



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) DAN DAUN SIDAGURI  
(*Sida rhombifolia* L.) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL TIKUS YANG  
DIINDUKSI KARAGENIN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Aulia Putri Kandy  
NIM 122210101063**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) DAN DAUN SIDAGURI  
(*Sida rhombifolia* L.) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL TIKUS YANG  
DIINDUKSI KARAGENIN**

**SKRIPSI**

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

Oleh

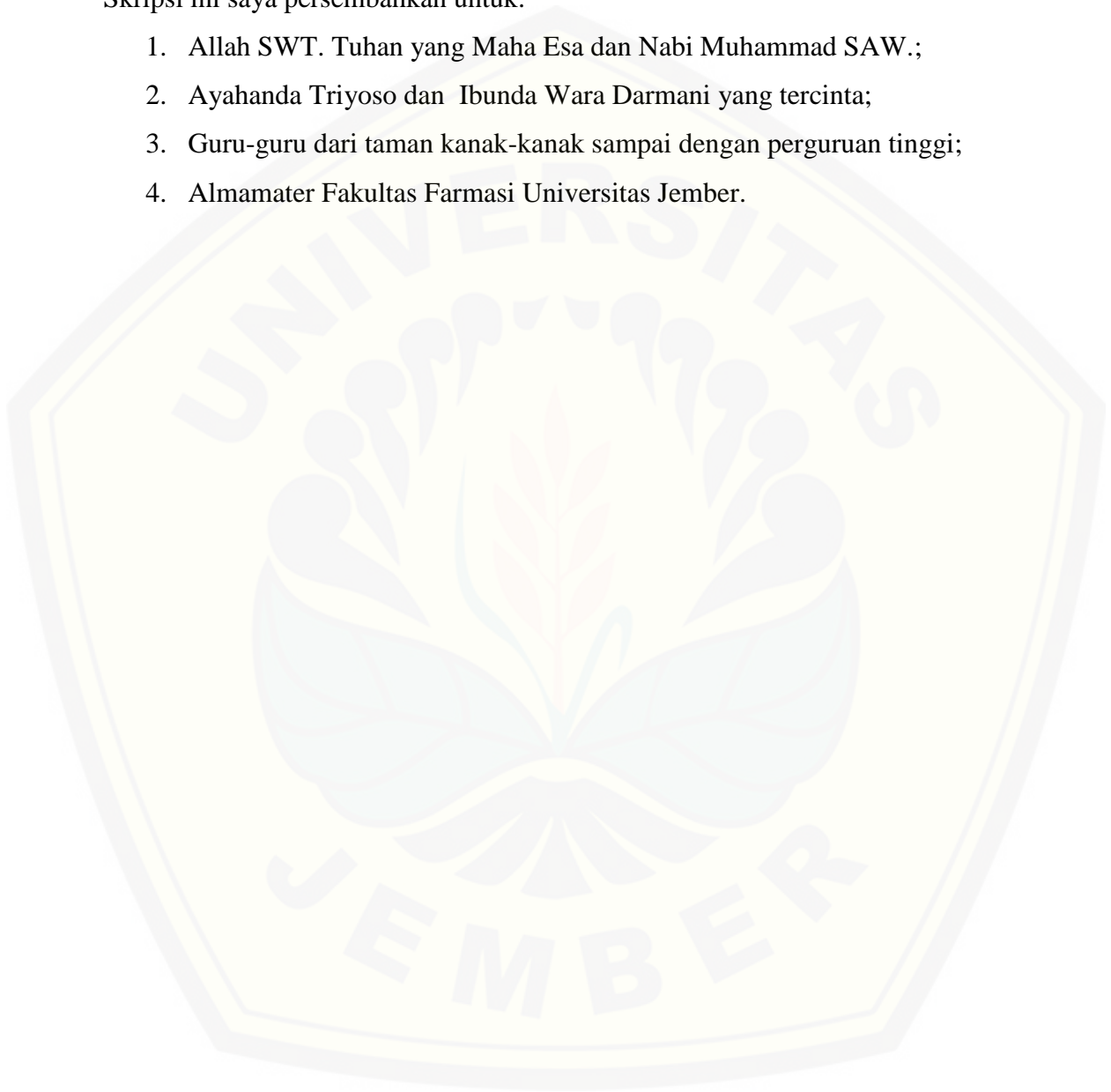
**Aulia Putri Kandy  
NIM 122210101063**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. Tuhan yang Maha Esa dan Nabi Muhammad SAW.;
2. Ayahanda Triyoso dan Ibunda Wara Darmani yang tercinta;
3. Guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



## MOTO

Bermimpilah, karena Tuhan akan memeluk mimpi-mimpi itu (Andrea Hirata)<sup>\*)</sup>

Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan (terjemahan Q.S. *Al – Insyirah* ayat 5)<sup>\*\*)</sup>

Hal yang paling penting adalah milikilah mimpi dan berusaha mewujudkannya.  
Jangan pernah berputus asa dalam mencari rahmat Allah SWT. (Lisman Suryanegara)<sup>\*\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Hirata, Andrea. 2006. *Sang Pemimpi*. Yogyakarta: Penerbit Bentang.

<sup>\*\*)</sup> Terjemahan Al-Quran surat Al-Insyirah Ayat 5.

<sup>\*\*\*)</sup> Suryanegara *et al.* 2011. *La Tahzan for Student*. Jakarta: PT. Lingkar Pena Kreativa

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Aulia Putri Kandy

NIM : 122210101063

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Jumlah Neutrofil Tikus yang Diinduksi Karagenin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi 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 ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Mei 2016  
Yang menyatakan,

Aulia Putri Kandy  
NIM 122210101063

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) DAN DAUN SIDAGURI  
(*Sida rhombifolia* L.) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL TIKUS YANG  
DIINDUKSI KARAGENIN**

Oleh

Aulia Putri Kandy

NIM 122210101063

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Siti Muslichah S. Si., M. Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Jumlah Neutrofil Tikus yang Diinduksi Karagenin” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 25 Mei 2016

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Siti Muslichah S. Si., M. Sc., Apt.  
NIP.197305132005012001

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP.198107232006042002

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP.198404062009122008

Indah Yulia Ningsih S.Farm., Apt., M.Farm.  
NIP.198407122008122002

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.  
NIP. 197604142002122001

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Jumlah Neutrofil Tikus yang Diinduksi Karagenin;** Aulia Putri Kandy, 122210101063; 2016: 63 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Inflamasi merupakan suatu mekanisme proteksi tubuh terhadap gangguan dari luar atau infeksi, akan tetapi inflamasi juga menjadi sebab timbulnya gangguan pada berbagai penyakit seperti rematik, asma, *inflammatory bowel disease*, bahkan kanker. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan penanda adanya proses inflamasi karena neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini yang bermigrasi ke jaringan dan puncaknya terjadi pada 6 jam pertama inflamasi. Tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan tanaman sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) telah dikenal oleh masyarakat sebagai agen antiinflamasi dalam ekstrak tunggalnya, namun belum ada penelitian yang mengkombinasikan keduanya sebagai agen antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak tanaman jahe merah dan daun sidaguri terhadap jumlah sel neutrofil, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi antiinflamasi dan mengetahui perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal jahe merah atau sidaguri, kombinasi kedua ekstrak pada berbagai dosis, dan kontrol positif.

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan model inflamasi akut yang diinduksi karagenin. Hewan uji diberikan variasi dosis ekstrak jahe merah dan daun sidaguri untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi paling optimal setelah diberikan kombinasi ekstrak yang ditinjau dari jumlah sel neutrofil pada sediaan hapus darah. Sampel darah di ambil dari ekor tikus sebanyak tiga kali yaitu pada jam ke-0 (t<sub>0</sub>), tiga jam setelah disuntik karagenin (t<sub>3</sub>), dan tiga jam setelah t<sub>3</sub> (t<sub>6</sub>) untuk melihat



jumlah neutrofil sebelum dan sesudah perlakuan. Masing-masing sampel darah pada tiap waktu kemudian dibuat sediaan hapusan darah dengan pengecatan Giemsa sesaat setelah pengambilan darah untuk dilakukan perhitungan neutrofil. Jumlah neutrofil didapat dengan menghitung setiap 100 sel leukosit dengan menjumlahkan neutrofil batang dan segmen. Data tersebut kemudian dijumlah dan dibuat rata-rata pada masing-masing kelompok, selanjutnya dihitung penurunan jumlah neutrofil pada waktu t3 dan t6 (t3-t6) tiap kelompok untuk uji statistik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol jahe merah dan daun sidaguri dosis 14 mg/200 g BB dan 160 mg/200 g BB (1:2) dan kombinasi ekstrak etanol jahe merah dan daun sidaguri dosis 28 mg/200 g BB dan 80 mg/200 g BB (2:1) mempengaruhi jumlah sel neutrofil sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi antiinflamasi. Kombinasi ekstrak etanol jahe merah dosis 14 mg/200 g BB dan ekstrak daun sidaguri dosis 160 mg/200 g BB memiliki penurunan jumlah neutrofil terbesar dibandingkan seluruh kelompok kombinasi dan ekstrak tunggalnya namun lebih rendah dari kontrol positif (Na diklofenak).

Senyawa gingerol dan shogaol pada jahe bertanggung jawab pada aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan spesifik pada siklooksigenase-2 (COX-2). Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sidaguri ialah alkaloid dan ecdysteroid yang berperan dalam penghambatan biosintesis prostaglandin dengan mengblok siklooksigenase. Senyawa aktif  $\beta$ -sitosterol pada tanaman sidaguri juga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Senyawa lain yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi dalam daun sidaguri adalah flavonoid dan saponin.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Jumlah Neutrofil Tikus yang Diinduksi Karagenin”. 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., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Bapak Bawon Triatmoko S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., 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. Ibu Indah Yulia N., S.Farm., Apt., M.Farm. dan Ibu Fransiska Maria C., 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 Biomedik dan Fitokimia Mbak Dini, Mbak Indri, Ibu Widi, dan Mbak Anggra yang telah memberikan kemudahan dalam hal penggunaan alat dan bahan untuk keperluan penelitian;
7. Ayahanda Triyoso, Ibunda Wara Darmani, Saudaraku Alif Chatra Putu Kandy dan Adib Dio Putu Kandy, serta keluarga tercinta 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. Sahabat Mohamad Heri Sukantara, Meszieshan Pienasthika, Junti Rosa Veryani, Tiara Febrianing Pratiwi, Bannan Muthi'atul A yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan dan dukungan yang tak pernah putus selama ini;
9. Teman-teman seperjuangan penelitian sekaligus sahabat "Sekawan" Khurmatul Walidah T. A, Ika Nur Masruroh, Kinanthi Putri Rizki, Siti Rohmatilah, dan Hawwin Elina A yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
10. Sahabat Hidayah Dwi R, Galuh Sinoarsih, Nora Putri N, Novia Hilma, Putu Argianti yang selalu memberikan bantuan, semangat, dan motivasi dalam mencapai cita-cita;
11. Teman-teman sekaligus Keluarga Pelita Masfiyah, mbak Fiya, Mbak Adnine, Mbak Rifa, Mbak Istiqomah, Mbak Yuli, Mas Dani, Mas Kusnandar, Dista, Septian, Tri Puji, Lianti, Mariyam, Ulfatu, Arma, Kenit, Arif J, Arif W, Arzaky, Alfian, Hendra, Raka, Aris terimakasih telah memberikan pengalaman berorganisasi, keceriaan, dan semangat dalam mengejar mimpi;
12. Keluarga Besar Petruk Rolas Fakultas Farmasi UNEJ 2012 yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan perhatian selama penulis berjuang menempuh perkuliahan dan penelitian;
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, Mei 2016

Penulis



DAFTAR ISI

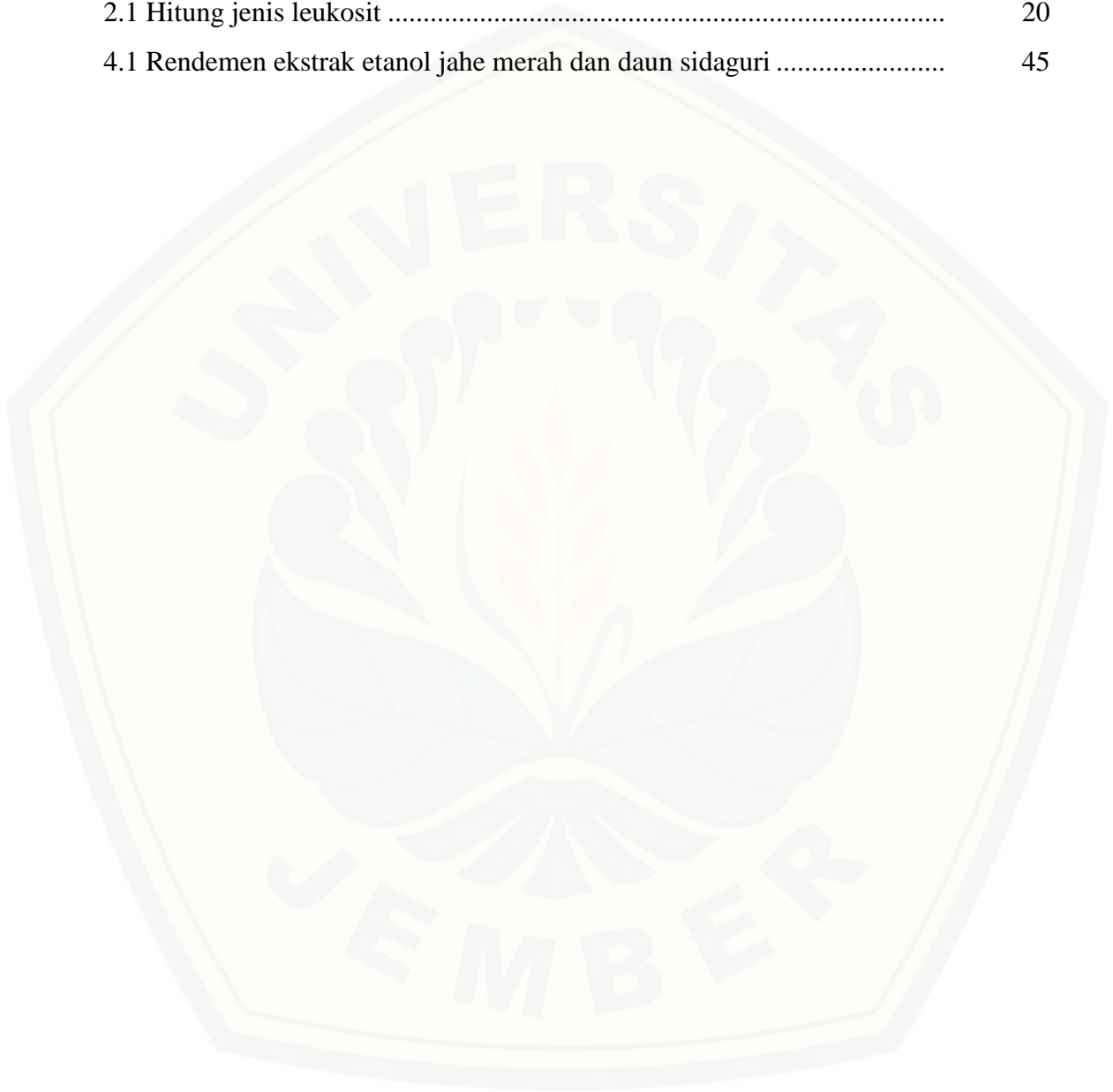
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat</b> .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Tanaman Jahe Merah</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	<b>5</b>
2.1.2 Deskripsi Tanaman.....	<b>6</b>
2.1.3 Kandungan Kimia .....	<b>7</b>
2.1.4 Penelitian yang Telah Dilakukan .....	<b>8</b>
<b>2.2 Tinjauan tentang Tanaman Sidaguri</b> .....	<b>9</b>

