} \right] = 2,81^2 = 7.8961 = 8$$

Jadi besar sampel minimal berdasarkan perhitungan adalah 8 sampel untuk masing-masing kelompok.

Lampiran 2

**Rumus Tabel Analisa Varians
(ANOVA)**

Sebelum membuat tabel analisa varians, perlu dilakukan perhitungan terlebih dahulu dengan menggunakan rumus ANOVA (Nasir, 1999) berikut ini :

- Hitung *correction factor* :

$$CF = \frac{(\sum T_j)^2}{n}$$

di mana : CF = faktor koreksi (*Correction factor*)

$\sum T_j$ = total nilai pengamatan (nilai variabel)

n = total anggota sampel (besar sampel)

- Hitung *sums square total* :

$$SS_T = \sum (X_{ij})^2 - CF$$

di mana : SS_T = *sumsquare total*

X_{ij} = nilai pengamatan i dari sampel j

- Hitung *sumsquare antar perlakuan* :

$$SS_p = \frac{(T_1)^2}{n_1} + \frac{(T_2)^2}{n_2} + \dots + \frac{(T_j)^2}{n_j} + \dots + \frac{(T_k)^2}{n_k} - CF$$

$$SS_p = \sum \frac{(T_j)^2}{n_j} - CF$$

di mana : T_j = total nilai sampel j

n_j = besar sampel j

SS_p = *sumsquare antar perlakuan*

- Hitung *Sumsquare error* :

$$SS_E = SS_T - SS_p$$

di mana : SS_E = *sumsquare error*

SS_T = *sumsquare antar perlakuan*

SS_E = *sumsquare total*

Lampiran 2 (lanjutan)

- Tentukan *degree of freedom* :

$$DF_P = k - 1$$

$$DF_T = n - 1$$

$$DF_E = DF_T - DF_P$$

di mana : DF_P = *degree of freedom* antar perlakuan

DF_T = *degree of freedom* total

DF_E = *degree of freedom* error

n = jumlah anggota total sampel

k = jumlah perlakuan

- Hitung mean square :

$$MS_P = \frac{SS_P}{DF_P}$$

$$MS_E = \frac{SS_E}{DF_E}$$

di mana : MS_P = *meansquare* antar perlakuan

MS_E = *meansquare* error

DF_P = *degree of freedom* antar perlakuan

DF_E = *degree of freedom* error

- Hitung harga statistik F, yaitu :

$$F = \frac{MS_P}{MS_E}$$

di mana : MS_P = *mean square* antar perlakuan

MS_E = *mean square* error

F = statistik F



Lampiran 2 (lanjutan)

Semua perhitungan disingkat dalam sebuah tabel yang dinamakan Tabel Analisa Varians (ANOVA) berikut ini :

Tabel Analisa Varians (ANOVA) Desain Randomisasi Lengkap

Sumber Variasi	DF	SS	MS	Sig
Between groups (antar perlakuan)	$k - 1$	SS_p	$\frac{SS_p}{k - 1}$	$\frac{MS_p}{MS_E}$
Within groups (error)	$(n - k) - (k - 1)$	SS_E	$\frac{SS_E}{(n - k) - (k - 1)}$	
Total	$n - k$	SS_T	$\frac{SS_T}{n - k}$	

Lampiran 3

DATA HASIL PENELITIAN

Tabel jumlah PMN pada perlakuan dengan Nimesulide

MENCIT	NIMESULIDE
1	51
2	51
3	56
4	48
5	50
6	47
7	45
8	37
RATA-RATA	48,12

Tabel jumlah PMN pada perlakuan dengan Asam Mefenamat

MENCIT	ASAM MEFENAMAT
1	63
2	65
3	53
4	64
5	50
6	64
7	77
8	72
RATA-RATA	63,5

Lampiran 3 (lanjutan)