2.1.1	Klasifikasi .....	9
2.1.2	Deskripsi Tanaman.....	9
2.1.3	Kandungan Kimia .....	10
2.1.4	Penelitian yang Telah Dilakukan .....	11
<b>2.3</b>	<b>Kombinasi Ekstrak Jahe Merah dan Sidaguri .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4</b>	<b>Tinjauan tentang Inflamasi .....</b>	<b>13</b>
2.4.1	Definisi Inflamasi.....	13
2.4.2	Jenis Inflamasi.....	14
2.4.3	Mekanisme Migrasi Leukosit pada Inflamasi .....	16
2.4.4	Tanda-tanda Inflamasi.....	17
2.4.5	Metode Uji Antiinflamasi .....	18
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan tentang Leukosit.....</b>	<b>19</b>
2.5.1	Jenis-jenis Leukosit.....	20
2.5.2	Hitung Jenis Leukosit.....	24
<b>2.6</b>	<b>Tinjauan tentang Obat Antiinflamasi.....</b>	<b>26</b>
2.6.1	Obat Antiinflamasi Non-steroid (AINS).....	26
2.6.2	Obat Antiflamasi Steroid.....	28
2.6.3	Tinjauan tentang Na diklofenak .....	30
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>32</b>
<b>3.3</b>	<b>Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	<b>32</b>
3.3.1	Bahan.....	32
3.3.2	Alat.....	33
<b>3.4</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>33</b>
3.4.1	Variabel Bebas .....	33
3.4.2	Variabel Terikat .....	33
3.4.3	Variabel Terkendali.....	34

<b>3.5 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>34</b>
<b>3.6 Definisi Operasional .....</b>	<b>36</b>
<b>3.7 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>37</b>
3.7.1 Penyiapan Hewan Uji.....	37
3.7.2 Penyiapan Simplisia Uji.....	37
3.7.3 Pembuatan Ekstrak.....	38
3.7.4 Penetapan Dosis Hewan Uji.....	38
3.7.5 Pembuatan Kombinasi Ekstrak .....	39
3.7.6 Pembuatan Larutan CMC 1% .....	39
3.7.7 Pembuatan Suspensi Na diklofenak.....	40
3.7.8 Pembuatan Suspensi Karagenin 1% .....	40
3.7.9 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi .....	40
3.7.10Prosedur Perhitungan Neutrofil.....	41
<b>3.8 Analisis Data .....</b>	<b>42</b>
<b>3.9 Skema Kerja.....</b>	<b>44</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Hasil Determinasi Tanaman Jahe Merah dan Sidaguri...</b>	<b>45</b>
<b>4.2 Ekstraksi Jahe Merah dan Daun Sidaguri .....</b>	<b>45</b>
<b>4.3 Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Jahe Merah dan Daun Sidaguri.....</b>	<b>45</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>55</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>55</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>64</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Hitung jenis leukosit .....	20
4.1 Rendemen ekstrak etanol jahe merah dan daun sidaguri .....	45





**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Morfologi tanaman jahe merah .....	6
2.2 Morfologi tanaman sidaguri.....	10
2.3 Reaksi vaskular dan selular pada inflamasi akut.....	15
2.4 Mekanisme migrasi leukosit dalam pembuluh darah.....	17
2.5 Morfologi jenis sel leukosit pada preparat darah apus.....	23
2.6 Biosintesis prostaglandin .....	27
2.7 Struktur kimia Na diklofenak.....	30
3.1 Rancangan penelitian .....	34
3.2 Alur uji antiinflamasi .....	44
4.1 Hapusan darah pada kelompok kontrol dengan pengecatan Giemsa pembesaran 1000x jam ke-6 (t6).....	47
4.2 Hapusan darah pada kelompok perlakuan dengan pengecatan Giemsa pembesaran 1000x jam ke-6 (t6).....	48
4.3 Jumlah neutrofil pada jam ke-0, ke-3, dan ke-6.....	49
4.4 Penurunan jumlah neutrofil tikus setelah diberikan perlakuan pada jam ke-3 dan ke-6 (t3-t6).....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Penentuan dosis ekstrak jahe merah dan ekstrak daun sidaguri.....	64
B. Hasil determinasi tanaman jahe merah.....	65
C. Hasil determinasi tanaman sidaguri.....	66
D. Perhitungan hitung jenis leukosit.....	67
E. Data perhitungan dan analisa data.....	68
F. Uji statistik penurunan jumlah neutrofil jam ke-3 dan jam ke-6.....	69

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu mekanisme proteksi tubuh terhadap gangguan dari luar atau infeksi (Wibowo dan Gofir, 2001). Akan tetapi inflamasi juga menjadi sebab timbulnya gangguan pada berbagai penyakit seperti rematik, asma, *inflammatory bowel disease* (dibedakan menjadi *Crohn's disease* dan *ulcerative colitis*), bahkan kanker. Data Riset Kesehatan Dasar (2013) menunjukkan bahwa kecenderungan prevalensi rematik di Indonesia tahun 2013 pada usia  $\geq 15$  tahun adalah 24,7 % sedangkan prevalensi asma dan kanker pada semua usia masing-masing 4,5 % dan 1,4 % per mil. Berdasarkan *Centers for Disease Control and Prevention* (2015), *Crohn's disease* terjadi pada 201 kasus tiap 100.000 orang dewasa dan *ulcerative colitis* terjadi 238 kasus tiap 100.000 orang dewasa. Prevalensi penyakit imun yang dimediasi oleh inflamasi pada masyarakat barat adalah sekitar 5-7% (Kuek *et al.*, 2007).

Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan penanda adanya proses inflamasi (Bain *et al.*, 2011) karena neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini yang bermigrasi ke jaringan dan puncaknya terjadi pada 6 jam pertama inflamasi (Baratawidjaja, 2010).

Golongan obat-obat antiinflamasi dibagi menjadi dua yaitu steroid dan non steroid. Pemakaian obat-obat tersebut mempunyai efek samping seperti iritasi gastrointestinal, kerusakan ginjal, diare, sakit kepala, depresi, pankreatitis, hiperglikemi, osteoporosis, hipertensi, dan terapi ini terkadang agresif dan tidak efektif dalam beberapa kasus (Dewi *et al.*, 2015), sehingga perlu dilakukan penelitian terapi alternatif yang memiliki efek samping obat ringan.

Salah satu strategi untuk pengembangan obat adalah penggunaan tanaman obat. Penggunaan bahan alam atau obat tradisional menjadi alternatif sebagai agen antiinflamasi (Wasito, 2011). Tanaman obat yang banyak digunakan sebagai agen antiinflamasi di antaranya tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan tanaman sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). Grzanna *et al.* (2005) menyatakan bahwa jahe merah dapat menekan sintesis prostaglandin dengan menghambat siklooksigenase (COX) dan menekan biosintesis leukotrien dengan menghambat 5-lipooksigenase. Menurut Bremeen *et al.* (2011), senyawa gingerol dan shogaol pada jahe bertanggung jawab pada aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan spesifik pada COX-2. Kitagata-cho (2007) melaporkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah dosis 50 dan 100 mg/kg BB pada mencit yang diinduksi asam asetat model inflamasi abdomen mampu menurunkan nyeri sampai 50%.

Tanaman sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) telah banyak digunakan secara tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit, diantaranya gout dan antiinflamasi (Iswantini *et al.*, 2009). Khalil *et al.* (2006) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak hidroalkohol daun sidaguri dosis 400 mg/kg mampu menghambat edema pada tikus yang diinduksi dengan karagenin 1%. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sidaguri ialah alkaloid dan ecdysteroid yang berperan dalam penghambatan biosintesis prostaglandin dengan mengeblok siklooksigenase (Sulaiman *et al.*, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gupta *et al.* (1980) bahwa senyawa aktif  $\beta$ -sitosterol pada tanaman sidaguri memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

Ditinjau dari uji praklinik tentang aktivitas antiinflamasi dari kedua tanaman, maka dapat dilakukan kombinasi antara tanaman jahe merah dan daun sidaguri sebagai suatu sediaan obat herbal untuk inflamasi. Formulasi polih herbal atau kombinasi ekstrak memiliki aktivitas farmakologi yang dapat bekerja sama secara dinamis untuk menghasilkan manfaat terapeutik maksimal dengan efek samping minimal (Barik, *et al.*, 2015), sehingga diharapkan kombinasi keduanya memiliki aktivitas antiinflamasi lebih besar daripada ekstrak tunggal.

Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antiinflamasi kombinasi ekstrak jahe merah dan daun sidaguri dengan model inflamasi akut yang diinduksi karagenin. Hewan uji diberikan variasi dosis ekstrak jahe merah dan daun sidaguri untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi paling optimal setelah diberikan kombinasi ekstrak yang ditinjau dari jumlah sel neutrofil pada sediaan hapus darah.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Apakah pemberian kombinasi ekstrak tanaman jahe merah dan daun sidaguri mempengaruhi jumlah sel neutrofil, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi antiinflamasi?
- b. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal jahe merah atau daun sidaguri, kombinasi kedua ekstrak pada berbagai dosis, dan kontrol positif?

## **1.3 Tujuan**

Penelitian ini memiliki tujuan antara lain:

- a. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak tanaman jahe merah dan daun sidaguri terhadap jumlah sel neutrofil, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi antiinflamasi.
- b. Mengetahui perbedaan aktivitas antiinflamasi ekstrak tunggal jahe merah atau sidaguri, kombinasi kedua ekstrak pada berbagai dosis, dan kontrol positif.

## **1.4 Manfaat**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Dapat memberikan kontribusi ilmu pengetahuan khususnya dalam dunia obat-obatan tradisional.

- b. Sebagai upaya untuk membantu masyarakat dan tenaga medis dalam memanfaatkan jahe merah dan sidaguri sebagai obat antiinflamasi alternatif.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Tanaman Jahe Merah

Jahe merupakan tanaman dari Asia Pasifik yang tersebar dari India sampai Cina. Rimpang jahe merupakan bahan baku obat tradisional yang cukup banyak digunakan. Jahe mempunyai kegunaan yang cukup beragam, antara lain sebagai rempah, minyak atsiri, pemberi aroma, ataupun sebagai obat (Bartley dan Jacobs, 2000). Secara tradisional, kegunaannya antara lain untuk mengobati penyakit rematik, asma, stroke, sakit gigi, diabetes, sakit otot, tenggorokan, kram, hipertensi, mual, demam, dan infeksi (Ali *et al.*, 2008). Berdasarkan bentuk, warna, dan ukuran rimpang, ada 3 jenis jahe yang dikenal, yaitu jahe putih besar atau jahe badak, jahe putih kecil atau emprit, dan jahe sunti atau jahe merah. Secara umum, ketiga jenis jahe tersebut mengandung pati, minyak atsiri, serat, sejumlah kecil protein, vitamin, mineral, dan enzim proteolitik yang disebut zingibain (Denyer *et al.*, 1994).

#### 2.1.1 Klasifikasi

Berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System (ITIS)* (2015), jahe merah diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Zingiber</i>
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>

Jahe memiliki nama lain, seperti halia (Aceh), bahing (Sumatra Utara), jahi (Lampung), sipadeh (Sumatra Barat), jae (Jawa), jahe (Sunda), jhai (Madura), dan lali (Irian).

### 2.1.2 Deskripsi Tanaman

Batang jahe merah berbentuk bulat kecil, berwarna hijau kemerahan, dan agak keras karena diselubungi oleh pelepah daun. Tinggi tanaman mencapai 34,18-62,28 cm. Daun tersusun berselang-seling secara teratur dan memiliki warna yang lebih hijau (gelap) dibandingkan jahe gajah (*Zingiber officinale* var. Roscoe) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* var. amarum). Permukaan daun bagian atas berwarna hijau muda dibandingkan dengan bagian bawahnya. Luas daun 32,55-51,18 cm<sup>2</sup> dengan panjang 24,30-24,79 cm, lebar 2,79-31,18 cm, dan lebar tajuk 36,93-52,87 cm (Gambar 2.1(a)). Rimpang jahe ini berwarna merah hingga jingga muda. Ukuran rimpang pada jahe merah lebih kecil dibandingkan dengan kedua jenis jahe lainnya, yaitu panjang rimpang 12,33-12,60 cm, tinggi mencapai 5,86-7,03 cm, dan berat rata-rata 0,29-1,17 kg dengan akar berserat agak kasar panjang 17,03-24,06 cm dan diameter akar mencapai 5,36-5,46 mm (Gambar 2.1(b)). Jahe merah memiliki aroma yang tajam dan rasanya sangat pedas (Herlina *et al.*, 2002).



(a)



(b)

Gambar 2.1 Morfologi tanaman jahe merah (a) tanaman jahe merah dan (b) rimpang jahe merah (Sumber: Globinmed, 2013)

Jahe merah berbunga majemuk dengan bentuk bulat telur, muncul dari rimpang, dengan panjang tangkai 10-25 cm, dan terdapat daun kecil pada dasar bunga. Mahkota bunga bentuk corong, panjang 2-2,5 cm, berwarna ungu tua dengan



bercak krem-kuning. Kelopak bunga kecil, berbentuk tabung dan bergerigi tiga (Ross, 1999).

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Jahe mengandung banyak senyawa aktif yang berbeda secara signifikan antara varietas tanaman dan daerah tumbuhnya. Lebih dari 60 senyawa aktif ada pada jahe, yang dibagi menjadi senyawa volatil dan non volatil. Hidrokarbon yang kebanyakan terdiri dari hidrokarbon monoterpenoid dan sesquiterpen mencakup komponen volatil jahe dan memberikan aroma dan rasa yang berbeda untuk jahe. Senyawa non volatil termasuk gingerol, shogaol, paradol, dan zingeron. Zingeron diproduksi selama pengeringan jahe secara langsung dan juga oleh degradasi termal dari gingerol atau shogaol (Ahmad *et al.*, 2015). Komponen utama dari jahe segar adalah senyawa homolog fenolik keton yang dikenal sebagai gingerol. Gingerol sangat tidak stabil dengan adanya panas dan pada suhu tinggi akan berubah menjadi shogaol. Shogaol merupakan komponen utama jahe kering yang lebih pedas dibandingkan gingerol (Mishra, 2009).

Jolad *et al.* (2004) melaporkan bahwa dalam jahe segar telah teridentifikasi 63 senyawa, di antaranya 31 senyawa pernah dilaporkan dan 20 senyawa baru. Senyawa yang teridentifikasi antara lain gingerol ([4], [6], [8] dan [10]-gingerol), shogaol ([4], [6], [8]; [10]-shogaol), [3]-dihidrosogaol, paradol ([6], [7], [8], [9], [10], [11], dan [13]), dihidroparadol, turunan asetil gingerol, gingerdiol, mono dan turunan di-asetil gingerdiol, 1-dehidrogingerdion, diarilheptanoid, dan turunan metil eter. Demikian juga dengan senyawa metil [4]-gingerol dan metil [8]-gingerol, metil [4]-, metil [6]-, dan metil [8]-shogaol, 5-deoksigingerol dan metil [6]-paradol.

Pada jahe kering teridentifikasi sebanyak 115 senyawa, di antaranya 88 senyawa pernah dilaporkan (Jolad *et al.*, 2005). Senyawa [6]-, [8]-, [10]-, dan [12]-gingerdion juga teridentifikasi. Gingerol sebagai komponen utama jahe dapat terkonversi menjadi shogaol atau zingeron. Senyawa paradol sangat serupa dengan

gingerol yang merupakan hasil hidrogenasi dari shogaol. Shogaol terbentuk dari gingerol selama proses pemanasan. Kecepatan degradasi dari [6]-gingerol menjadi [6]-shogaol tergantung pada pH, stabilitas terbaik pada pH 4, sedangkan pada suhu 100°C dan pH 1, degradasi perubahan relatif cukup cepat.

Herlina *et al.* (2002) menyatakan bahwa jahe merah sering digunakan sebagai obat karena kandungan minyak atsiri dan oleoresinnya paling tinggi dibanding jenis jahe lainnya sehingga ampuh menyembuhkan berbagai macam jenis penyakit. Jahe merah mempunyai kandungan pati (52,9%), minyak atsiri (3,9%) dan ekstrak yang larut dalam alkohol (9,93%) lebih tinggi dibandingkan jahe emprit (41,48; 3,5; dan 7,29%) dan jahe gajah (44,25; 2,5; dan 5,81%) (Hernani dan Hayani, 2001).

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol karena senyawa aktif yang berperan sebagai antiinflamasi yaitu gingerol dan shogaol (Bremeen *et al.*, 2011) mempunyai sifat larut dalam etanol (Quality Control Departement, 1999).

#### 2.1.4 Penelitian yang Telah Dilakukan

Tanaman jahe merah telah banyak dilakukan penelitian di antaranya adalah Kitagata-Cho (2007), melaporkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah dosis 50 dan 100 mg/kg BB pada mencit yang diinduksi asam asetat model inflamasi abdomen mampu menurunkan nyeri sampai 50%. Senyawa kimia 6-gingerol bertindak sebagai senyawa antiinflamasi yang berguna untuk mengobati peradangan tanpa mengganggu antigen yang berfungsi sebagai makrofag (Tripathi, 2007).

Penelitian kombinasi ekstrak jahe merah juga telah banyak dilakukan, penelitian yang dilakukan oleh Apriani (2011) yaitu kombinasi ekstrak air akar tanaman akar kucing (*Acalyphaindica* Linn.) dan ekstrak etanol 70% rimpang jahe merah dosis 5,4 g/200 g BB dan 28 mg/200 g menunjukkan penghambatan udem terbesar telapak kaki tikus yang diinduksi karagenin setara dengan natrium diklofenak dosis 27 mg/200 g BB tikus. Rahmania (2013) melaporkan bahwa campuran ekstrak suruhan dan jahe merah (konsentrasi 1:1) berpotensi menghambat COX-2 (15,2%

pada 175  $\mu\text{g/mL}$ ) dalam proses inflamasi *in vitro*, namun masih lebih rendah dari ekstrak tunggalnya. Ekstrak etanol jahe merah diketahui memiliki toksisitas sedang dengan nilai  $\text{LD}_{50}$  sebesar 1887 mg/kg BB (Katrin *et al.*, 2014).

## 2.2 Tinjauan tentang Tanaman Sidaguri

Sidaguri merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan tradisional. Tanaman sidaguri dapat tumbuh hingga 60 cm, tetapi terkadang dapat tumbuh hingga 1,5 m. Tanaman ini terdistribusi pada lebih dari 70 negara mulai dari yang beriklim tropis, subtropis, hingga yang bertemperatur hangat (Alpiansyah, 2015).

### 2.1.1 Klasifikasi

Berdasarkan ITIS (2015), sidaguri diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Malvales

Famili : Malvaceae

Genus : *Sida*

Spesies: *Sida rhombifolia* L.

Tanaman sidaguri dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan nama daerah saliguri (Minangkabau), sidaguri (Melayu), sidaguri (Jawa tengah), sidagori (sunda), taghuri (Madura), kahindu (Sumba), hutu gamo (Halmahera), digo (Ternate) (Dalimartha, 2003).

### 2.1.2 Deskripsi Tanaman

Sidaguri tumbuh liar di tepi jalan, halaman berumput, hutan, ladang, dan tempat-tempat dengan sinar matahari cerah atau sedikit terlindung. Tanaman ini tumbuh di seluruh daerah tropis di seluruh dunia dari dataran rendah sampai 1.450

meter di atas permukaan laut. Tanaman perdu tegak bercabang ini dapat tumbuh sampai 2 meter dengan cabang kecil (Gambar 2.2(a)). Daun tunggal, bentuk bulat telur atau lanset, tepi bergerigi ujung meruncing pertulangan menyirip, panjang 1-1,4 cm, dan lebar 1-1,5 cm. Daun umumnya berbentuk jajaran genjang dengan bagian bawah berwarna hijau pucat atau abu-abu (Gambar 2.2(b)). Bunga tunggal berwarna kuning cerah mekar saat pukul 12.00 dan layu sekitar 3 jam kemudian. Buah dengan 8-10 kenda diameter 6-7 mm (Dalimartha, 2003).



(a)



(b)

Gambar 2.2 Morfologi tanaman sidaguri (a) tanaman sidaguri dan (b) daun sidaguri  
(Sumber: *Useful Tropical Plants*, 2014)

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Kandungan kimia daun sidaguri mengandung flavonoid, alkaloid, leukoantosionidin, dan steroid atau triterpenoid (Depkes RI, 2005). Batang mengandung kalsium oksalat dan tanin. Akar mengandung alkaloid dan steroid (Dalimartha, 2003).

Penelitian ini menggunakan etanol 70% karena kombinasi air dan etanol dapat menginduksi pembengkakan partikel tanaman dan meningkatkan porositas dinding sel daun sidaguri yang dapat mempermudah difusi senyawa yang diekstraksi dari sel

ke pelarut sehingga senyawa yang diinginkan dapat terekstraksi dengan optimal (Samuelsson, 1999).

#### 2.1.4 Penelitian yang Telah Dilakukan

Penelitian yang telah dilakukan pada tanaman sidaguri di antaranya adalah Logeswari *et al.* (2013) mengenai aktivitas antiinflamasi ekstrak air dan etanol akar sidaguri pada tikus yang diinduksi karagenin. Hasil skrining fitokimia kedua ekstrak menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin, dan glikosida. Pada ekstrak etanol juga diduga terdapat senyawa steroid, alkaloid, dan terpena. Pada uji toksisitas akut sampai dosis 2000 mg/kg BB tidak menunjukkan adanya toksisitas pada tikus. Ekstrak air dan etanol akar sidaguri pada dosis 200, 400, 600 mg/kg BB tikus memiliki aktivitas sebagai agen antiinflamasi.

Penelitian lain yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak sidaguri tidak menyebabkan kematian bahkan pada dosis tertinggi 6 g/kg (nilai LD<sub>50</sub> lebih besar dari 5000 mg/kg) sedangkan penelitian toksisitas subakut pada tikus Wistar, ekstrak sidaguri secara signifikan menunjukkan tidak adanya perbedaan berat badan dan organ (jantung, paru-paru, hati, dan lambung) antara kelompok uji dan kelompok kontrol (10% DMSO). Pada parameter biokimia menunjukkan peningkatan ALT, AST dan ALP yang signifikan. Namun untuk parameter biokimia lain (glukosa, kreatinin, nitrogen urea, trigliserida, bilirubin total dan bilirubin langsung), terdapat penurunan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Pada parameter hematologi terdapat penurunan yang signifikan pada monosit, basofil, hemoglobin, hematokrit dan MCV antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Ouédraogo *et al.*, 2013).

Khalil *et al.* (2006) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak hidroalkohol daun sidaguri dosis 400 mg/kg mampu menghambat edema pada tikus yang diinduksi karagenin 1%. Aktivitas antinflamasi dari daun sidaguri yakni dengan memodulasi biosintesis prostaglandin melalui penghambatan siklooksigenase arakidonat tapi tidak

menghambat lipooksigenase arakidonat, dimana senyawa fitokimia yang berperan sebagai agen antiinflamasi daun sidaguri ialah alkaloid dan ecdysteroid (Sulaiman *et al.*, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gupta *et al.* (1980) bahwa senyawa aktif  $\beta$ -sitosterol pada tanaman sidaguri memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

### 2.3 Kombinasi Ekstrak Jahe Merah dan Sidaguri

Formulasi polih herbal atau kombinasi ekstrak adalah kumpulan entitas terapi yang dirumuskan dan disusun atas dasar aktivitas farmakologi senyawa tunggal yang berhubungan dengan kondisi penyakit. Konstituen polih herbal seperti aktivitas farmakologi beragam bekerjasama secara dinamis untuk menghasilkan manfaat terapeutik maksimal dengan efek samping minimal (Barik *et al.*, 2015).

Tanaman jahe merah dan daun sidaguri secara tunggal telah diketahui sebagai agen antiinflamasi, yang belum pernah dilakukan adalah kombinasi keduanya. Grzanna *et al.* (2005) menunjukkan bahwa jahe merah dapat menekan sintesis prostaglandin dengan menghambat siklooksigenase dan menekan biosintesis leukotrien dengan menghambat 5-lipooksigenase. Aktivitas farmakologi ini membedakan jahe dengan obat antiinflamasi non steroid yang hanya menekan sintesis prostaglandin saja, sehingga dimungkinkan memiliki profil terapi yang lebih baik dan memiliki efek samping yang lebih rendah. Bremeen *et al.* (2011) melaporkan bahwa senyawa gingerol dan shogaol pada jahe bertanggung jawab pada aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan spesifik pada COX-2. Kitagata-cho (2007) menyatakan bahwa pemberian ekstrak jahe merah dosis 50 dan 100 mg/kg BB pada mencit yang diinduksi asam asetat model inflamasi abdomen mampu menurunkan nyeri sampai 50%.

Tanaman sidaguri telah banyak digunakan secara tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit. Khalil *et al.* (2006) melaporkan bahwa pemberian ekstrak hidroalkohol daun sidaguri dosis 400 mg/kg mampu menghambat edema pada tikus

yang diinduksi dengan karagenin 1%. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sidaguri ialah alkaloid dan ecdysteroid yang berperan dalam penghambatan biosintesis prostaglandin dengan mengeblok siklooksigenase (Sulaiman, *et al.*, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gupta *et al.* (1980) bahwa senyawa aktif  $\beta$ -sitosterol pada tanaman sidaguri memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

Ditinjau dari aktivitas antiinflamasi kedua tanaman tersebut maka dapat dilakukan kombinasi antara tanaman jahe merah dan sidaguri sebagai suatu sediaan polih herbal untuk terapi inflamasi, yang memiliki aktivitas farmakologi saling mendukung satu sama lain.

## **2.4 Tinjauan tentang Inflamasi**

### **2.4.1 Definisi Inflamasi**

Inflamasi ialah respon fisiologi yang didefinisikan sebagai reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera yang melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun (Baratawidjaja, 2010). Respon inflamasi adalah salah satu mekanisme alami paling penting dan merupakan respon tubuh terhadap luka jaringan.

Inflamasi merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan dan mengurangi agen pencidera maupun jaringan yang cedera (Dorland, 2002). Menurut Kumar (2012), 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. Tanpa adanya inflamasi, infeksi tidak akan terkendali dan luka tidak akan sembuh. Meskipun inflamasi membantu penyembuhan infeksi dan rangsangan berbahaya lainnya untuk memulai perbaikan, namun reaksi inflamasi dan proses perbaikan selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan yang cukup besar apabila tidak segera ditangani.

### 2.4.2 Jenis Inflamasi

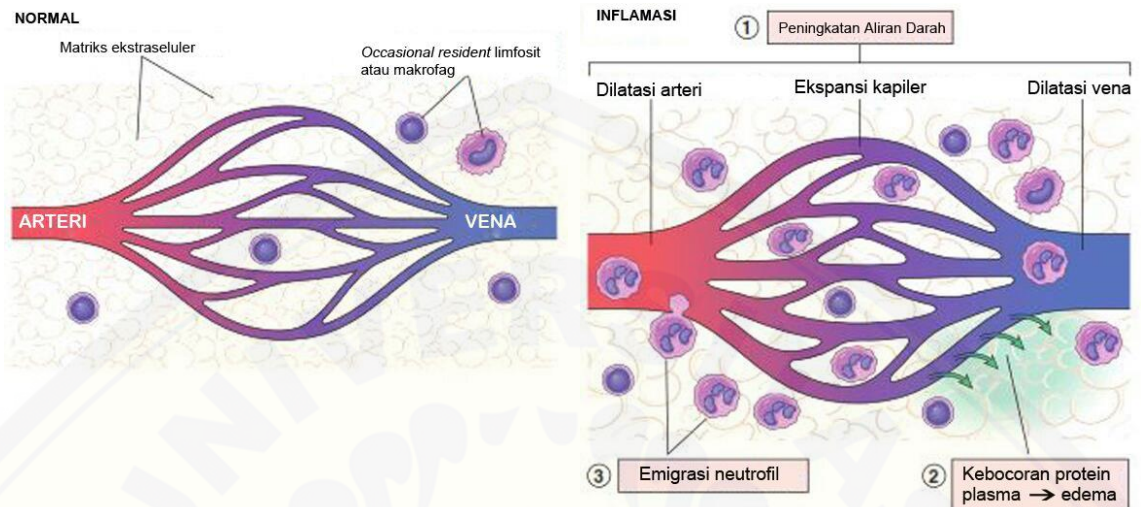
Menurut Kumar *et al.* (2012) inflamasi dapat menjadi akut atau kronik. Inflamasi akut terjadi secara cepat dengan onset dan durasi pendek, berlangsung selama beberapa menit hingga beberapa hari, ditandai dengan adanya cairan, eksudasi protein plasma, dan akumulasi leukosit yang didominasi neutrofil. Inflamasi kronik mungkin lebih berbahaya, durasi lebih lama (hari ke tahun), dan ditandai oleh masuknya limfosit dan makrofag yang terkait proliferasi di dalam pembuluh darah dan fibrosis (jaringan parut).

#### 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 (Gambar 2.3):

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, 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 (polimorfonuklear leukosit) (Kumar *et al.*, 2012).





Gambar 2.3 Reaksi vaskular dan selular pada inflamasi akut  
(Sumber: Kumar *et al.*, 2012)

Reaksi inflamasi akut dipicu oleh berbagai rangsangan:

- 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 (dari sebab apapun), termasuk iskemia (seperti dalam infark miokard) serta cedera fisik dan kimia
- d) Benda asing (serpihan, kotoran, jahitan, kristal deposit)
- e) Respon imun (reaksi hipersensitivitas) terhadap zat lingkungan atau terhadap jaringan "diri". Karena rangsangan dalam respon inflamasi ini sering tidak dapat dihilangkan atau dihindari, reaksi tersebut cenderung bertahan, dengan sifat inflamasi kronis. Istilah "penyakit imun yang dimediasi inflamasi" kadang-kadang digunakan untuk merujuk pada kelompok gangguan penyakit (Kumar *et al.*, 2012).

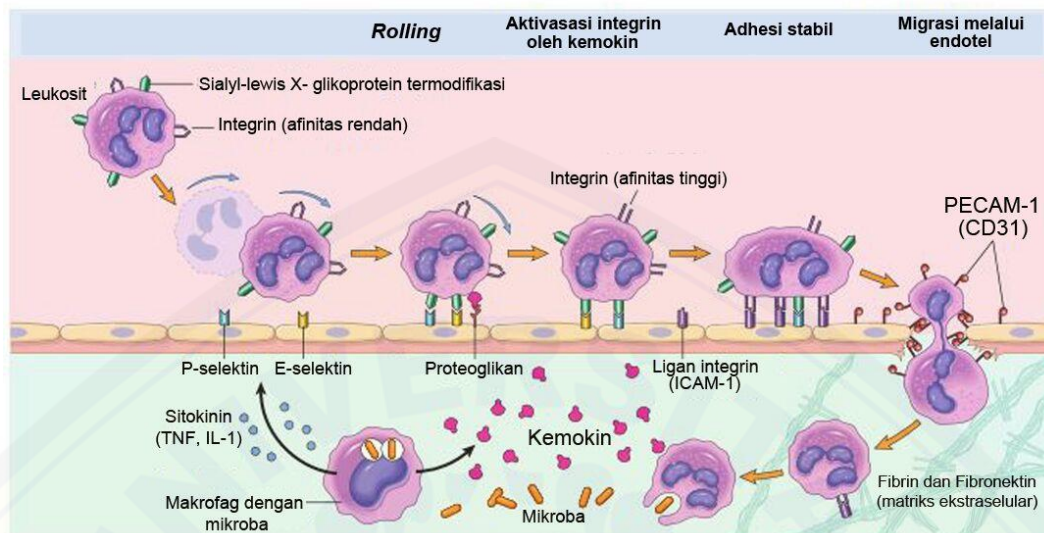
## b. Inflamasi Kronik

Menurut Kumar *et al.* (2012), inflamasi kronis 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 radang akut.