Tabel jumlah PMN pada kelompok kontrol

MENCIT	KONTROL
1	71
2	60
3	79
4	76
5	54
6	65
7	68
8	67
RATA-RATA	67,5

Uji Normalitas Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol	8	67.5000	8.1240	54.00	79.00
Asam Mefenamat	8	63.5000	8.8641	50.00	77.00
Nimesulide	8	48.1250	5.5662	37.00	56.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol	Asam Mefenamat	Nimesulide
N		8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	67.5000	63.5000	48.1250
	Std. Deviation	8.1240	8.8641	5.5662
Most Extreme Differences	Absolute	.129	.228	.178
	Positive	.100	.183	.178
	Negative	-.129	-.228	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.365	.643	.503
Asymp. Sig. (2-tailed)		.999	.802	.962

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Varian

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Segmen	Kontrol	8	100.0%	0	.0%	8	100.0%
	Asam Mefenamat	8	100.0%	0	.0%	8	100.0%
	Nimesulide	8	100.0%	0	.0%	8	100.0%

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Segmen	Based on Mean	.516	2	21	.604
	Based on Median	.468	2	21	.633
	Based on Median and with adjusted df	.468	2	18.523	.634
	Based on trimmed mean	.516	2	21	.605

Oneway

Descriptives

Segmen

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	8		
Asam Mefenamat	8	63.5000	8.8641	3.1339	56.0895	70.9105	50.00	77.00
Nimesulide	8	48.1250	5.5662	1.9679	43.4716	52.7784	37.00	56.00
Total	24	59.7083	11.2346	2.2932	54.9644	64.4523	37.00	79.00

ANOVA

Segmen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1674.083	2	837.042	14.304	.000
Within Groups	1228.875	21	58.518		
Total	2902.958	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Segmen

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	Asam Mefenamat	4.0000	3.8248	.557	-5.6408	13.6408
	Nimesulide	19.3750*	3.8248	.000	9.7342	29.0158
Asam Mefenamat	Kontrol	-4.0000	3.8248	.557	-13.6408	5.6408
	Nimesulide	15.3750*	3.8248	.002	5.7342	25.0158
Nimesulide	Kontrol	-19.3750*	3.8248	.000	-29.0158	-9.7342
	Asam Mefenamat	-15.3750*	3.8248	.002	-25.0158	-5.7342

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Segmen

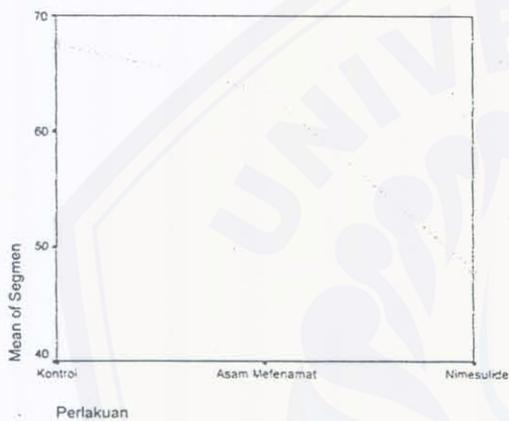
Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Nimesulide	8	48.1250	
Asam Mefenamat	8		63.5000
Kontrol	8		67.5000
Sig.		1.000	.557