### 2.4.3 Mekanisme Migrasi Leukosit pada Inflamasi

Leukosit biasanya mengalir dengan cepat di dalam darah dan dalam inflamasi, leukosit berhenti dan dibawa ke lokasi kerusakan jaringan, yang biasanya di luar pembuluh darah. Urutan kejadian dalam perekrutan leukosit dari lumen pembuluh darah ke ruang ekstrasvaskuler terdiri dari (1) marginasi dan bergulir sepanjang dinding pembuluh; (2) adhesi kuat pada endotel; (3) transmigrasi antara sel-sel endotel; dan (4) migrasi jaringan interstitial menuju stimulus kemotaktik (Gambar. 2.4). Bergulir, adhesi, dan transmigrasi dimediasi oleh interaksi molekul adhesi pada leukosit dan permukaan endotel. Mediator kimia dan sitokin mempengaruhi proses ini dengan memodulasi ekspresi permukaan dan afinitas molekul adhesi dengan merangsang arah gerakan dari leukosit.

Molekul yang memperantarai interaksi endotel dan neutrofil yaitu dengan adhesi melalui selektin dan protein terglykosilasi pada sel endotel. Aktivasi leukosit oleh mediator kemokin akan meningkatkan aviditas integrin. Adhesi yang kuat melalui interaksi kuat antara reseptor sel endotel dengan integrin. LFA-1 dan integrin Mac-1 pada leukosit berikatan dengan *intercellular cell adhesion molecule 1* (ICAM-1) pada sel endotel. Interaksi *platelet endothelial cell adhesion molecule 1* (PECAM-1) pada leukosit dan sel endotel yang memperantarai transmigrasi antar sel (Kumar *et al.*, 2012).



Gambar 2.4 Mekanisme migrasi leukosit dalam pembuluh darah

(Sumber: Kumar *et al.*, 2012)

#### 2.4.4 Tanda-tanda Inflamasi

Menurut Price dan Wilson (2006), terdapat lima tanda-tanda pokok inflamasi yaitu kemerahan (*rubor*), panas (kalor), pembengkakan (*tumor*), rasa sakit (*dolor*), dan perubahan fungsi (*functio laesa*). Kemerahan di daerah inflamasi terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi. Waktu reaksi inflamasi mulai timbul maka arteriol yang mensuplai daerah tersebut melebar, sehingga lebih banyak darah mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal. Kapiler-kapiler yang sebelumnya kosong atau sebagian saja yang meregang dengan cepat terisi penuh dengan darah. Kalor atau panas terjadi bersamaan dengan kemerahan dari reaksi inflamasi. Daerah inflamasi pada kulit menjadi lebih panas dari sekelilingnya, sebab darah (pada suhu 37° C) yang disalurkan tubuh ke permukaan daerah luka lebih banyak daripada yang disalurkan ke daerah normal. Pembengkakan ditimbulkan oleh pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan interstisial.

*Dolor* atau rasa sakit dari reaksi inflamasi dapat dihasilkan dengan berbagai cara. Perubahan pH lokal atau konsentrasi lokal ion-ion tertentu dapat merangsang

ujung-ujung saraf. Pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin juga dapat merangsang saraf. Selain itu, pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa sakit. Hilangnya fungsi terjadi akibat penumpukan cairan dan rasa nyeri yang mengurangi mobilitas pada tempat yang terkena.

#### 2.4.5 Metode Uji Antiinflamasi

Metode uji antiinflamasi akut dan sub akut menurut Patel *et al.* (2012) adalah UV-eritema pada hewan babi, permeabilitas vaskular, induksi oxazolone pada telinga mencit, edema minyak *croton* pada tikus dan mencit, induksi radang pada tikus, uji pleura, dan teknik pembuatan granuloma.

Penelitian ini menggunakan uji antiinflamasi dengan induksi radang pada telapak kaki tikus Wistar jantan menggunakan karagenin. Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenin merupakan salah satu metode yang sederhana, mudah, dan sering dilakukan. Selain itu pembentukan radang oleh karagenin tidak menyebabkan kerusakan jaringan (Fitriyani, 2011). Karagenin 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).

Penggunaan tikus putih sebagai hewan uji karena mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mudah ditangani, serta ukuran telapak kaki tikus yang lebih besar daripada mencit yang memudahkan dalam penginduksian karagenin secara intraplantar. Suhendi *et al.* (2011) menyatakan bahwa pemilihan tikus jantan didasarkan pada kondisi hormonal tikus jantan yang lebih stabil dibandingkan betina, selain itu tingkat stres tikus betina lebih tinggi dibandingkan dengan tikus jantan yang mungkin dapat mengganggu saat pengujian.

Ada tiga fase pembentukan udem yang diinduksi oleh karagenin. 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). Menurut Corsini *et al.* (2005) udem yang disebabkan oleh karagenin bisa bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam.

## 2.5 Tinjauan tentang Leukosit

Leukosit, juga disebut dengan sel-sel darah putih, merupakan unit yang aktif dari sistem pelindung tubuh. Sebagian leukosit terbentuk di sumsum tulang (granulosit dan monosit dan beberapa limfosit) dan sebagian dalam jaringan limfa (limfosit dan sel-sel plasma). Setelah dibentuk, leukosit diangkut dalam darah ke berbagai bagian tubuh untuk digunakan. Sel darah putih kebanyakan ditranspor secara khusus ke daerah terinfeksi dan inflamasi serius, sehingga memberikan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap penginfeksi yang mungkin ada. Granulosit dan monosit juga memiliki kemampuan khusus untuk mencari dan menghancurkan setiap benda asing yang menyerbu (Guyton dan Hall, 2006).

Jumlah leukosit dalam sirkulasi sangat mudah dan cepat berubah. Nilai absolut maupun relatif dapat berubah oleh stimulasi selama beberapa menit atau beberapa jam. Dampak yang paling jelas terlihat bila kelenjar adrenal dirangsang, baik secara farmakologis maupun sebagai respon terhadap kebutuhan fisiologis.

Pada manusia dewasa dapat dijumpai sekitar 7000 sel darah putih per mikroliter darah (dibandingkan dengan 5 juta sel darah merah). Dari total sel darah putih, persentase normal dari berbagai jenis leukosit ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hitung jenis leukosit

Jenis leukosit	Presentase normal(%)
Polimorfonuklear neutrofil	62,0
Polimorfonuklear eosinofil	2,3
Polimorfonuklear basofil	0,4
Monosit	5,3
Limfosit	30,0

Sumber: Guyton dan Hall (2006).

Jumlah trombosit yang merupakan fragmen-fragmen sel dalam keadaan normal jumlahnya kira-kira 300.000 setiap mikroliter darah (Guyton dan Hall, 2006).

### 2.5.1 Jenis-jenis Leukosit

Leukosit tidak memiliki hemoglobin (berbeda dengan eritrosit), sehingga tidak berwarna (putih) kecuali jika diwarnai secara khusus agar terlihat di bawah mikroskop. Tidak seperti eritrosit yang strukturnya uniform, berfungsi identik, dan jumlahnya konstan, tetapi leukosit memiliki struktur, fungsi, dan jumlah bervariasi. Terdapat lima jenis leukosit yang bersirkulasi yaitu neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit dan masing-masing dengan struktur serta fungsi yang khas. Leukosit berukuran sedikit lebih besar daripada eritrosit.

Kelima jenis leukosit tersebut dibagi ke dalam dua kategori utama, yaitu bergantung pada gambaran nukleus dan ada tidaknya granula di sitoplasma ketika diperiksa di bawah mikroskop. Neutrofil, eosinofil, dan basofil dikategorikan sebagai granulosit (sel yang banyak mengandung granula) atau polimorfonukleus (banyak bentuk nukleus). Nukleus sel-sel ini tersegmentasi menjadi beberapa lobus dengan beragam bentuk, dan sitoplasma mereka mengandung banyak granula terbungkus membran.

#### a. Granulosit

Granulosit memiliki granula kecil di dalam protoplasmanya, memiliki diameter sekitar 10 -12 mikron. Berdasarkan pewarnaan granula, granulosit dibagi menjadi tiga kelompok berikut:

##### 1) Neutrofil

Berukuran lebih besar dari limfosit kecil, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak agak kemerahan. Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen. Dikatakan berbentuk batang apabila lekukan inti melebihi setengah diameter inti; berbentuk segmen bila inti terbagi menjadi beberapa bagian yang saling dihubungkan dengan benang kromatin. Sitoplasma bergranula berwarna keunguan. Neutrofil merupakan leukosit darah perifer yang paling banyak. Sel ini memiliki masa hidup singkat, sekitar 10 jam dalam sirkulasi. Sekitar 50 % neutrofil dalam darah perifer menempel pada dinding pembuluh darah. Neutrofil memasuki jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap kemotaktik (Hoffbrand dan Mehta, 2005). Gambar morfologi neutrofil dalam sediaan hapusan darah dapat dilihat pada Gambar 2.5(a).

Neutrofil yang cacat dapat dilihat dari jumlah maupun bentuknya. Bentuk maupun jumlahnya berpotensi untuk menjelaskan tingkat infeksi. Jumlah neutrofil pada mencit yaitu  $0,3-2,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Neutrofilia merupakan peningkatan jumlah neutrofil. Penurunan jumlah sel neutrofil di dalam sirkulasi (neutropenia) dapat terjadi karena adanya peningkatan destruksi sel neutrofil di dalam peredaran darah, peningkatan pengeluaran neutrofil ke dalam jaringan tanpa diimbangi oleh pemasukan ke dalam sirkulasi darah dan penurunan produksi sel neutrofil di sumsum tulang (Feldman, 2000).

##### 2) Eosinofil

Bentuk dan ukurannya sama dengan neutrofil, akan tetapi sitoplasmanya dipenuhi oleh granula yang besar, bulat, ukurannya sama besar dan berwarna kemerahan dengan pewarnaan asam seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2.5(b),

banyaknya kira-kira 24 % (Handayani, 2008). Sel ini sangat penting dalam respon terhadap penyakit parasitik dan alergi. Pelepasan isi granul ke patogen yang lebih besar membantu proses destruksi dan fagositosis berikutnya (Hoffbrand dan Mehta, 2005). Fungsi utama eosinofil adalah detoksifikasi baik terhadap protein asing yang masuk ke dalam tubuh melalui paru-paru ataupun saluran cerna maupun racun yang dihasilkan oleh bakteri dan parasit. Eosinofilia merupakan peningkatan jumlah eosinofil dalam darah.

### 3) Basofil

Sel ini tidak selalu dapat dijumpai, bentuk dan ukurannya menyerupai neutrofil, sitoplasmanya mengandung granula bulat besar tidak sama besar, berwarna biru tua, granula dapat menutupi inti. Kadang-kadang dapat dijumpai adanya vakuola kecil di sitoplasma, banyaknya kira-kira 0,5 % di sumsum merah (Handayani, 2008). Gambar morfologi basofil dalam sediaan hapus dapat dilihat pada Gambar 2.5(c). Jumlah basofil di dalam sirkulasi darah relatif sedikit. Di dalam sel basofil terkandung zat heparin (antikoagulan). Heparin ini dilepaskan di daerah peradangan guna mencegah timbulnya pembekuan serta statis darah dan limfa, sehingga sel basofil diduga merupakan prekursor bagi sel mast. Basofilia merupakan peningkatan jumlah basofil dalam sirkulasi. Penurunan jumlah sel basofil dalam sirkulasi darah disebut basopenia.

### b. Agranulosit

#### 1) Limfosit

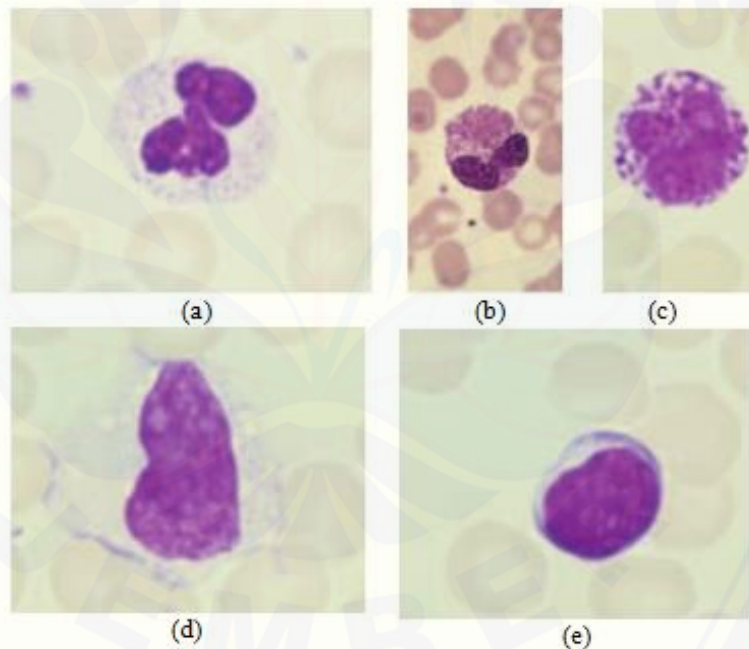
Macam limfosit antara lain limfosit kecil dan limfosit besar. Limfosit kecil berukuran 8-10  $\mu\text{m}$ , berbentuk bulat, berinti kira-kira sebesar ukuran eritrosit normal, inti limfosit mengisi sebagian besar dari ukuran sel dengan kromatin yang padat bergumpal berwarna biru ungu tua, dan sitoplasmanya tidak mengandung granula. Limfosit besar berukuran 12–16  $\mu\text{m}$ , berbentuk bulat atau agak tak beraturan, berinti oval atau bulat, terletak di tepi sel seperti yang ditunjukkan Gambar 2.5(d).



Sitoplasmasnya relatif lebih banyak dibandingkan limfosit kecil, berwarna biru muda atau dapat mengandung granula azurofil berwarna merah.

## 2) Monosit

Monosit memiliki ukuran yang lebih besar daripada limfosit, protoplasmanya besar, warna biru sedikit abu-abu, serta mempunyai bintik-bintik sedikit kemerahan. Inti selnya bulat atau panjang. Monosit dibentuk di dalam sumsum tulang, masuk ke dalam sirkulasi dalam bentuk imatur dan mengalami proses pematangan menjadi makrofag setelah masuk ke jaringan (berfungsi sebagai fagosit). Jumlahnya 34% dari total komponen yang ada di sel darah putih (Handayani, 2008). Gambar morfologi monosit dalam sediaan hapus dapat dilihat pada Gambar 2.5(e).



Gambar 2.5 Morfologi jenis sel leukosit pada preparat darah hapus (a) neutrofil; (b) eosinofil; (c) basofil; (d) monosit; dan (e) limfosit  
(Sumber: Hoffbrand dan Mehta, 2005)

Sel leukosit utama yang terlibat dalam mekanisme inflamasi akut adalah neutrofil. Neutrofil kadang disebut “*soldier of the body*” karena merupakan sel pertama yang dikerahkan ke tempat inflamasi. Neutrofil merupakan sebagian besar dari leukosit dalam sirkulasi darah. Neutrofil biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, untuk memenuhi hal tersebut diperlukan peningkatan produksi neutrofil dalam sumsum tulang. Orang dewasa normal memproduksi lebih dari  $10^{10}$  neutrofil perhari tetapi pada inflamasi dapat meningkat sampai 10 kali lipat. Pada inflamasi akut, neutrofil dalam sirkulasi dapat meningkat dengan segera dari 5000  $\mu\text{l}$  sampai 30000  $\mu\text{l}$ . Peningkatan tersebut disebabkan oleh migrasi neutrofil ke sirkulasi yang berasal dari sumsum tulang dan persediaan marginal intravaskular. Butir-butir azurofilik primer (lisosom) mengandung hidrolase asam, mieloperoksidase, dan neuromidase (lisozim), sedangkan butir-butir sekunder atau spesifik mengandung laktoferin dan lisozim. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG dan komplemen. Neutrofil yang bermigrasi pertama dari sirkulasi ke jaringan terinfeksi dengan cepat dilengkapi dengan berbagai reseptor seperti *Toll like receptor* (TLR2), TLR4 (Baratawidjaja, 2010).

### 2.5.2 Hitung Jenis Leukosit

Hitung jenis leukosit hanya menunjukkan jumlah relatif dari masing-masing jenis sel. Jumlah absolut didapatkan dari masing-masing jenis sel maka nilai relatif (%) dikalikan jumlah leukosit total (sel/ $\mu\text{l}$ ). Hitung jenis leukosit berbeda tergantung umur. Pada anak limfosit lebih banyak dari neutrofil segmen, sedang pada orang dewasa kebalikannya. Hitung jenis leukosit juga bervariasi dari satu sediaan hapus ke sediaan lain, dari satu lapangan ke lapangan lain. Kesalahan karena distribusi ini dapat mencapai 15%. Bila pada hitung jenis leukosit, didapatkan eritrosit berinti lebih dari 10 per 100 leukosit, maka jumlah leukosit tiap  $\mu\text{l}$  perlu dikoreksi (Marparung, 2014).

Makin banyak leukosit yang dihitung, makin kecil kesalahan yang terjadi. Hasil hitung jenis berdasarkan 100 sel sebenarnya hanya bermakna jika dalam keadaan normal, yaitu normal jumlah leukosit dan normal morfologinya. Pada keadaan leukositosis jumlah leukosit yang dihitung harus lebih banyak; pada leukositosis antara 10.000–20.000 hitung jenis berdasarkan 200 sel, leukositosis antara 20.000–50.000 hitung jenis berdasarkan pada 300 sel dan leukositosis lebih dari 50.000 hitung jenis didasarkan pada 400 sel (Depkes, 1992).

Perhitungan jenis sel leukosit dilakukan dengan mengambil sampel darah terlebih dahulu. Sampel darah dapat dikumpulkan dari pembuluh vena tikus, sehingga dapat diambil dari tempat yang berbeda, seperti sinus orbital, ekor, dan vena jugular. Pemilihan metode dan tempat pengambilan darah tikus ditentukan berdasarkan volume darah yang dibutuhkan untuk pemeriksaan menggunakan pisau bedah, tepi pisau cukur, atau gunting yang tajam (Hoff, 2000). Metode perhitungan sel darah dapat dilakukan baik secara manual atau dengan menggunakan penghitung otomatis. Pada penelitian ini pengambilan darah dilakukan dengan memotong ekor tikus 1-2 mm kemudian dibuat sediaan hapus. Perhitungan sel darah putih menggunakan mikroskop cahaya secara manual.

Penelitian ini hanya dilakukan hitung neutrofil dengan sediaan hapus pada masing-masing kelompok hewan uji dengan pengecatan Giemsa. Giemsa adalah zat warna yang terdiri dari eosin dan metilen azur yang memberi warna merah muda pada sitoplasma dan metilen biru yang memberi warna pada inti leukosit. Untuk dapat melakukan hitung jenis leukosit diperlukan preparat apus darah tepi yang baik. Kriteria preparat darah apus yang baik adalah lebar dan panjangnya tidak memenuhi seluruh kaca benda, secara gradual penebalannya berangsur-angsur menipis dari kepala ke ekor, tidak berlubang, tidak terputus-putus, tidak terlalu tebal dan mempunyai pengecatan yang baik (Santosa, 2010). Jumlah neutrofil didapat dengan menghitung setiap 100 sel leukosit dengan menjumlahkan neutrofil batang dan segmen.

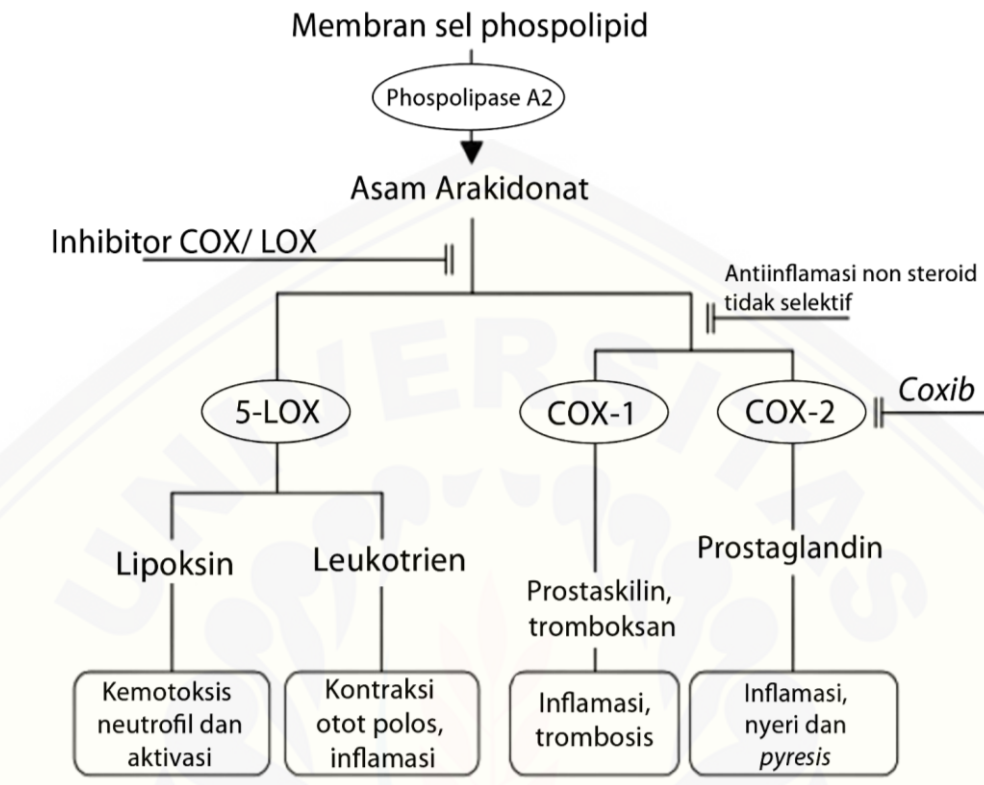
## 2.6 Tinjauan tentang Obat Antiinflamasi

Obat antiinflamasi digolongkan menjadi dua yaitu obat antiinflamasi non steroid (AINS) dan obat antiinflamasi steroid. Obat-obat tersebut mempunyai mekanisme yang berbeda dalam mengurangi inflamasi.

### 2.6.1 Obat Antiinflamasi Non Steroid (AINS)

Obat golongan AINS adalah kelompok struktural asam organik yang memiliki efek analgesik, antiinflamasi, dan antipiretik. AINS adalah inhibitor enzim siklooksigenase yang dapat menghambat langsung biosintesis prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat. Enzim pertama pada pembentukan prostaglandin adalah prostaglandin endoperoksida sintase atau asam lemak siklooksigenase. Enzim ini mengubah asam arakidonat menjadi senyawa antara yang tidak stabil, yaitu PGG<sub>2</sub> dan PGH<sub>2</sub>. Telah diketahui bahwa ada dua bentuk siklooksigenase, yaitu siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Enzim COX-1 merupakan suatu isoform konstitutif yang terdapat dalam kebanyakan sel dan jaringan normal, sedangkan COX-2 terinduksi saat berkembang peradangan oleh sitokin dan mediator inflamasi, namun COX-1 juga diekspresi secara konstitutif di dalam lambung tetapi COX-2 tidak (Roberts dan Morrow, 2007). Penghambatan COX-2 dianggap bertanggung jawab untuk beberapa analgesik, antiinflamasi, dan sifat antipiretik NSAID. COX-2 juga memiliki fungsi fisiologis yaitu di ginjal, jaringan vaskular dan pada proses perbaikan jaringan.

Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif. Tromboksan A<sub>2</sub>, yang disintesis trombosit oleh COX-1, menyebabkan agregasi trombosit, vasokonstriksi dan proliferasi otot polos. Sebaliknya prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) yang disintesis oleh COX-2 di endotel makrovaskular melawan efek tersebut dan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasodilatasi dan efek proliferative. Sebagian besar AINS saat ini tersedia untuk penggunaan klinis menghambat baik COX-1 dan COX-2, meskipun COX2 inhibitor selektif seperti celecoxib sekarang tersedia. Biosintesis prostaglandin dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Biosintesis prostaglandin (Tjay dan Rahardja, 2002)

Selain itu AINS tertentu juga dapat menghambat aktivasi dan fungsi neutrofil secara langsung, yaitu dengan menghambat proses yang berkaitan dengan membran, terlepas dari kemampuannya untuk menghambat sintesis prostaglandin. Beberapa AINS juga dapat menghambat adhesi leukosit yang tampaknya terlepas dari kemampuannya menghambat biosintesis prostaglandin (Roberts dan Morrow, 2007) AINS dapat dibagi dalam 3 kelas besar, yaitu aspirin dan salisilat, nonselektif, serta penghambat selektif COX-2 (Koopman dan Moreland, 2004).

AINS digunakan untuk menghilangkan nyeri ringan sampai sedang, kondisi demam ringan, dan untuk gangguan inflamasi akut dan kronis seperti osteoarthritis, *rheumatoid arthritis*, *juvenile idiopathic arthritis*, dan *ankylosing spondylitis*. Beberapa AINS digunakan topikal untuk menghilangkan nyeri otot dan rematik, dan

beberapa digunakan dalam sediaan *ophthalmic* untuk gangguan inflamasi okular (Wilmana, 2007; Sweetman, 2009).

Selain menimbulkan efek terapi yang sama AINS juga memiliki efek samping serupa, karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis prostaglandin. Selain itu, kebanyakan obat bersifat asam sehingga lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam misalnya lambung, ginjal dan jaringan inflamasi. Jelas bahwa efek obat maupun efek sampingnya akan lebih nyata di tempat dengan kadar yang lebih tinggi.

Efek samping umumnya cukup sama untuk semua AINS:

- a. Sistem saraf pusat: sakit kepala, tinnitus, dan pusing
- b. Kardiovaskular: retensi cairan hipertensi, edema, dan gagal jantung kongestif (jarang)
- c. Gastrointestinal: perut nyeri, displasia, mual, muntah, dan bisul atau perdarahan
- d. Hematologi: trombositopenia, neutropenia, atau bahkan anemia aplastik.
- e. Hati: tes fungsi hati abnormal dan gagal hati
- f. Paru: asma
- g. Ruam: semua jenis, pruritus
- h. Ginjal: insufisiensi ginjal, gagal ginjal, hiperkalemia, dan proteinuria (Katzung *et al.*, 2009).

Dengan banyaknya efek samping dari AINS maka perlu dilakukan pengembangan obat baru sebagai agen antiinflamasi yang memiliki efek samping lebih ringan.

### 2.6.2 Obat Antiinflamasi Steroid

Obat antiinflamasi steroid merupakan obat golongan glukokortikoid (disebut juga obat-obat golongan kortikosteroid). Kortikosteroid merupakan antiinflamasi yang identik dengan kortisol, hormon steroid alami pada manusia yang disintesis dan disekresi oleh korteks adrenal. Kortikosteroid dibedakan menjadi dua golongan, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Glukokortikoid menghambat terbentuknya leukotrien dan prostaglandin, sehingga sifat antiinflamasinya kuat. Pengaruh

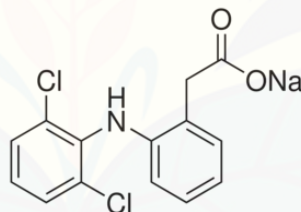
glukokortikoid terhadap keseimbangan air dan elektrolit kecil, namun juga memberikan pengaruh terhadap penyimpanan glikogen hepar. Mineralokortikoid lebih berefek pada keseimbangan air dan elektrolit, sedangkan pengaruh glikogen hepar kecil (Katzung, 2009).

Kortikosteroid menyebabkan hiperglikemia melalui peningkatan glukoneogenesis hati dan penurunan ambilan glukosa oleh jaringan perifer. Kortikosteroid juga menghambat aktivitas osteoblas dan menginduksi apoptosis osteoblas serta osteosit sehingga terjadi osteoporosis. Peningkatan volume plasma terjadi melalui ikatan antara kortikosteroid dengan reseptor pada sel epitel *renal distal tubular*. Ikatan tersebut menyebabkan peningkatan reabsorpsi natrium dan retensi cairan sehingga volume plasma bertambah dan meningkatkan tekanan darah (Sitompul, Ratna, 2011).

Efek antiinflamasi kortikosteroid mempengaruhi berbagai sel imunokompeten seperti sel T, makrofag, sel dendritik, eosinofil, neutrofil, dan sel mast, yaitu dengan menghambat respon inflamasi dan menyebabkan apoptosis berbagai sel tersebut (Smoak dan Clidowski, 2008). Salah satu protein antiinflamasi yang ditingkatkan sintesisnya oleh kortikosteroid adalah lipokortin-1, suatu inhibitor fosfolipase A<sub>2</sub> (Ikawati, 2008). Penghambatan lipokotrin terhadap fosfolipase A<sub>2</sub> dengan mengganggu pengikatan fosfolipid. Fosfolipase A<sub>2</sub> bekerja mengkatalisis pembentukan asam arakidonat. Rangsangan sintesis lipokortin-1 oleh obat-obat kortikosteroid menyebabkan sintesis asam arakidonat juga terhambat sehingga menghambat pembentukan mediator baik melalui jalur siklooksigenase maupun lipooksigenase. Mekanisme ini menjelaskan mengapa kortikosteroid memiliki aksi yang lebih luas dan lebih poten dibandingkan dengan obat NSAID yang hanya menghambat jalur siklooksigenase. Pada mekanisme itu, obat kortikosteroid memiliki kegunaan terapeutik yang luas (Ikawati, 2008).

### 2.6.3 Tinjauan tentang Na diklofenak

Satu di antara obat golongan AINS yang sering digunakan sebagai antiinflamasi dan nyeri adalah Na diklofenak. Diklofenak adalah turunan asam fenilasetat sederhana yang menyerupai florbiprofen maupun meklofenamat. Obat ini adalah penghambat siklooksigenase yang kuat dengan efek anti inflamasi, analgesik dan antipiretik. Senyawa ini merupakan inhibitor siklooksigenase dan potensinya jauh lebih besar daripada indometasin, naproksen, atau beberapa senyawa lain. Na diklofenak cepat diserap sesudah pemberian secara oral, tetapi bioavaibilitas sistemiknya rendah hanya antara 30-70% sebagai efek metabolisme lintas pertama di hati. Waktu paruh Na diklofenak juga pendek yakni hanya 1-2 jam. Efek-efek yang tidak diinginkan bisa terjadi pada kira-kira 20% dari pasien meliputi *distress* gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal yang terselubung, dan timbulnya ulserasi lambung (Katzung *et al.*, 2009). Struktur kimia Na diklofenak ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur kimia Na diklofenak

Mekanisme kerja Na diklofenak yaitu bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis, maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakidonat. Asam lemak poliatomik jenuh ini kemudian untuk sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi prostaglandin. Siklooksigenase terdiri dari dua iso-enzim, yaitu COX-1 (tromboksan dan prostasiklin) dan COX-2 (prostaglandin). Kebanyakan COX-1 terdapat di jaringan, antara lain dipelat-pelat darah, ginjal dan saluran cerna. COX-2 dalam keadaan normal tidak terdapat di jaringan tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang. Penghambatan COX-2 lah yang



memberikan efek anti radang dari obat AINS. AINS yang ideal hanya menghambat COX-2 (peradangan) namun tidak pada COX-1 (perlindungan mukosa lambung).