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Means Plots

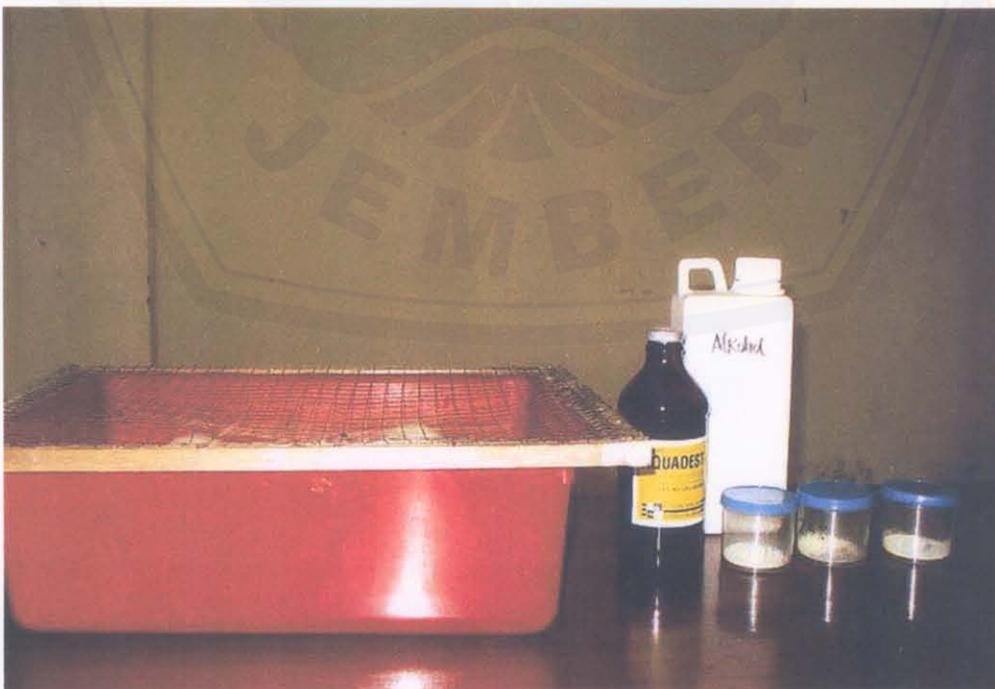


Lampiran 5

FOTO PELAKSANAAN PENELITIAN

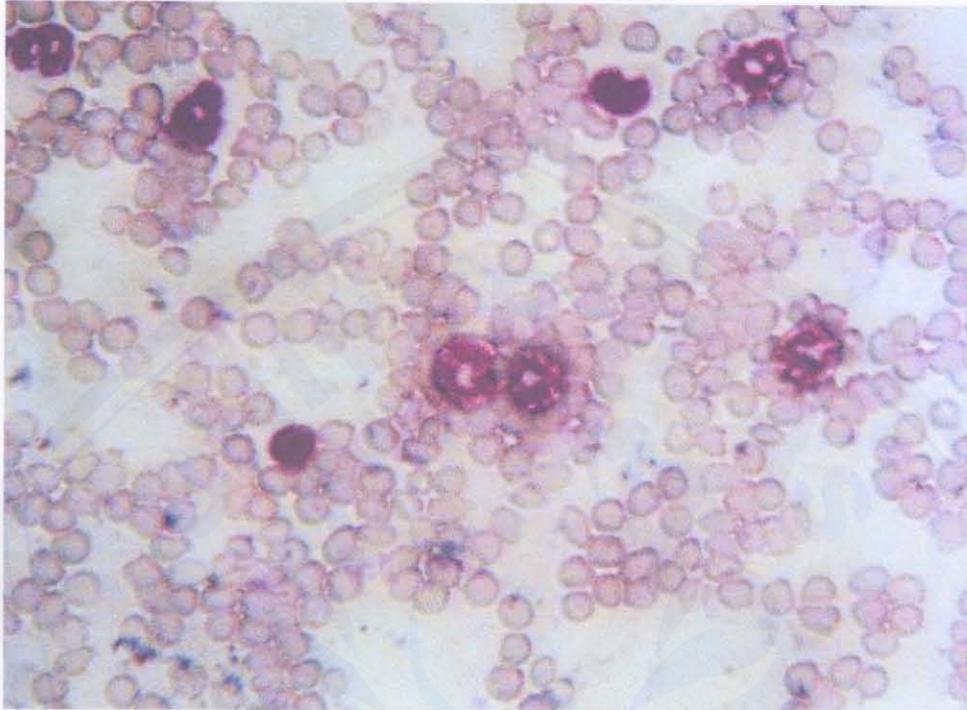


Gambar 1. Alat dan Bahan penelitian

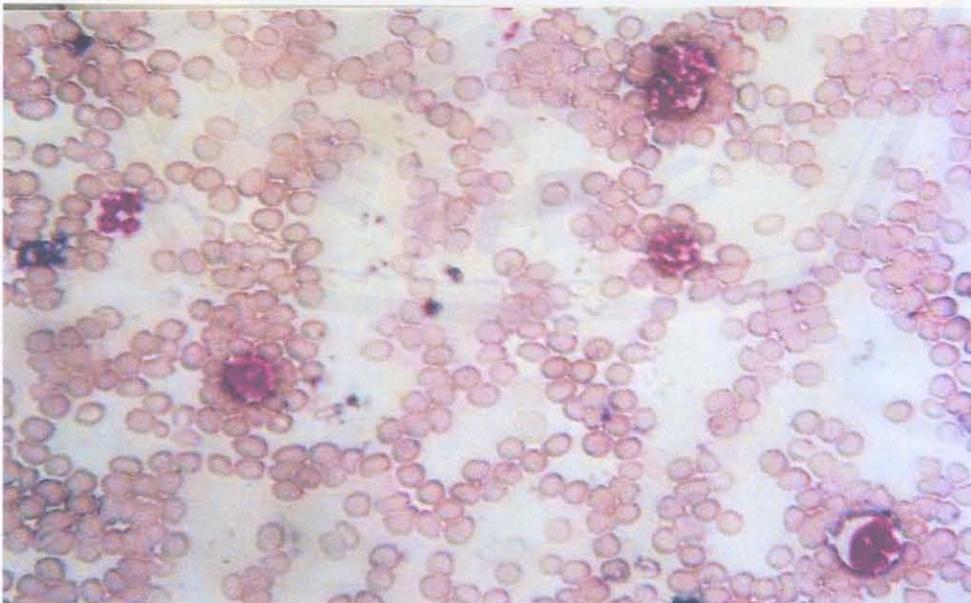