Diklofenak merupakan obat AINS yang bersifat tidak selektif karena kedua jenis COX di blokir. COX-1 bertanggung jawab melindungi mukosa lambung, usus, dan ginjal, apabila COX-1 dihambat maka terjadi iritasi dan efek toksik pada ginjal (Tjay dan Rahardja, 2002).

Penggunaan obat golongan AINS mampu menurunkan perhitungan leukosit, termasuk neutrofil, limfosit, monosit, dan eosinofil (Behal *et al.*, 2009). Obat golongan AINS menunjukkan kemampuan dalam menghambat perlekatan neutrofil, penurunan degranulasi dan produksi antioksidan, menginhibisi aktivitas elastase neutrofil, serta menginduksi apoptosis neutrofil (Wright *et al.*, 2010).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi bagian Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dimulai pada bulan Oktober 2015 sampai Mei 2016.

### 3.3 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah:

#### 3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dari daerah Kulon Progo dan daun sidaguri (*Sida rhombifolia* L) dari daerah Klaten Yogyakarta, etanol 70%, etanol 96%, karagenin (Sigma), Na diklofenak (Kimia Farma), akuades, metanol (teknis), minyak emersi (Olympus), CMC-Na (teknis), Giemsa, dan *disposable syringe* 1 ml dan 10 ml (OneMed).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar berumur 2-3 bulan dan beratnya 100-200 gram. Tikus yang digunakan berjumlah 36 ekor diperoleh dari peternak tikus di daerah Malang.

### 3.3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik digital (Ohaus), maserator, perkolator (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph-Laborata 4000), oven (Memmert), *hot plate* (Cimarec), cawan porselen, mortar dan stamper, oral sonde tikus, *stop watch*, *object glass* dan *deck glass* (Citoplus), mikroskop cahaya (Olympus BX53F), tempat makan dan minum tikus, dan timbangan hewan (Ohaus).

## 3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang ada pada penelitian ini adalah:

### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis jahe merah dan sidaguri pada tiap kelompok kombinasi, yakni sebagai berikut:

K1 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB

K2 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB

K3 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 160 mg/200 g BB

K4 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB dan daun sidaguri 40 mg/200 g BB

Kelompok dosis tunggal ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB serta Na diklofenak dengan dosis 27 mg/200 g BB.

### 3.4.2 Variabel Terikat

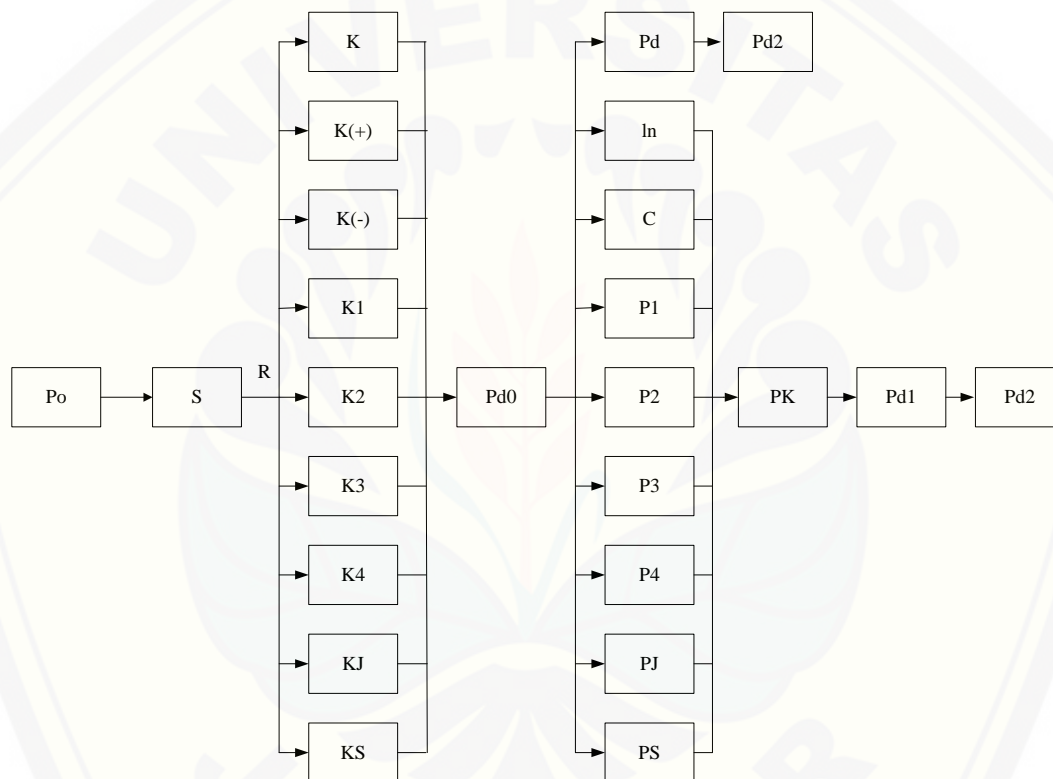
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel neutrofil.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar, jenis kelamin, umur dan berat badan tikus.

### 3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *Pre and Post Test Control Group Design*. Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

P<sub>0</sub> : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok kontrol normal

K(-) : Kelompok kontrol negatif, kelompok tikus yang diberi suspensi CMC Na 1 %

- K1 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (1:1)
- K2 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (2:1)
- K3 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 160 mg/200 g BB (1:2)
- K4 : Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB dan daun sidaguri 40 mg/200 g BB (0,5:0,5)
- K(+): Kelompok kontrol positif, kelompok tikus yang diberi Na diklofenak 27 mg/200 g BB
- KJ : Kelompok perlakuan ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB
- KS : Kelompok perlakuan ekstrak sidaguri daun sidaguri 80 mg/200 g BB
- C : Pemberian CMC Na 1%
- In : Pemberian suspensi Na diklofenak 27 mg/200 g BB
- Pk : Pemberian 0,1 ml karagenin 1% secara intraplantar 1 jam setelah perlakuan
- P1 : Pemberian kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (1:1)
- P2 : Pemberian kombinasi ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (2:1)
- P3 : Pemberian kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 160 mg/200 g BB (1:2)
- P4 : Pemberian kombinasi ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB dan daun sidaguri 40 mg/200 g BB (0,5:0,5)
- PJ : Pemberian suspensi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB
- PS : Pemberian suspensi ekstrak daun sidaguri 80 mg/200 g BB
- Pd0 : Pengambilan darah dari ekor tikus pada jam ke 0
- Pd : Pengambilan darah dari ekor tikus selang 3 jam setelah jam ke 0

Pd1 : Pengambilan darah dari ekor tikus selang waktu 3 jam setelah penyuntikan karagenin (t3).

Pd2 : Pengambilan darah dari ekor tikus selang waktu 3 jam setelah pengambilan darah pada waktu t3 (t6).

### 3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

1. Jahe merah dan daun sidaguri yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari daerah Kulon Progo dan Klaten Yogyakarta dalam bentuk simplisia yang telah diidentifikasi oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan. Jahe merah dipanen ketika umur 11 bulan pada bulan September sedangkan daun sidaguri dipanen ketika tanaman sidaguri telah berbunga.
2. Kombinasi ekstrak jahe merah dan daun sidaguri adalah pencampuran antara suspensi ekstrak jahe merah dan ekstrak daun sidaguri yang masing masing disuspensikan dalam CMC 1%.
3. Dosis ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB tikus dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB tikus adalah penelitian dari Kitagata-cho (2007) dan Khalil *et al.* (2006). Dosis ini dianggap dosis 1 kali sehingga untuk pengujian pada penelitian ini dibuat dosis 1 kali , 2 kali, dan ½ kali.
4. Aktivitas antiinflamasi diukur dengan membandingkan jumlah rata-rata % neutrofil tiap kelompok pada sediaan hapus darah setelah perlakuan pada hewan uji.

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Penyiapan Hewan Uji

Seminggu sebelum pengujian, hewan uji diadaptasikan pada kandang yang memiliki ventilasi yang baik dan selalu dijaga kebersihannya. Hewan yang sehat ditandai dengan kenaikan berat badan dan memperlihatkan gerakan yang lincah.

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Hal ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer (Jusman & Halim, 2009) sebagai berikut:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dimana: t adalah jumlah perlakuan

n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

pada penelitian ini, jumlah perlakuan adalah 9, maka jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan adalah 2,875, sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 3 ekor.

#### 3.7.2 Penyiapan Simplisia Uji

Penyiapan simplisia uji meliputi determinasi tumbuhan dan pengumpulan simplisia.

##### a. Determinasi Tanaman

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

##### b. Pengumpulan simplisia

Tanaman yang digunakan adalah rimpang jahe merah dan daun sidaguri yang didapat dari Yogyakarta dalam bentuk simplisia. Simplisia yang didapat kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang teduh tidak terkena sinar matahari.

### 3.7.3 Pembuatan Ekstrak

#### a. Ekstraksi Jahe Merah

Proses ekstraksi jahe merah ini dilakukan dengan metode digesti yaitu dengan memasukkan 100 g serbuk jahe merah yang telah ditimbang ke dalam gelas kimia 1000 mL. Ditambah etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Dipanaskan dengan *hotplate* dan diaduk selama 120 menit pada suhu 40°C. Didiamkan selama 24 jam sehingga serbuk jahe merahnya mengendap. Disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh ekstrak jahe merah. Ekstrak jahe merah dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* dan diuapkan diatas *waterbath* sampai didapatkan ekstrak dengan bobot konstan (Putri, 2014). Ditimbang berat ekstraknya menggunakan timbangan analitik dan dihitung % rendemennya.

#### b. Ekstraksi Daun Sidaguri

Proses ekstraksi daun sidaguri dilakukan dengan metode perkolasi yaitu sebanyak 350 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana tertutup dan dibasahi dengan etanol 70% selama 3 jam. Pada bagian bawah perkolator diberi kapas dan diatas kapas diletakkan kertas saring. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, kemudian cairan penyari dituangkan secukupnya atau kurang lebih  $\frac{3}{4}$  dari perkolator, kemudian perkolator ditutup dan dibiarkan 24 jam. Setelah 24 jam, kran perkolator dibuka dengan mengatur kecepatan aliran perkolatnya. Perkolat ditampung dalam wadah *beaker glass*. Cairan penyari ditambahkan berulang-ulang secukupnya apabila hanya terdapat selapis cairan penyari di atas serbuk simplisia. Perkolasi dihentikan apabila perkolat yang keluar dari kran perkolator telah jernih. Perkolat yang diperoleh dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1980).

### 3.7.4 Penetapan Dosis Hewan Uji

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak daun sidaguri dosis 400 mg/kg mampu menghambat edema pada tikus yang diinduksi karagenin 1% (Khalil *et al.*,



2006). Dosis 400 mg/kg setara dengan 80 mg/200 g BB tikus, kemudian dibuat tingkatan dosis menjadi 40mg/200 g BB, 80 mg/200 g BB, dan 160 mg/200 g BB (Lampiran A).

Dosis ekstrak jahe merah sebagai antiinflamasi adalah 100 mg/kg mencit secara oral (Kitagata-Cho, 2007). Kemudian dosis tersebut dikonversi dan dibuat tingkatan dosis menjadi 7 mg/200 g BB, 14 mg/200 g BB, dan 28 mg/200 g BB (Lampiran A). Dengan demikian, pada penelitian ini digunakan kombinasi dosis sebagai berikut:

- a. Dosis kombinasi 1(K1) = ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB + ekstrak daun sidaguri 80 mg/200 g BB
- b. Dosis kombinasi 2 (K2) = ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB + ekstrak daun sidaguri 80 mg/200 g BB
- c. Dosis kombinasi 3 (K3) = ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB + ekstrak daun sidaguri 160 mg/200 g BB
- d. Dosis kombinasi 4 (K4) = ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB + ekstrak daun sidaguri 40 mg/200 g BB

#### 3.7.5 Pembuatan Kombinasi Ekstrak

Pada penelitian ini volume per oral yang diberikan adalah 2 ml untuk setiap hewan uji dengan berat 200 g. Dalam 2 ml tersebut, terdapat 1 ml suspensi ekstrak jahe merah dan 1 ml suspensi ekstrak daun sidaguri. Dengan demikian, masing-masing ekstrak disuspensikan dalam larutan CMC 1 % terlebih dahulu, kemudian kedua suspensi ekstrak dicampur dan dihomogenkan.

#### 3.7.6 Pembuatan Larutan CMC 1%

Ditimbang 1 gram CMC kemudian ditaburkan di atas 20 ml air panas (20 kali berat CMC) dan dibiarkan sampai mengembang. Kemudian diaduk sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah air sampai 100 ml.

### 3.7.7 Pembuatan Suspensi Na diklofenak

Obat pembeding Na diklofenak dibuat dalam bentuk suspensi menggunakan CMC 1% dengan dosis 27 mg/200 g BB.

### 3.7.8 Pembuatan Suspensi Karagenin 1%

Karagenin 1% diperoleh dengan menyuspensikan 1 gram karagenin dalam 100 ml suspensi CMC 1%.

### 3.7.9 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Tikus diadaptasikan selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan dan dikelompokkan menjadi 9 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Tikus dipuasakan selama lebih kurang 18 jam sebelum perlakuan, namun tetap diberikan air minum (*ad libitum*), kemudian ditimbang. Diambil darah tikus dari ekor tikus pada waktu ke-0. Masing-masing kelompok diberikan perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok kontrol normal tidak diberikan perlakuan
- b. Kelompok kontrol (+) diberi suspensi Na diklofenak 27 mg/200 g BB dalam 2 ml/200 g BB
- c. Kelompok kontrol (-) diberi CMC 1 % 2 ml/200 g BB
- d. Kelompok kombinasi 1 diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (1:1)
- e. Kelompok kombinasi 2 diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB (2:1)
- f. Kelompok kombinasi 3 diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 160 mg/200 g BB (1:2)
- g. Kelompok kombinasi 4 diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB dan daun sidaguri 40 mg/200 g BB (0,5:0,5)

- h. Kelompok ekstrak tunggal jahe merah diberikan suspensi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB
- i. Kelompok ekstrak tunggal sidaguri diberikan suspensi ekstrak daun sidaguri 80 mg/200 g BB

Satu jam setelah diberikan perlakuan, telapak kaki tikus disuntik secara intraplantar dengan 0,1 ml larutan karagenin 1%. Tiga jam setelah disuntik karagenin darah diambil dari ekor tikus pada waktu ke t3. Tiga jam setelah pengambilan darah pada waktu t3 diambil darah kembali dari ekor tikus pada waktu t6. Masing-masing sampel darah pada tiap waktu (t0, t3, dan t6) dibuat sediaan hapus sesaat setelah pengambilan darah, kemudian dilakukan analisis (Marparung, 2014).

#### 3.7.10 Prosedur Perhitungan Neutrofil

Aktivitas antiinflamasi dapat ditentukan dengan menghitung jenis leukosit yakni neutrofil (Aria *et al.*, 2015) yang diamati pada sediaan hapus.

##### a. Cara membuat sediaan hapus

Cara membuat sediaan hapus yaitu dengan meletakkan satu tetes kecil darah, pada 2-3 mm dari ujung kaca objek. Kaca penghapus diletakkan dengan sudut 30-45 derajat terhadap kaca objek di depan tetes darah kemudian kaca penghapus ditarik ke belakang sehingga menyentuh tetes darah, dan ditunggu sampai darah menyebar pada sudut tersebut. Dengan gerak yang mantap kaca penghapus didorong sehingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca objek. Hapusan darah dibiarkan mengering di udara (Depkes, 1992).

##### b. Cara mewarnai sediaan hapus

Cara mewarnai sediaan hapus yaitu dengan meletakkan sediaan hapus pada dua batang gelas di atas bak tempat pewarnaan. Selanjutnya sediaan hapus difiksasi dengan metanol absolut selama 2-3 menit dan kemudian digenangi dengan zat warna Giemsa 5% (dibiarkan selama 20-30 menit). Dibilas dengan air, mula-mula dengan

aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna kemudian dibiarkan sampai mengering (Depkes, 1992).

c. Pemeriksaan hitung neutrofil

Sediaan hapusan darah yang telah diwarnai dan dikeringkan, diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x, dicari bagian dimana eritrosit tersebar merata. Biasanya terdapat di bagian tipis sediaan. Lensa obyektif diganti dengan pembesaran 40x, kemudian 100x dan sediaan diberi minyak emersi. Tiap sel berinti pada daerah yang dilalui digolongkan dan dicatat sampai genap 100 sel (Depkes, 1992). Pada penelitian ini jenis sel leukosit yang dihitung hanya neutrofil (batang dan segmen).

### 3.8 Analisis Data

Data-data pengamatan aktivitas antiinflamasi kombinasi ekstrak jahe merah dan ekstrak daun sidaguri diperoleh dari setiap tikus wistar jantan yang diambil sampel darah sebanyak 3 kali yaitu pada saat:

1. Sebelum tikus wistar jantan diberikan karagenin (t0)
2. Tiga jam setelah tikus wistar jantan disuntikkan karagenin (t3)
3. Enam jam setelah tikus wistar jantan disuntikkan karagenin (t6)

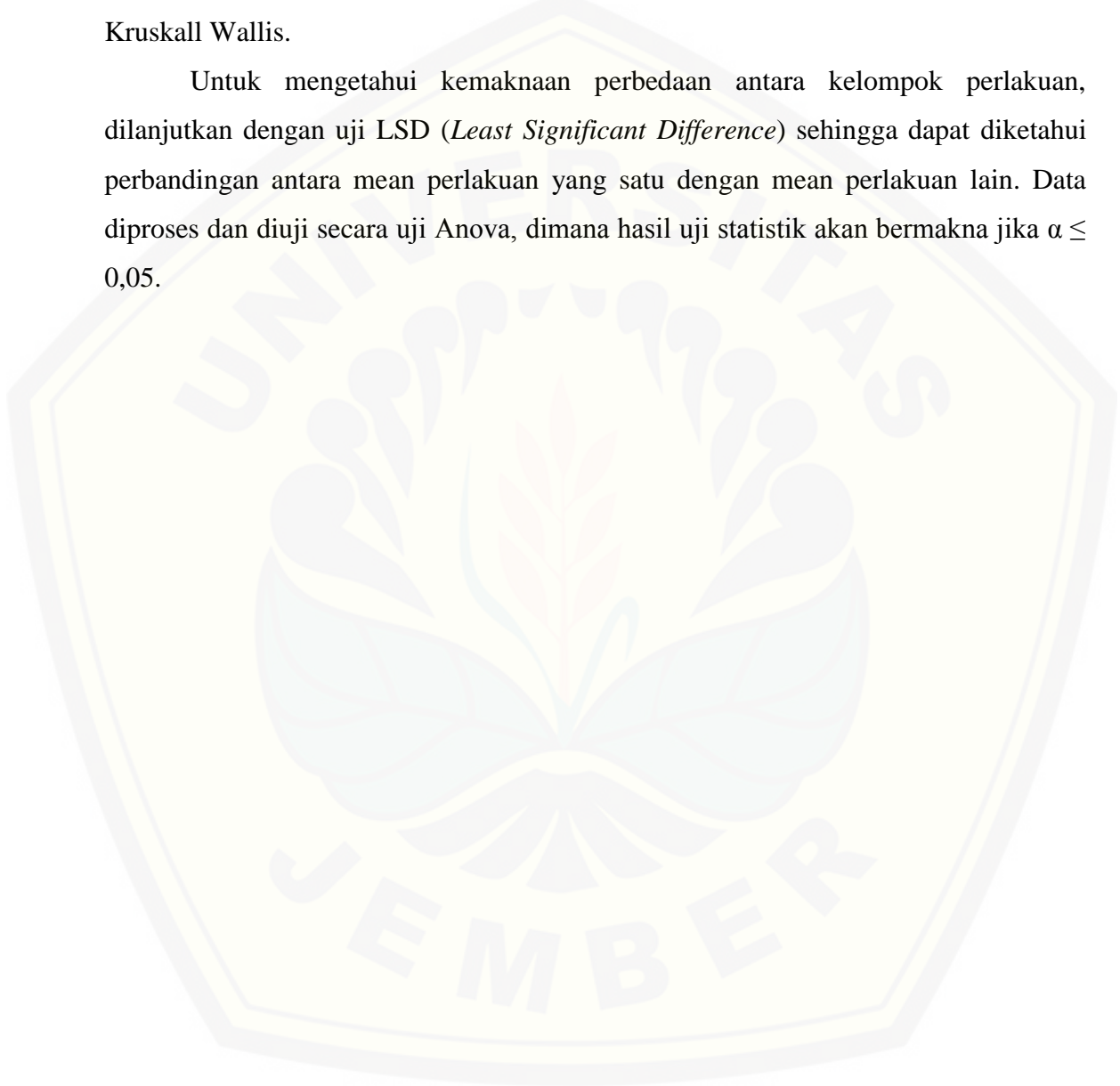
Setiap sampel darah tikus pada masing-masing waktu dibuat sediaan hapus dan diperiksa dengan mikroskop. Jumlah neutrofil (%) didapat dengan menghitung setiap 100 sel leukosit dengan cara menjumlahkan neutrofil batang dan segmen seperti rumus berikut.

$$\text{Jumlah neutrofil (\%)} = \frac{(\text{neutrofil batang} + \text{neutrofil segmen}) \times 100\%}{100 \text{ sel leukosit}}$$

Dari hasil penelitian yang dilakukan diperoleh data jumlah neutrofil (%) kemudian dijumlah dan dibuat rata-rata pada masing-masing kelompok, selanjutnya dihitung penurunan jumlah neutrofil pada waktu t3 dan t6 tiap kelompok (t3-t6). Data

penurunan jumlah neutrofil t3 dan t6 tiap kelompok tersebut dianalisis statistik menggunakan Anova satu arah dengan melihat uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (*Lavene*), namun jika sebaran data tidak normal dilakukan uji statistik Kruskall Wallis.

Untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antara kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) sehingga dapat diketahui perbandingan antara mean perlakuan yang satu dengan mean perlakuan lain. Data diproses dan diuji secara uji Anova, dimana hasil uji statistik akan bermakna jika  $\alpha \leq 0,05$ .



### 3.9 Skema Kerja



Gambar 3.2 Alur uji antiinflamasi

**Keterangan:**

K : Kelompok kontrol normal

K(-) : Kelompok kontrol negatif, diberikan suspensi CMC Na 1 %

K1 : Kelompok kombinasi 1, diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB

K2 : Kelompok kombinasi 2, diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 28 mg/200 g BB dan daun sidaguri 80 mg/200 g BB

K3 : Kelompok kombinasi 3, diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB dan daun sidaguri 160 mg/200 g BB

K4 : Kelompok kombinasi 4, diberikan kombinasi ekstrak jahe merah 7 mg/200 g BB dan daun sidaguri 40 mg/200 g BB

K(+): Kelompok kontrol positif, diberikan suspensi Na diklofenak 27 mg/200 g BB

KJ : Kelompok ekstrak tunggal jahe merah diberikan suspensi ekstrak jahe merah 14 mg/200 g BB

KS : Kelompok ekstrak tunggal diberikan suspensi ekstrak sidaguri daun sidaguri 80 mg/200 g BB

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil uraian pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi ekstrak etanol jahe merah dan daun sidaguri pada perbandingan dosis 2:1 dan 1:2 mempengaruhi jumlah sel neutrofil dengan menurunkan jumlah sel neutrofil sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi antiinflamasi.
2. Kombinasi ekstrak etanol jahe merah dan daun sidaguri pada perbandingan dosis 2:1 dengan 1:2, kelompok ekstrak tunggal jahe merah dengan sidaguri memiliki aktivitas antiinflamasi yang tidak berbeda signifikan, sedangkan pada kelompok lain dan kontrol positif memiliki aktivitas antiinflamasi yang berbeda signifikan dalam menurunkan jumlah sel neutrofil.

### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu penelitian lebih lanjut terkait dengan mekanisme aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol kombinasi jahe merah dan daun sidaguri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Rasool, Bilal, Rehman, Bhat, Amin, Arif, Rasool, Bhat, Afzal, Hussain, Bilal, dan Mir. 2015. A Review on Pharmacological Properties of Zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone). *The Scientific World Journal*. Vol. 2015: 1-6.
- Ali, Blunden, Tanira, dan Nemmar. 2008. Some Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A Review of Recent Research. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 46: 409-420.
- Alpiansyah, A. 2015. Antihyperuricemia Potential of *Sida rhombifolia* L. as a Treatment for Gout. *Journal Majority*. Vol. 4 (3): 9-13.
- Anonim. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Apriani, D. R. 2011. "Uji Efek Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Air Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn.) dan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Udem Telapak Kaki Tikus yang Diinduksi Karaginan." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi.
- Aria, M., Verawati, Arel, A., dan Monika. 2015. Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Piladang (*Solenostemonscutellarioides* (L.) Codd) terhadap Mencit Putih Betina. *Scientia*. Vol. 5 (2): 84-91.
- Ashok, Rajani, Arulmozhi, Hulkoti, Desai, dan Rajendran. 2006. Anti-inflammatory and Anti-ulcerogenic Effect of *Crotalaria juncea* Linn. in Albino Rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*. Vol. 5 (2): 141-144.
- Aswani, Manalu, Suprayogi, dan Rahminiwati. 2015. Potensi Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) dan Kunyit (*Curcuma longa*) untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim Glutation Peroksidase (Gsh-Px) pada Jaringan Hati Tikus. *Berita Biologi*. Vol. 14 (3): 259-265.
- Bain, Bates, Laffan, dan Lewis. 2011. *Dacie and Lewis Practical Haematology, 11ed*. Churchill Livingstone: Elsevier.



- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi 9. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Barik, Kanungo, Tripathy, Panda, dan Padhi. 2015. A Review on Therapeutic Potential of Polyherbal Formulations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. Vol. 7 (3): 211-228.
- Bartley, J. dan Jacobs, A. 2000. Effects of Drying on Flavour Compounds in Australian-grown Ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 80: 209-215.
- Behal, Kanwar, Sharma, dan Sanyal. 2009. Effect of Non-steroidal Antiinflammatory Drug Etoricoxib on the Hematological Parameters and Enzymes of Colon and Kidney. *Nutrition Hospital*. Vol. 24 (3): 326-332.
- Breemen, R. B., Tao, Y., dan Li, W. 2011. Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Ginger (*Zingiber officinale*). *Fitoterapia*. Vol. 82 (1): 38-43.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2015. *Inflammatory Bowel Disease*. [serial online]. <http://www.cdc.gov/ibd/ibd-epidemiology.htm> [diakses 24 Februari 2015].
- Corsini, Paola, Viviani, Genovese, Mazzon, dan Lucchi. 2005. Increased Carrageenan-Induced Acute Lung Inflammation in Old Rats. *Immunology*. Vol. 115 (2): 63-253.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Puspa Swara.
- Denyer, C. V., Jackson, P., dan Loakes, D. M. 1994. Isolation of Antirhinoviral Sesquiterpenes from Ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Natural products*. Vol. 57 (5): 658-662.
- Depkes RI. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Cetakan 1. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Halaman 94-98.
- Depkes RI. 1992. *Petunjuk Pemeriksaan Hematologi*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Depkes RI. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid 4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, A. T. S., Puspawati, N. M., dan Suarya, P. 2015. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Eter Kulit Batang Tenggulun (*Protium javanicum Burm*) terhadap Edema pada Tikus Wistar yang Diinduksi dengan Karagenan. *Jurnal Kimia*. Vol. 9 (1): 13-19.
- Dinda, Das, Dinda, Dinda, dan SilSharma. 2015. The Genus *Sida L.* a Traditional Medicine: Its Ethnopharmacological, Phytochemical, and Pharmacological Data for Commercial Exploitation in Herbal Drugs Industry. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 176:1-164.
- Dorland, W. A. N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 1. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto. Jakarta: EGC.
- Farsam, H., Amanlou, M., Dehpour, A.R., dan Jahaniani, F. 2000. Antiinflammatory and Analgesic Activity of *Biebersteinia Multifida* DC. Root [6]-gingerol. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 71: 443-447.
- Feldman, B. F . 2000. *Veterinary Hematology*. Edisi 5. California: Lippincot William and Wilkins.
- Fitriyani, Winarti, Muslichah, dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 16 (1): 34-42.
- Globinmed. 2013. *Medicinal Herbs and Plants Database*. [serial online]. [http://www.globinmed.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=104897:zingiber-officinale-roscoe-var-rubrum&catid=209&Itemid=143](http://www.globinmed.com/index.php?option=com_content&view=article&id=104897:zingiber-officinale-roscoe-var-rubrum&catid=209&Itemid=143) [20 Februari 2016].
- Ghosh, G. dan Das, D. 2015. An Overview on Therapeutic Potential and Phytochemistry of *Sida rhombifolia* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Vol. 35: 209-216.
- Grzanna, R., Lindmark, L., dan Frondoza, C. G. 2005. Ginger an Herbal Medicinal Product with Broad Anti-Inflammatory Actions. *Journal of Medicinal Food*. Vol. 8 (2): 125-132.
- Gupta, Nath, Srivastava, Shanker, Kishor, dan Bhargava. 1980. Anti-Inflammatory and Antipyretic Activities of  $\beta$ -Sitosterol. *Planta Medicinal*. Vol. 39: 63-157.

- Guyton, A.C. & Hall, J. E. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. Edisi 11. USA: Elsevier Saunders.
- Handayani, W. 2008. *Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Jakarta: Salemba Medika.
- Herlina, Murhananto, Listiyani, dan Pribadi. 2002. *Khasiat Manfaat Jahe Merah Si Rimpang Ajaib*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Hernani dan Hayani, E. 2001. *Identification of Chemical Components on Red Ginger (Zingiber officinale var. rubrum) by GC-MS*. Proc. International Seminar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources. UI-Unesco. Jakarta: 501-505
- Hidalgo, M., Moreno, C. S., dan Teresa, S. P. 2010. Flavonoid–flavonoid Interaction and Its Effect on Their Antioxidant Activity. *Food Chemistry*. Vol. 121: 691-696.
- Hoff, J. 2000. Method of Blood Collection in the Mouse. *Laboratoty Animal*. Vol. 29 (10): 47-53.
- Hoffbrand, V. & Mehta, A. B. 2005. *Hematology at a Glance*. Edisi 2. USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Ikawati, Z. 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Iswantini, D., Darusman, L. K., dan Hidayat, R. 2009. Indonesia Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) as Antigout and Inhibition Kinetics of Crude Extract on the Activity of Xanthine Oxidase. *Journal of Biological Science*. Vol. 9 (5): 504-508.
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2015. *Taxonomic Hierarchy*. [serial online]. <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt.html> [3 Oktober 2015].
- Jolad, Lantz, Chen, Bates, dan Timmermann. 2005. Commercially Processed Dry Ginger (*Zingiber officinale*): Composition and Effects on LPS-stimulated PGE<sub>2</sub> Production. *Phytochemistry*. Vol. 66 (13): 1614-1635.