Gambar 2. Alat dan Bahan penelitian

Lampiran 5 (lanjutan)



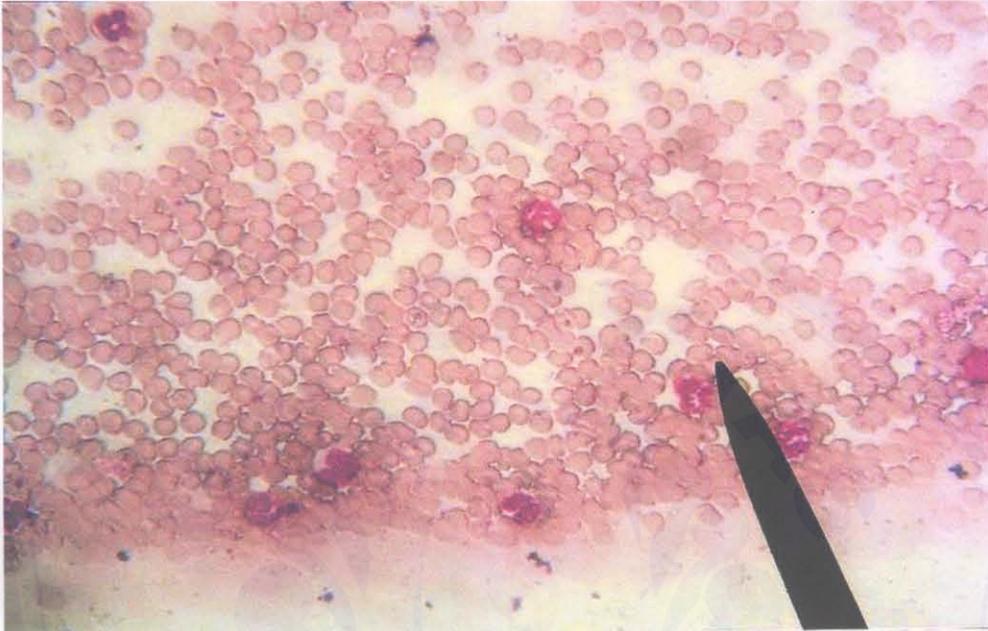
Gambar 3. Hapusan darah mencit pada kelompok Nimesulide



Gambar 4. Hapusan darah mencit pada kelompok Asam Mefenamat



Lampiran 5 (lanjutan)



Gambar 5. Hapusan darah mencit pada kelompok kontrol

JEMBER