- Jolad, Lantz, Chen, Bates, dan Timmermann. 2004. Fresh Organically Grown Ginger (*Zingiber officinale*): Composition and Effects on LPS-induced PGE<sub>2</sub> Production. *Phytochemistry*. Vol. 65 (13): 1937-1954.
- Jusman, S. W. dan Halim, A. 2009. Oxidative Strees in Liver Tissue of Rat Induced by Chronic Systemic Hypoxia. *Makara Kesehatan*. Vol. 13 (1): 34-38.
- Katrin, Andayani, Susanto, dan Winarno. 2014. Pengaruh Iradiasi Gamma Pada Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale*). *A Scientific Journal for The Applications of Isotopes and Radiation*. Vol. 10 (1): 55-70.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 11. New York: McGraw-Hill.
- Khalil, N. M., Sperotto, J. S., dan Manfron, M. P. 2006. Antiinflammatory Activity of the Hydroalcoholyc Extract of Leaves of *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae). *Acta Farmaceutica Bonaerense*. Vol. 25 (2): 260-261.
- Kitagata-cho, N. 2007. *Red Ginger Extract: All Natural Anti-Arthritic and Anti-inflammatory Agent for Food & Cosmetics Applications*. Japan: Oryza Oil & Fat Chemical.
- Koopman, W. J. & Moreland, L. W. 2004. *Therapeutic Approaches in the Rheumatic Diseases, in Arthritis and Allied Condition, A Textbooks of Rheumatology*. Edisi 15. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kuek, A., Hazleman B. L., dan Ostör A. J. 2007. Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMIDs) and Biologic Therapy: a Medical Revolution. *Postgrad Medical Journal*. Vol. 83: 60-251.
- Kumar, V., Abbas, A. K., dan Aster, J. C. 2012. *Robbins Basic Pathology*. Edisi 9. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Logeswari, Dineshkumar, Kumar, dan Usha. 2013. In-vivo Anti-Inflammatory Effect of Aqueous and Ethanolic Extract of *Sida rhombifolia* L. Root. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 4 (1): 316-321.
- Marparung, O. P. E. 2014. "Efek Ekstrak Metanol dan Ekstrak N-Heksana Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Jumlah dan Hitung Jenis Leukosit pada Tikus Wistar Jantan setelah Diinduksi Karagenan." Tidak Diterbitkan. Tesis. Medan: Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara

- Mishra, P. 2009. Isolation, Spectroscopic Characterization, and Molecular Modeling Studies of Mixture of *Curcuma longa*, Ginger, and Seeds of Fenugreek. *International Journal of Pharmaceutical Technology Research*. Vol. 1 (1): 79-95.
- Morris, Christopher J. 2003. Carageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. In P. G Winyard and D. A. Willoughby (Ed). *Methods in Molecular Biology*, Vol. 225: *Inflammation Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press Inc.
- Muti'ah, Enggar, Winarsih, Soemarko, dan Simamora. 2010. Kombinasi Ekstrak Batang Talikuning dan Artemisin sebagai Obat Antimalaria terhadap *Plasmodium berghei*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. 26(1): 8-13.
- Navarro, Giner, Recio, Manez, Nicolas, dan Rios. 2001. In Vivo Anti-inflammatory Activity of Saponins from Pilar Navarro a *Bupleurum rotundifolium*. *Life Sciences*. Vol. 68: 1199-1206.
- Ouédraogo, Zerbo, Konate, Barro, dan Sawadogo. 2013. Effect of Long-term Use of *Sida rhombifolia* L. Extract on Haemato-biochemical Parameters of Experimental Animals. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. Vol.4 (1): 18-24.
- Patel, M., Murugananthan, dan Shivalinge, G. K. P. 2012. In Vivo Animal Models in Preclinical Evaluation of AntiInflammatory Activity-A Review. *International Journal of Pharmaceutica Research & Allied Sciences*. Vol. 1 (2): 1-5.
- Price, S., & Price, L. M. 2006. *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Processes*. Edisi 6. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto, Natalia Susi, Pita Wulansari dan Dewi Asih Mahanan. Jakarta: EGC.
- Putri, Dea Alvicha. 2014. "Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi Terhadap Aktivitas Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) sebagai Antibakteri *Escherchia coli*." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bengkulu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.
- Quality Control Departemen. 1999. *Zingiber officinale*. Bangalore: Natural Remedies-Research Center.

- Rahmania, S. 2013. "Daya Hambat Siklooksigenase-2 oleh Campuran Ekstrak Suruhan (*Peperomia pellucida*) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale*) dalam Inflamasi." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Rizki, Kinanthi Putri. 2016. "Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) pada Mencit Jantan Hiperurisemia." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Roberts, L. J., dan Morrow, J. D. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi, Volume 1*. Edisi 10. Terjemahan oleh Tim alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. 2007. Jakarta: EGC.
- Ross, I. 1999. *Medicinal Plants of the World Chemical Constituent, Traditional, & Modern Medicinal Uses*. New Jersey: Humana Press.
- Santosa, Budi. 2010. *Differential Counting Berdasarkan Zona Baca Atas dan Bawah pada Preparat Darah Apus*. Prosiding Seminar Nasional Unimus. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Samuelsson, Gunnar. 1999. *Drugs of Natural Origin: A Textbook of Pharmacognosy 4<sup>th</sup> revised edition*. Sweden: Apotekarsocieteten.
- Sandhar, Kumar, Prasher, Tiwari, Salhan, dan Sharma. 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1 (1): 25-41.
- Singh, A., Maholtra, S., dan Subban, R. 2008. Antiinflammatory and Analgesic Agents from Indian Medicinal Plants. *International Journal of Inegrative Biology*. Vol. 3 (1): 57-72.
- Sitompul, Ratna. 2011. Kortikosteroid dalam Tata Laksana Uveitis: Mekanisme Kerja, Aplikasi Klinis, dan Efek Samping. *Journal of Indonesian Medical Association*. Vol. 61: 265-269.
- Smoak, K. A. dan Cidlowski, J. A. 2008. Corticosteroid in Uveitis Management: Mechanism of Action, Clinical Application and Side Effects. *Journal of Indonesian Medical Association*. Vol. 61: 9-265.

- Sudiono. 2005. *Penuntun Patologi Klinik: Hematologi*. Jakarta: Bagian Patologi Klinik FK UKRIDA.
- Suhendi, Nurcahyanti, Muhtadi, dan Sutrisna. 2011. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Air Jinten Hitam (*Coleus ambonicus* Lour) pada Mencit Jantan Galur Balb-C dan Standarisasinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 22 (2): 77-84.
- Sulaiman, Moin, Alias, dan Zakaria. 2008. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Sida rhombifolia* L. in Various Animal Models. *Research Journal of Pharmacology*. Vol. 2 (2): 13-16.
- Sweetman, S. C. 2009. *Martindale the Complete Drug Reference*. Edisi 36. London: Pharmaceutical Press.
- Tjay, T. H. dan Rahardja, K. 2002. *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi 6. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Tripathi, S., Maier, K. G., Bruch, D., dan Kittur, D. S. 2007. Effect of 6-gingerol on Pro-inflammatory Cytokine Production and Costimulatory Molecule Expression in Murine Peritoneal Macrophages. *Journal of Surgical Research*. Vol. 138: 209-213.
- Useful Tropical Plants. 2014. *Data base Sida rhombifolia Linn.* [serial online]. <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Sida%20rhombifolia> [20 Februari 2016].
- Vogel, H. G. dan Vogel, W. H. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. Heidelberg: Springer Verlag Berlin.
- Wasito, H. 2011. *Obat Tradisional Kekayaan Indonesia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wibowo, S. dan Gofir, A. 2001. *Farmakoterapi dalam Neurologi*. Jakarta: Salemba Medika.
- Wilmana, P.F. dan Gan, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Depok: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wright, Moots, Bucknall, dan Edwards. 2010. Neutrophil Function in Inflammation and Inflammatory Disease. *Oxford University Press Rheumatology*. Vol. 49: 1618-1631.

## Lampiran A. Penentuan dosis ekstrak Jahe Merah dan Ekstrak Daun Sidaguri

## a. Ekstrak Jahe Merah

Dosis lazim ekstrak etanol jahe merah = 100 mg/kg mencit secara oral (Kitagata-cho, 2007)

Konversi dosis tiap mencit dengan berat 20g =  $100 \text{ mg}/1000 \text{ g} \times 20 \text{ g} = 2 \text{ mg}/20 \text{ g}$  BB mencit

Faktor konversi dari mencit ke tikus = 7

Konversi dosis dari mencit ke tikus = dosis mencit x faktor konversi dari mencit ke tikus berat badan 200 g =  $2 \text{ mg} \times 7 = 14 \text{ mg}/200 \text{ g}$  BB tikus

Variasi dosis uji yang digunakan pada penelitian ini adalah:

Dosis 1 = 7 mg/200 g BB tikus

Dosis 2 = 14 mg/200 g BB tikus

Dosis 3 = 28 mg/200 g BB tikus

## b. Ekstrak Daun Sidaguri

Dosis Lazim ekstrak daun Sidaguri = 400 mg/kg tikus secara oral (Khalil *et al.*, 2006).

Konversi ke tikus dengan berat badan 200 g =  $400 \text{ mg}/1000\text{g} \times 200 \text{ g} = 80 \text{ mg}/200 \text{ g}$  BB tikus

Variasi dosis uji yang digunakan pada penelitian ini adalah:


Dosis 1 = 40 mg/200 g BB tikus

Dosis 2 = 80 mg/200 g BB tikus

Dosis 3 = 160 mg/200 g BB tikus




## Lampiran B. Hasil Determinasi Tanaman Jahe Merah



**LIPI**

**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**

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>



---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
**No. 1454 /IPH.6/HM/X/2015**

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

**Aulia Putri Kandy, NIM : 122210101063**

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 16 Oktober 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume III, tahun 1968, halaman 44-46 dan buku PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 13; Spices, editor C.C.de Guzman dan J.S. Siemonsma, tahun 1999, halaman 238 nama Ilmiahnya adalah :


Genus : *Zingiber*  
Species : *Zingiber officinale* Roscoe

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Liliopsida*  
Subclass : *Zingiberidae*  
Ordo : *Zingiberales*  
Family : *Zingiberaceae*


Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 21 Oktober 2015  
An.Kepala  
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,




**Deden Mudiana, S.Hut, M.Si**

## Lampiran C. Hasil Determinasi Tanaman Sidaguri



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**

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>



---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 1451 /IPH.6/HM/X/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

**Aulia Putri Kandy, NIM : 122210101063**

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 16 Oktober 2015, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 427 dan buku PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2, editor J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyaphratsara, tahun 2002, halaman 500 nama ilmiahnya adalah :


Genus : *Sida*  
Species : *Sida rhombifolia* L.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XIV, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Dilleniidae*  
Ordo : *Malvales*  
Family : *Malvaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 27 Oktober 2015  
An.Kepala  
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



**Deden Mudiana, S.Hut, M.Si**

## Lampiran D. Perhitungan hitung jenis leukosit

Cara perhitungan hitung jenis leukosit:

1. Penghitungan hitung jenis leukosit dilakukan pada daerah perhitungan, dimulai dari daerah yang tipis bergerak menuju sisi yang tebal lalu pindah sejauh 2-3 lapangan.
2. Dibuat kolom untuk berbagai leukosit dan masing-masing dibagi menjadi 10.
3. Leukosit yang mula-mula terlihat dicatat pada kolom no.1, bila jumlahnya sudah sepuluh pindah mengisi kolom kedua dan seterusnya.
4. Dilakukan penghitungan jumlah leukosit.

Sel leukosit	Jumlah										%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Basofil	↓	↑										4
Eosinofil												1
Neutrofil batang												5
Neutrofil segmen												59
Limfosit												27
Monosit	↓											4
Jumlah	→											100

Sumber: Sudiono, *et al.* 2005. *Penuntun Patologi Klinik: Hematologi*. Jakarta: Bagian Patologi Klinik FK UKRIDA.

## Lampiran E. Data Perhitungan dan Analisa Data

Kelompok	Tikus ke	Jumlah neutrofil jam ke (%)			T3-T6(%)	Penurunan jumlah neutrofil $\pm$ SD (%)
		0	3	6		
K(-)	1	22	50	68	-18	$-17,00 \pm 0,82$
	2	23	50	67	-17	
	3	34	52	68	-16	
	4	23	45	62	-17	
K(+)	1	14	51	31	20	$19,25 \pm 0,50$
	2	21	51	32	19	
	3	15	53	34	19	
	4	20	55	36	19	
I	1	22	44	48	-4	$-4,00 \pm 0,82$
	2	17	45	48	-3	
	3	27	53	57	-4	
	4	23	45	50	-5	
II	1	28	48	40	8	$8,75 \pm 0,50$
	2	18	56	47	9	
	3	15	50	41	9	
	4	10	52	43	9	
III	1	16	63	54	9	$9,50 \pm 1,29$
	2	21	66	58	8	
	3	20	54	43	11	
	4	14	55	45	10	
IV	1	38	56	62	-6	$-4,75 \pm 0,96$
	2	32	58	62	-4	
	3	15	49	49	-5	
	4	21	54	58	-4	
Jahe Merah	1	19	42	36	6	$5,75 \pm 0,5$
	2	24	53	47	6	
	3	28	42	36	6	
	4	25	39	34	5	
Sidaguri	1	19	49	43	6	$6,75 \pm 0,96$
	2	35	58	51	7	
	3	21	52	46	6	

	4	24	53	45	8	
Normal	1	22	25	23	2	-1,25 ± 2,75
	2	28	25	28	-3	
	3	18	20	24	-4	
	4	22	24	24	0	



Lampiran F. Uji statistik penurunan jumlah neutrofil jam ke-3 dan jam ke-6

### 6.1 Uji Normalitas

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Selisiht3_t6						
Kontrol negatif	.250	4	.	.945	4	.683
kontrol positif	.441	4	.	.630	4	.001
kombinasi 1	.250	4	.	.945	4	.683
kombinasi 2	.441	4	.	.630	4	.001
kombinasi 3	.151	4	.	.993	4	.972
kombinasi 4	.283	4	.	.863	4	.272
jahe merah	.441	4	.	.630	4	.001
sidaguri	.283	4	.	.863	4	.272

a. Lilliefors Significance Correction

### 6.2 Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

Selisiht3\_t6

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.121	7	24	.382

### 6.3 Uji Kruskal Wallis

Syarat uji Anova data harus normal dan homogen, karena data tidak normal maka dilakukan analisis non parametrik Kruskal Wallis.

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank
Selisiht3_t6		
Kontrol negatif	4	2.50
kontrol positif	4	30.50
kombinasi 1	4	9.38
kombinasi 2	4	23.62
kombinasi 3	4	25.12
kombinasi 4	4	7.62
jahe merah	4	15.25
sidaguri	4	18.00
Total	32	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Selisiht3_t6
Chi-Square	29.842
df	7
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

#### 6.4 Post Hoc Test

##### Uji Mann Whitney

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisiht3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	kontrol positif	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisiht3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	kombinasi 1	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	kombinasi 2	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok



**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	kombinasi 3	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	kombinasi 4	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	jahe merah	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	Kontrol negatif	4	2.50	10.00
	sidaguri	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	kombinasi 1	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	kombinasi 2	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.428
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	kombinasi 3	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	kombinasi 4	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	jahe merah	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.428
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kontrol positif	4	6.50	26.00
	sidaguri	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 1	4	2.50	10.00
	kombinasi 2	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 1	4	2.50	10.00
	kombinasi 3	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 1	4	5.38	21.50
	kombinasi 4	4	3.62	14.50
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	14.500
Z	-1.084
Asymp. Sig. (2-tailed)	.278
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 1	4	2.50	10.00
	jahe merah	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 1	4	2.50	10.00
	sidaguri	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 2	4	3.75	15.00
	kombinasi 3	4	5.25	21.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.929
Asymp. Sig. (2-tailed)	.353
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok



**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 2	4	6.50	26.00
	kombinasi 4	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 2	4	6.50	26.00
	jahe merah	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.428
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 2	4	6.38	25.50
	sidaguri	4	2.62	10.50
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.247
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 3	4	6.50	26.00
	kombinasi 4	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 3	4	6.50	26.00
	jahe merah	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 3	4	6.38	25.50
	sidaguri	4	2.62	10.50
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.191
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 4	4	2.50	10.00
	jahe merah	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	kombinasi 4	4	2.50	10.00
	sidaguri	4	6.50	26.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Selisih3_t6	jahe merah	4	3.25	13.00
	sidaguri	4	5.75	23.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Selisih3_t6
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.654
Asymp. Sig. (2-tailed)	.098
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok