



**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID &
ALKALOID SERTA UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI
EKSTRAK ETANOLIK TEPUNG OTOT
(*Stellaria media* (L.) Vill)**

SKRIPSI

Oleh

MAS'ULIYATUL HUKMIYAH

142210101070

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID &
ALKALOID SERTA UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI
EKSTRAK ETANOLIK TEPUNG OTOT
(*Stellaria media* (L.) Vill)**

SKRIPSI

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

oleh

MAS'ULIYATUL HUKMIYAH

142210101070

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Subhanahu Wa Ta'ala dan Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi Wa Sallam;
2. Ayahanda Kasroh, Ibunda Yastukhah, dan seluruh keluarga yang senantiasa memberikan dukungan moril dan materiil serta doa;
3. Guru-guru dari mulai taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah membimbing dan tidak segan untuk memberikan ilmunya;
4. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

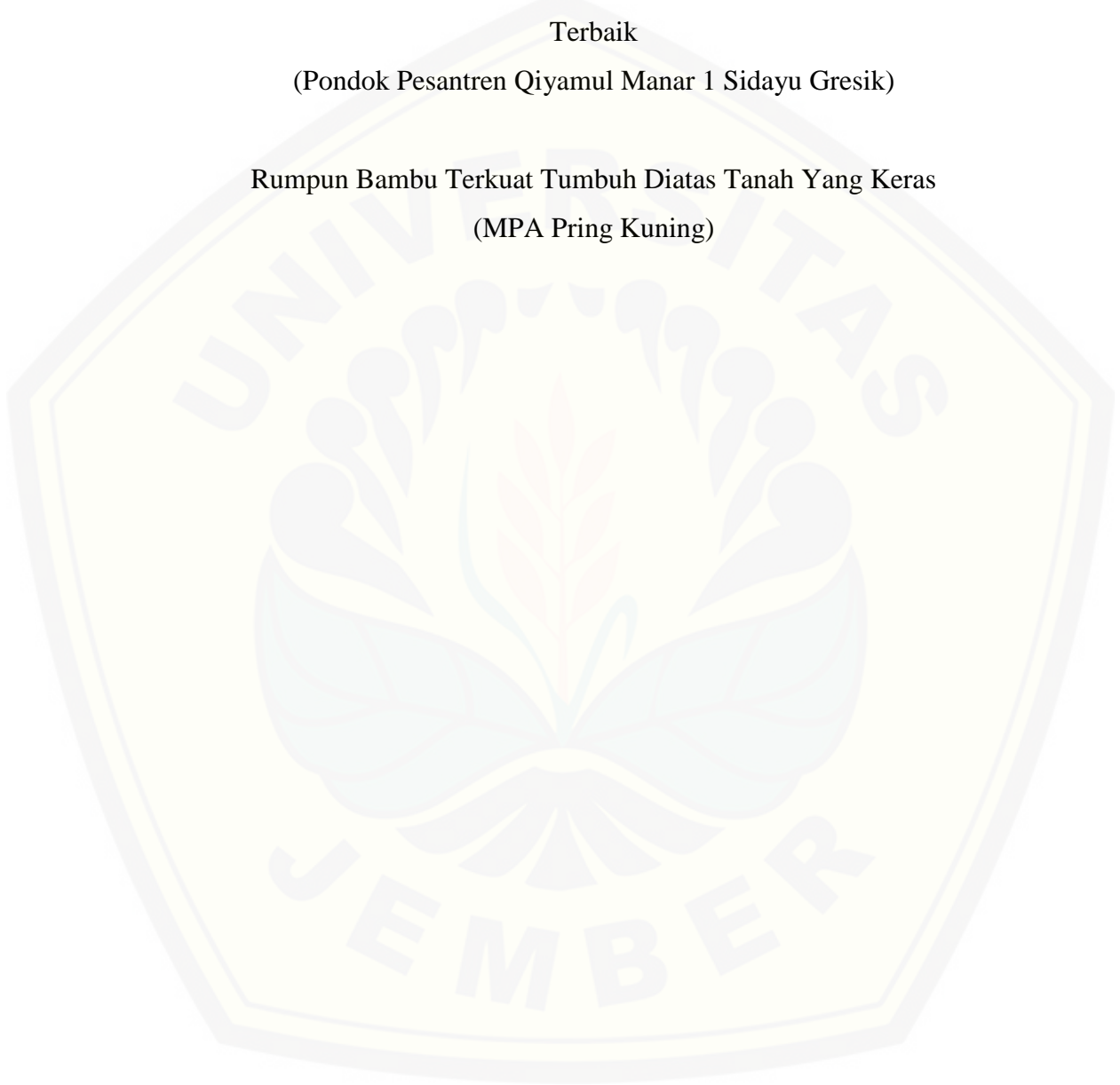
MOTTO

Bukan Tentang Siapa Yang Menjadi Tercepat Tetapi Tentang Siapa Yang Menjadi
Terbaik

(Pondok Pesantren Qiyamul Manar 1 Sidayu Gresik)

Rumpun Bambu Terkuat Tumbuh Diatas Tanah Yang Keras

(MPA Pring Kuning)



PERNYATAAN

Saya bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mas'uliyatul Hukmiyah

NIM : 142210101070

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis ilmiah dengan judul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria media* (L.) Vill)” adalah benar karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 14 September 2018

Yang menyatakan,

(Mas'uliyatul Hukmiyah)

NIM 142210101070

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL, FLAVONOID & ALKALOID SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOLIK TEPUNG OTOT
(*Stellaria media* (L.) Vill)**

Oleh

Mas'uliyatul Hukmiyah

142210101070

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria media* (L.) Vill)” telah diuji dan disahkan pada:

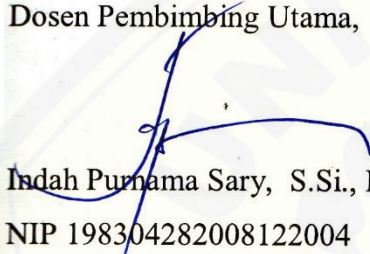
Hari, tanggal : Jum’at, 14 September 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,


Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.


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

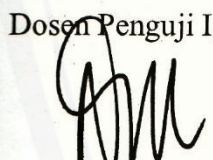
NIP 198304282008122004

NIP 198404062009122008

Tim Penguji:

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,


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


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

NIP 197604142002122001

NIP 197812212005012002



Mengesahkan

Dean Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria media* (L.) Vill); Mas'uliyatul Hukmiyah, 142210101070; 2018: 89 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Inflamasi atau peradangan merupakan respon normal jaringan hidup terhadap cedera atau infeksi yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimiawi, maupun zat-zat mikrobiologik. Parameter keberhasilan uji aktivitas antiinflamasi ini ditandai dengan adanya penurunan tebal udem mencit setelah induksi karagenan. Tepung otot (*Stellaria media*) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili Caryophyllaceae. Menurut beberapa penelitian, tumbuhan tepung otot mengandung senyawa phlobatanin, saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, triterpenoid, dan fenol. Sedangkan pada penelitian ini juga dilakukan skrining fitokimia dan didapatkan hasil bahwa tumbuhan tepung otot mengandung alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan polifenol. Selanjutnya dilakukan uji penetapan kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid didapatkan kadar fenol total sebesar $5,672 \pm 1,186$ mg GAE/g ekstrak, kadar flavonoid sebesar $4,732 \pm 0,172$ mg QE/g ekstrak dan kadar alkaloid sebesar $1,631 \pm 0,013$ mg BE/g ekstrak.

Uji aktivitas antiinflamasi menggunakan hewan uji mencit yang diinduksi karagenan dengan model inflamasi akut. Hewan uji akan diberi variasi dosis ekstrak etanol 96% tepung otot untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi paling optimal dengan melihat penurunan tebal udem mencit pada kelompok dosis dan kelompok kontrol. Pada pengujian aktivitas antiinflamasi diawali dengan pengukuran tebal plantar mencit dengan menggunakan jangka sorong dan dilakukan perhitungan tebal udem. Tebal plantar sebelum perlakuan disebut sebagai tebal plantar awal (T_0). Mencit diberikan perlakuan 1 jam sebelum diinduksi dengan suspensi karagenan 1%. Pengukuran tebal plantar dilakukan pada waktu 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 dan 6 jam setelah induksi karagenan (T_t). Data tebal udem yang didapat dihitung nilai AUC dan % daya antiinflamasi dan dianalisis menggunakan ANOVA.

Hasil dari uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan bahwa dosis 400 mg/kgBB ekstrak etanol 96% tepung otot merupakan dosis yang terbaik dari penelitian ini yang dapat digunakan sebagai alternatif antiinflamasi. Hasil uji statistik dosis 400 mg/kgBB dan kontrol positif menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan yang berarti memiliki kemampuan antiinflamasi yang hampir sama dengan natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB (kontrol positif).

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Fenol Total, Flavonoid & Alkaloid Serta Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanolik Tepung Otot (*Stellaria media* (L.) Vill)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember
2. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik
3. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota
4. Ibu Lestyo wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji II
5. Laboran Laboratorium Biologi, Kimia dan Biomedik Ibu Widi, Mbak Parka, Ibu Wayan, Mbak Hani, Mbak Dini, dan Mbak Indri yang banyak membantu peneliti
6. Bapak Kasroh, Emak Yastukhah, Mbak Fithriyah, dan Adik Ulin yang selalu memberikan dukungan moril, materiil dan tak lupa doanya
7. Mbak Sulis, Mas Fendik dan Alif yang mau menjadi keluarga selama di Jember
8. Partner skripsi yang omongannya cempreng yaitu Ompreng (Eva Wulandari)
9. Keluarga Besar “PHARMAGEN” yang mau berjuang bersama

10. Sahabat dunia akhirat “BS Squad” Frisda Savira Kusuma, Tya Uswatun Hasanah, Lisa Nurul Priskasari, Hildawati Ilham, dan Nadia Rosi Nur Haliza yang selalu sabar dalam menghadapiku
11. Dulur sak lawase “MPA PK ‘14” Syamsu Dhuha, Hildawati Ilham, Eva Wulandari, Mila Nur Azizah, Rizka Illa C, dan Aries Syafitri P yang biasa ngajak nongrong sampai pagi
12. Teman agak serius 2 tahun “MPM ‘14” Nur Alfi Syahrin, Novi Artha Liasari, Frisda Savira Kusuma, Hilma Imaniar, Amelia Dwi Kusuma, Erlinda Dwi Jayanti dan Nadya Dini Lestari
13. Anak Kost Muslim(ahhh) Hasnia Ika Syafitri, Zahra Puspa Diani, Liya Sanjaya, Ain Rahmania, Hilma Imaniar, Yuliana Ayu Puspitasari, dan Aqidatul Izza
14. Anak Kost Muslimah Lantai Atas terutama Zainur Ratna Savitri yang kamarnya sering penulis tongkrongi mulai dari nongkrong tanpa maksud sampai nongkrong sambil mengerjakan revisi
15. Keluarga “KKN 55 OA OE” Fitri Fauziah, Ratih Dhiyah Tri Rahayu, Dewi Ruhael Aprillia, Levia Christi Br Surbakti, Desi Ratnasari Sinaga, Denis Aditya, Barlian Ary Ajiwijaya, Edwinda Surya Anggana, dan Juniardi Putra Hariyanto yang telah mewarnai 45 hariku dan senantiasa ngajak caruk
16. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu

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

Jember, 14 September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Deskripsi Tumbuhan Tepung Otot	5
2.1.1 Klasifikasi Tepung Otot.....	5
2.1.2 Morfologi Tepung Otot	5
2.1.3 Khasiat Tumbuhan.....	6
2.1.4 Kandungan Kimia.....	7
2.2 Deskripsi Ekstraksi	7
2.2.1 Definisi Ekstraksi.....	7
2.2.2 Metode Ekstraksi	7
2.3 Skrining Fitokimia	8

2.4 Penetapan Kadar	10
2.4.1 Fenol total	11
2.4.2 Flavonoid	12
2.4.3 Alkaloid	12
2.5 Deskripsi Inflamasi	13
2.5.1 Mediator.....	14
2.5.2 Mekanisme terjadinya Inflamasi.....	15
2.6 Deskripsi Antiinflamasi	17
2.7 Uji Aktivitas Antiinflamasi	18
2.8 Deskripsi Karagenan dan Natrium Diklofenak	19
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.3 Rancangan Penelitian	21
3.4 Deskripsi Subjek Penelitian	22
3.4.1 Jumlah Hewan Penelitian	22
3.4.2 Kriteria Hewan Penelitian.....	22
3.5 Variabel Penelitian	22
3.5.1 Variabel Bebas.....	23
3.5.2 Variabel Terikat	23
3.5.3 Variabel Terkendali	23
3.6 Definisi Operasional	23
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.7.1 Alat Penelitian	24
3.7.2 Bahan Penelitian	24
3.8 Prosedur Penelitian	24
3.8.1 Penyiapan Simplisia.....	24
3.8.2 Ekstraksi Simplisia	25
3.8.3 Skrining Fitokimia	25
3.8.4 Penetapan Kadar	27
3.8.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi.....	32

3.8.6 Analisis Data.....	34
3.9 Skema Kerja Penelitian	35
3.9.1 Skema Kerja.....	35
3.9.2 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan.....	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Hasil	37
4.1.1 Determinasi Tumbuhan Tepung Otot.....	37
4.1.2 Ekstraksi Tumbuhan Tepung Otot.....	37
4.1.3 Skrining Fitokimia.....	37
4.1.4 Penetapan Kadar	38
4.1.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 96% Tumbuhan Tepung Otot	40
4.2 Pembahasan	43
BAB 5. PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot.....	38
4.2 Data Kadar Fenol Total Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot.....	39
4.3 Data Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot.....	40
4.4 Data Kadar Alkaloid Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot	40
4.5 Data % Daya Antiinflamasi Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot pada Mencit yang diinduksi Karagenan.....	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Herba <i>S. media</i>	6
2.2 Pembentukan Kompleks antara Pereaksi Folin-Ciocalteu dan Fenol	11
2.3 Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dan $AlCl_3$	12
2.4 Pembentukan Kompleks antara Alkaloid dan BCG.....	13
3.1 Rancangan Skematis Penelitian Uji Antiinflamasi	21
3.2 Skema Kerja.....	35
3.3 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan	36
4.1 Kurva Penurunan Tebal Udem masing-masing Kelompok	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran Perhitungan % Rendemen Ekstrak	56
Lampiran Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Feno Total	56
Lampiran Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Flavonoid.....	59
Lampiran Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Alkaloid.....	63
Lampiran Perhitungan Dosis Natrium Diklofenak	68
Lampiran Perhitungan Berat Ekstrak	68
Lampiran Hasil Skrining Fitokimia	71
Lampiran <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum	72
Lampiran Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	75
Lampiran Data Analisis Kadar Fenol Total	79
Lampiran Data Analisis Kadar Flavonoid.....	80
Lampiran Data Analisis Kadar Alkaloid.....	81
Lampiran Data Tebal Plantar, Tebal Udem Mencit dan Nilai AUC.....	82
Lampiran Analisis Data Statistik	86
Lampiran Dokumentasi	88
Lampiran Hasil Determinasi	89

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi atau peradangan merupakan respon normal jaringan hidup terhadap cedera atau infeksi yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimiawi, maupun zat-zat mikrobiologik (Henson, 2005). Terdapat beberapa gejala penanda terjadinya inflamasi yaitu *calor*, *rubor*, *dolor*, *tumor*, dan *functio laesa* (Stankov, 2012). Inflamasi yang terjadi segera setelah adanya rangsang iritan disebut sebagai inflamasi akut, sedangkan inflamasi yang terjadi dalam jangka panjang dan ditandai dengan adanya fibrosis atau hiperplasia disebut inflamasi kronis (Rankin, 2004). Sinusitis akut dan peritonitis adalah penyakit yang disebabkan oleh inflamasi akut, sedangkan bronkitis, aterosklerosis, osteoarthritis, dan reumatoid arthritis merupakan beberapa penyakit yang disebabkan oleh inflamasi kronis (Spite dan Serhan, 2010; Petersen dan Pedersen, 2005).

Agen terapi yang digunakan untuk menekan dan mengatasi proses inflamasi disebut antiinflamasi (Dorland, 2002). Obat antiinflamasi bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX) sehingga menurunkan biosintesis dari prostaglandin (Pountos dkk., 2011). Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) adalah golongan obat antiinflamasi yang sering digunakan, salah satunya adalah natrium diklofenak yang digunakan untuk meredakan bengkak peradangan dan nyeri (Gan, 2010). Penggunaan AINS beresiko menimbulkan beberapa efek samping seperti iritasi gastrointestinal dan tukak lambung sehingga tidak boleh diberikan pada individu yang mengalami tukak saluran cerna, gangguan pencernaan, dan gangguan gastrointestinal lainnya (Pountos dkk., 2011). Pada penelitian yang dilakukan oleh Harirforoosh dan Jamali (2009) juga menyebutkan adanya efek samping dari obat golongan ini terhadap ginjal.

Berbagai efek samping dari penggunaan obat AINS ini semakin mendorong munculnya isu kembali ke alam (*back to nature*) dengan berkembangnya penggunaan obat tradisional (Katno dan Pramono, 2008). Menurut *World Health Organization*

(WHO) sebanyak 4 miliar orang atau 80% populasi di dunia telah menggunakan obat tradisional untuk semua aspek dalam meningkatkan kesehatannya (Owen, 2002). Obat tradisional dengan kandungan bahan alam yang berasal dari tumbuhan memiliki porsi yang lebih besar dibandingkan yang berasal dari hewan atau mineral, sehingga obat tradisional lebih identik dengan tumbuhan obat (Katno dan Pramono, 2008).

Stellaria media atau dikenal dengan nama tepung otot merupakan tumbuhan obat yang tumbuh di daerah Tengger dan secara empiris digunakan sebagai pereda pegal dan keseleo. Berdasarkan hasil wawancara masyarakat Suku Tengger, tumbuhan tersebut digunakan dengan cara diremas-remas dan ditempelkan pada daerah yang pegal dan keseleo. Rasa pegal yang dimaksud suku Tengger adalah nyeri lokal pada daerah punggung, pinggang, kaki dan tangan, sedangkan keseleo yang terjadi berupa rasa nyeri disertai bengkak peradangan. Penelitian yang dilakukan oleh Oyebanji dkk (2011) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun *S. media* mengandung phlobatannins, saponin dan alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai analgesik dan antiinflamasi. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa ekstrak petroleum eter daun *S. media* mengandung steroid dan lemak; ekstrak kloroform daun *S. media* mengandung steroid, flavonoid dan tanin; ekstrak metanolik daun *S. media* mengandung flavonoid, tanin, karbohidrat, dan protein serta ekstrak air daun *S. media* yang mengandung saponin, karbohidrat dan protein dengan aktivitas sebagai antiinflamasi, penyembuhan patah tulang, diuretik, ekspektoran dan antiasma (Arora dan Sharma, 2012).

Menurut Chandra dan Rawat (2015) ekstrak etanolik daun *S. media* mengandung vitamin C, karoten, potasium dan silikon yang memiliki aktivitas sebagai antirematik, antiinflamasi, antipruritus, meringankan gatal atau untuk mengobati psoriasis dan penyembuhan patah tulang. Berbagai penelitian terkait tumbuhan tepung otot tersebut umumnya masih terbatas pada bagian daun dengan berbagai kandungan dan aktivitasnya sebagai antiinflamasi, sehingga dimungkinkan adanya kandungan dan aktivitas antiinflamasi yang tidak jauh berbeda pada bagian lain dari tumbuhan tepung otot.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian terkait penggunaan bagian lain pada tumbuhan tepung otot serta pengujian aktivitasnya sebagai antiinflamasi. Pengujian dilakukan melalui uji laboratorium secara *in vivo* yang diawali dengan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa pada tumbuhan tepung otot, penetapan kadar dari golongan senyawa tersebut dan pengujian aktivitas antiinflamasi dengan penggunaan variasi dosis ekstrak etanolik tumbuhan tepung otot pada hewan uji yang diberi rangsangan karagenan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Apa saja golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*)?
2. Berapa kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*)?
3. Bagaimana aktivitas antiinflamasi ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*) pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB terhadap tebal udem mencit yang diinduksi karagenan?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*).
2. Untuk mengetahui banyaknya kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*).
3. Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*) pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB terhadap tebal udem mencit yang diinduksi karagenan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang efek antiinflamasi yang ditimbulkan oleh ekstrak etanolik tepung otot (*S. media*), memberikan kontribusi terhadap pengembangan tumbuhan tepung otot (*S. media*) sebagai alternatif dari obat antiinflamasi serta dasar untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tumbuhan Tepung Otot

Klasifikasi, morfologi, khasiat, dan kandungan tumbuhan tepung otot dapat dijelaskan sebagai berikut:

2.1.1 Klasifikasi Tepung Otot

Tumbuhan tepung otot dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Subphylum	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Order	: Caryophyllales
Family	: Caryophyllaceae
Genus	: <i>Stellaria</i>
Species	: <i>Stellaria media</i> (L.) Vill (CABI, 2017)

2.1.2 Morfologi Tepung Otot

Tepung otot adalah tanaman berumbai lemah, akarnya berserat dan dangkal, tanaman ini sesekali menumbuhkan akarnya pada bagian yang menonjol, batang bercabang, tegak berurutan dari pangkalnya, agak lemah, panjangnya 20 hingga 80 cm, daunnya berhadap-hadapan, sederhana, ukurannya sangat bervariasi dalam tiap tanaman yang berbeda, halus, atau dibatasi dengan rambut di dekat pangkal, berbentuk bulat telur atau elips, tajam atau sedikit runcing, panjangnya 6 sampai 30 mm, lebarnya 3 hingga 15 mm, tangkai daun bagian bawah berdiameter 5 sampai 20 mm dan memiliki garis rambut, tangkai daun biasanya sangat pendek (daun duduk), bunganya tunggal atau hanya ada beberapa bunga berwarna putih, tangkai bunga mendekati pembuluh rambut, berurutan naik, sepal ada lima, panjangnya 3,5 hingga 6 mm, tumpul, biasanya dengan rambut lembut panjang, kelopakanya ada lima,

berwarna putih, kecil, lebih pendek dari sepal, biasanya terdiri dari dua bagian atau bahkan tidak ada, benang sari tiga sampai lima, putik tunggal dengan tiga atau empat bentuk, buah yang banyak biji, bulat telur, biasanya sedikit lebih lama keluaranya dari sepal, membelah menjadi lima segmen, bijinya berwarna coklat gelap, kekuningan atau coklat kemerahan, bentuknya hampir bundar, sedikit memanjang, sekitar 1 mm, permukaan ditutupi dengan garis lengkung (CABI, 2017).



Gambar 2.1 Herba *S. media* (Sumber: CABI, 2017)

2.1.3 Khasiat Tumbuhan

Daun *S. media* digunakan sebagai antirematik, antiinflamasi, pembersih wajah seperti toner, bahan pendingin, meringankan batuk, pelembab kulit, obat luka, antipruritus, infus yang digunakan untuk meringankan gatal dan untuk mengobati psoriasis, penyembuhan patah tulang dan pembengkakan (Chandra dan Rawat, 2015). Menurut Oyebanji dkk (2012), daun *S. media* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan analgesik. Sedangkan menurut Arora dan Sharma (2012), daun *S. media* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, penyembuhan pada patah tulang, diuretik, ekspektoran dan antiasma. Menurut Rani dkk (2012), *S. media* memiliki aktivitas sebagai anti-obesitas.

2.1.4 Kandungan Kimia

Kandungan daun *S. media* menurut Oyebanji dkk (2011) yaitu phlobatanin, saponin dan alkaloid. Menurut Arora dan Sharma (2012) daun *S. media* mengandung flavonoid, steroid, saponin, tanin, karbohidrat, protein dan lemak. Menurut Chandra dan Rawat (2015) daun *S. media* mengandung vitamin C, karoten, kaya akan potasium dan silikon. Menurut Rani dkk (2012) *S. media* mengandung vitamin, mineral, flavonoid, triterpenoid, fenol, β -karoten, lemak dan pentasakarida.

2.2 Deskripsi Ekstraksi

Ekstraksi yang dijelaskan mengenai definisi ekstraksi dan metode ekstraksi, sebagai berikut:

2.2.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian atau penarikan zat kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu yang sesuai (Buss dan Butler, 2010). Pelarut organik yang umum digunakan untuk ekstraksi adalah metanol, etanol 70% dan etanol 96% (Sasidharan dkk., 2011). Hasil dari ekstraksi disebut sebagai ekstrak. Ekstrak merupakan sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok (Kemenkes RI, 2000).

2.2.2 Metode Ekstraksi

Maserasi merupakan cara penyarian yang mudah dan sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (Azwanida, 2015). Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Harvey, 2008). Maserasi dapat dimodifikasi menjadi beberapa metode yaitu salah satunya adalah remaserasi. Remaserasi dilakukan dengan cara membagi cairan penyari menjadi 2 bagian. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendap-

tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua (Kemenkes RI, 2000).

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi remaserasi dikarenakan cara pengerjaannya lebih mudah dan sederhana serta peralatannya mudah didapatkan. Selain itu, jumlah rendemen yang didapat lebih banyak karena dilakukan maserasi kembali menggunakan pelarut baru. Adapun pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, seperti yang telah diketahui bahwa pelarut etanol merupakan pelarut polar yang mana akan menarik senyawa-senyawa polar juga seperti fenol, flavonoid dan alkaloid.

2.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa/golongan senyawa dalam suatu tanaman atau ekstrak tanaman (Ditjen POM, 1989). Langkah pertama dalam melakukan skrining fitokimia adalah pembuatan ekstrak, kemudian dilakukan penelitian golongan senyawa dengan cara reaksi warna, reaksi endapan atau dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada proses ekstraksi digunakan pelarut yang dapat melarutkan semua zat yang ada dalam tumbuhan tersebut seperti etanol dan metanol. Pada umumnya golongan senyawa yang akan diperiksa adalah alkaloid, glikosida saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan senyawa polifenol (Farnsworth, 1966).

Pada penelitian ini, pemeriksaan golongan-golongan senyawa tersebut menggunakan KLT, dimana proses pemisahan analit-analit dalam sampel terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Brosseau dkk., 2009). Prinsipnya yaitu fase diam ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan ditotolkan berupa bercak. Setelah pelat ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi fase gerak, pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Hasil pemisahan dari KLT dinyatakan dengan nilai R_f (Sasidharan dkk., 2011).

Berikut prinsip deteksi masing-masing golongan senyawa, yaitu:

a. Deteksi Senyawa Alkaloid

Deteksi senyawa alkaloid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat:metanol:air (9:2:2), sedangkan penampak noda yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff. Lempeng KLT yang telah disemprot dengan pereaksi Dragendorff yang merupakan penampak noda spesifik untuk senyawa alkaloid, menunjukkan adanya noda berpendar berwarna jingga berlatar belakang kuning di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Parameter yang diamati adalah nilai Rf sebesar 0,9 (Harborne, 1998). Alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sikliknya serta mengandung substituen seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar. Lempeng silika disemprot dengan penampak noda dragendorff untuk mendeteksi adanya alkaloid. Setelah disemprot dengan pereaksi akan terjadi *coupling* antara pereaksi dragendorff dengan nitrogen yang terdapat pada alkaloid membentuk pasangan ion. Alkaloid mengandung atom nitrogen bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Pereaksi akan membentuk kompleks berwarna orange-merah ketika bereaksi dengan alkaloid, meskipun beberapa warna juga telah diketahui seperti kuning/orange, merah/hitam, merah muda hingga ungu tergantung spesies dan genus (Roper dkk., 1965).

b. Deteksi Senyawa Saponin, Triterpenoid dan Steroid

Deteksi senyawa saponin, triterpenoid dan steroid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan adalah heksana:etil asetat (4:1), sedangkan penampak noda yang digunakan adalah pereaksi anisaldehyd asam sulfat dan antimon klorida. Lempeng KLT yang telah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat menunjukkan adanya noda berpendar berwarna merah ungu, sedangkan KLT yang telah disemprot dengan pereaksi antimon klorida menunjukkan adanya noda berpendar berwarna merah muda. Keduanya berpendar pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Harborne, 1998).

c. Deteksi Senyawa Flavonoid

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol yang memiliki sejumlah gugus hidroksi sehingga cenderung bersifat polar (Heim dkk., 2002). Identifikasi golongan flavonoid menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5). Lempeng silika disemprot dengan penampak noda uap amonia atau sitrat borat untuk mendeteksi adanya flavonoid. Flavonoid yang memiliki gugus hidroksi berkedudukan orto akan memberikan fluoresensi kuning intensif pada panjang gelombang 366 nm dan jika bereaksi dengan sitrat borat. Selain itu, kandungan flavonoid juga ditegaskan dengan nilai Rf 0,92 dan Rf 0,54 (Ayoola dkk., 2008).

d. Deteksi Senyawa Polifenol

Pengujian polifenol dilakukan dengan penambahan FeCl_3 10% dan diperkirakan akan menimbulkan warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan. Terbentuknya warna hitam kehijauan dikarenakan senyawa fenol yang terkandung membentuk senyawa kompleks dengan Fe^{3+} (Shalini dan Sampathkumar, 2012).

e. Deteksi Senyawa Tanin

Tanin termasuk dalam golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil (OH). Perubahan warna terjadi ketika penambahan FeCl_3 yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin, penambahan FeCl_3 pada ekstrak uji menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin (Ayoola dkk., 2008).

2.4 Penetapan Kadar

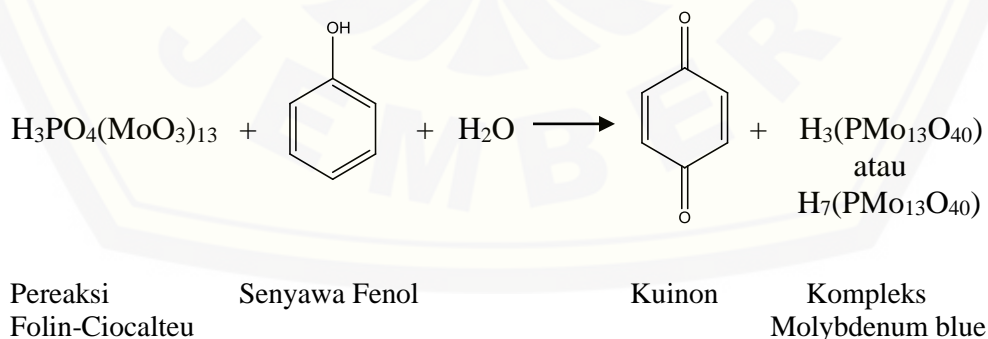
Penetapan kadar merupakan prosedur pengukuran properti atau konsentrasi analit dalam suatu sampel. Ada beberapa instrumen yang dapat digunakan untuk penetapan kadar suatu analit dalam sampel salah satunya dengan spektrofotometer UV-VIS. Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-VIS yaitu didasarkan pada transisi $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ sehingga memerlukan adanya gugus kromofor dalam molekul.

Transisi tersebut terjadi pada daerah spektrum (sekitar 200 hingga 700 nm) yang praktis digunakan untuk eksperimen (Day dan Underwood, 2002). Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki keuntungan yaitu memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Perkampus, 1992).

Prinsip penetapan kadar fenol total, flavonoid dan alkaloid sebagai berikut:

2.4.1 Fenol total

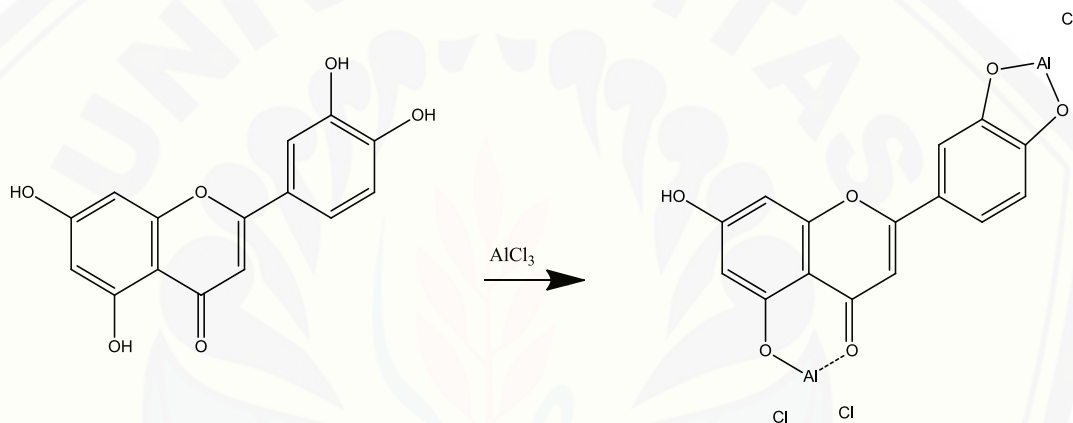
Penetapan kadar fenol total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dimana prinsip dari metode ini adalah reaksi oksidasi gugus fenolik hidroksil (Cicco dkk., 2009). Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) dan mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Selama reaksi tersebut berlangsung, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat. Ion fenolat yang terbentuk memiliki gugus berikatan rangkap atau terkonjugasi yang akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis (Stahl, 1985).



Gambar 2.2 Pembentukan Kompleks antara Pereaksi Folin-Ciocalteu dan Senyawa Fenol (Sumber: Stahl, 1985)

2.4.2 Flavonoid

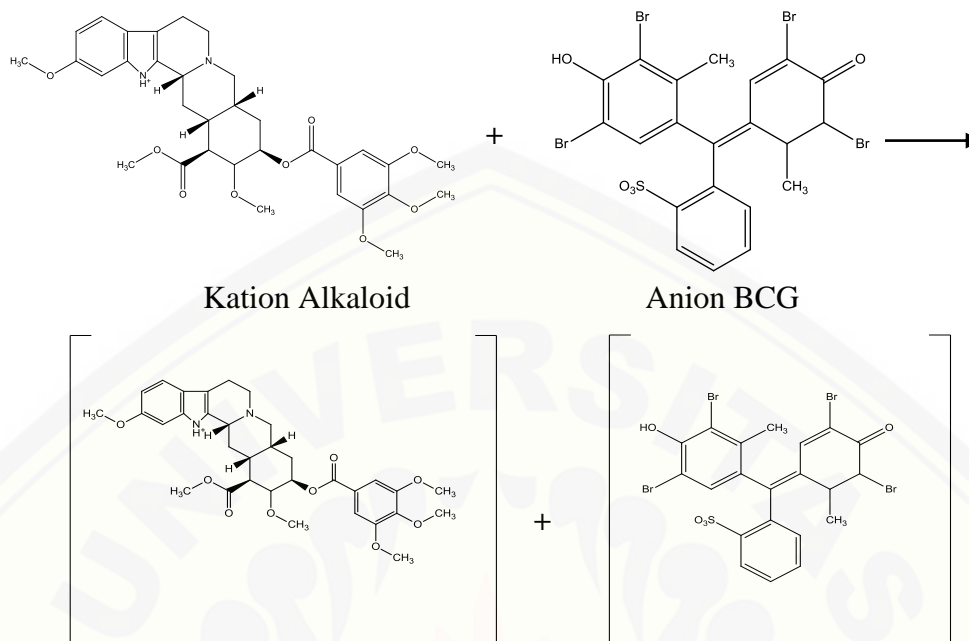
Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode AlCl_3 (Atanassova dkk., 2011). Metode ini memiliki prinsip yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-4 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol, dalam penambahannya aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid. Senyawa kompleks yang terbentuk akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis (Chang dkk., 2002).



Gambar 2.3 Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dan AlCl_3
(Sumber: Chang, 2002)

2.4.3 Alkaloid

Penetapan kadar alkaloid menggunakan metode *Bromocresol green* (BCG), dimana prinsip dari metode ini adalah pembentukan kompleks antara alkaloid dengan reagen BCG yang akan membentuk senyawa berwarna kuning yang diekstraksi dengan kloroform pada pH 4,7 dan diukur pada panjang gelombang maksimum 415 nm (Patel dkk., 2015).



Gambar 2.4 Pembentukan Kompleks antara Alkaloid dan BCG
(Sumber: Patel dkk., 2015)

2.5 Deskripsi Inflamasi

Inflamasi merupakan respon normal jaringan hidup terhadap cedera atau infeksi yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik (Henson, 2005). Menurut Stankov (2012) inflamasi merupakan cara dasar suatu tubuh bereaksi terhadap infeksi, iritasi atau cedera lainnya yang ditandai dengan timbulnya kemerahan, panas, bengkak, nyeri dan kehilangan fungsi tubuh. Menurut Medzhitov (2008) inflamasi adalah respon adaptif yang disebabkan adanya rangsangan dan kondisi berbahaya, seperti infeksi dan cedera jaringan. Inflamasi merupakan suatu respon biologis yang menunjukkan adanya bahaya seperti patogen, sel-sel yang rusak dan iritasi. Selain itu, inflamasi merupakan proses perlindungan untuk menghilangkan partikel asing dan untuk memulai proses penyembuhan (Signore, 2013).

Inflamasi dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronik, sebagai berikut:

a. Inflamasi akut

Inflamasi akut ditandai dengan adanya kemerahan dan panas yang terlihat jelas pada jaringan luar. Hal tersebut terjadi akibat pecahnya sel mast sehingga melepaskan mediator-mediator inflamasi dan enzim lisosom serta ditandai dengan meningkatnya jumlah leukosit (Ingawale dkk., 2015). Selain itu, terjadi eksudasi cairan plasma menuju tempat inflamasi yang terus meningkat sehingga terbentuk cairan eksudat yang ditandai dengan edema (Ryan dan Majno, 1997).

b. Inflamasi kronik

Inflamasi kronik ditandai dengan banyaknya eksudat jaringan granulomatosis, monosit, dan pengumpulan plasma sel akibat jaringan mengalami fibrosis dan timbulnya hiperplasia di sekitar jaringan (Ingawale dkk., 2015). Bagian-bagian jaringan yang diserang akan mengeluarkan reaksi imun antara suatu antigen dengan suatu antibodi yang merangsang terjadinya inflamasi. Inflamasi kronik mempunyai waktu kerja yang lama (Rankin, 2004).

2.5.1 Mediator

Inflamasi dimulai saat sel mast berdegranulasi dan melepaskan zat kimia seperti histamin, serotonin dan zat kimia lainnya. Histamin merupakan mediator kimia utama inflamasi juga dilepaskan oleh basofil dan trombosit. Akibat pelepasan histamin adalah vasodilatasi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan aliran darah dan terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler pada awal inflamasi (Corwin, 2008).

Mediator lain yang dilepaskan yaitu faktor kemotaktik neutrofil dan eosinofil, dilepaskan oleh leukosit yang dapat menarik sel-sel ke daerah cedera. Selain itu, prostaglandin juga dilepaskan. Saat membran sel mengalami kerusakan, fosfolipid akan diubah menjadi asam arakidonat yang dikatalisis oleh fosfolipase A. Asam arakidonat selanjutnya akan dimetabolisme oleh lipooksigenase dan siklooksigenase. Pada jalur siklooksigenase inilah prostaglandin disintesis. Prostaglandin dapat meningkatkan aliran darah ke tempat yang mengalami inflamasi, meningkatkan

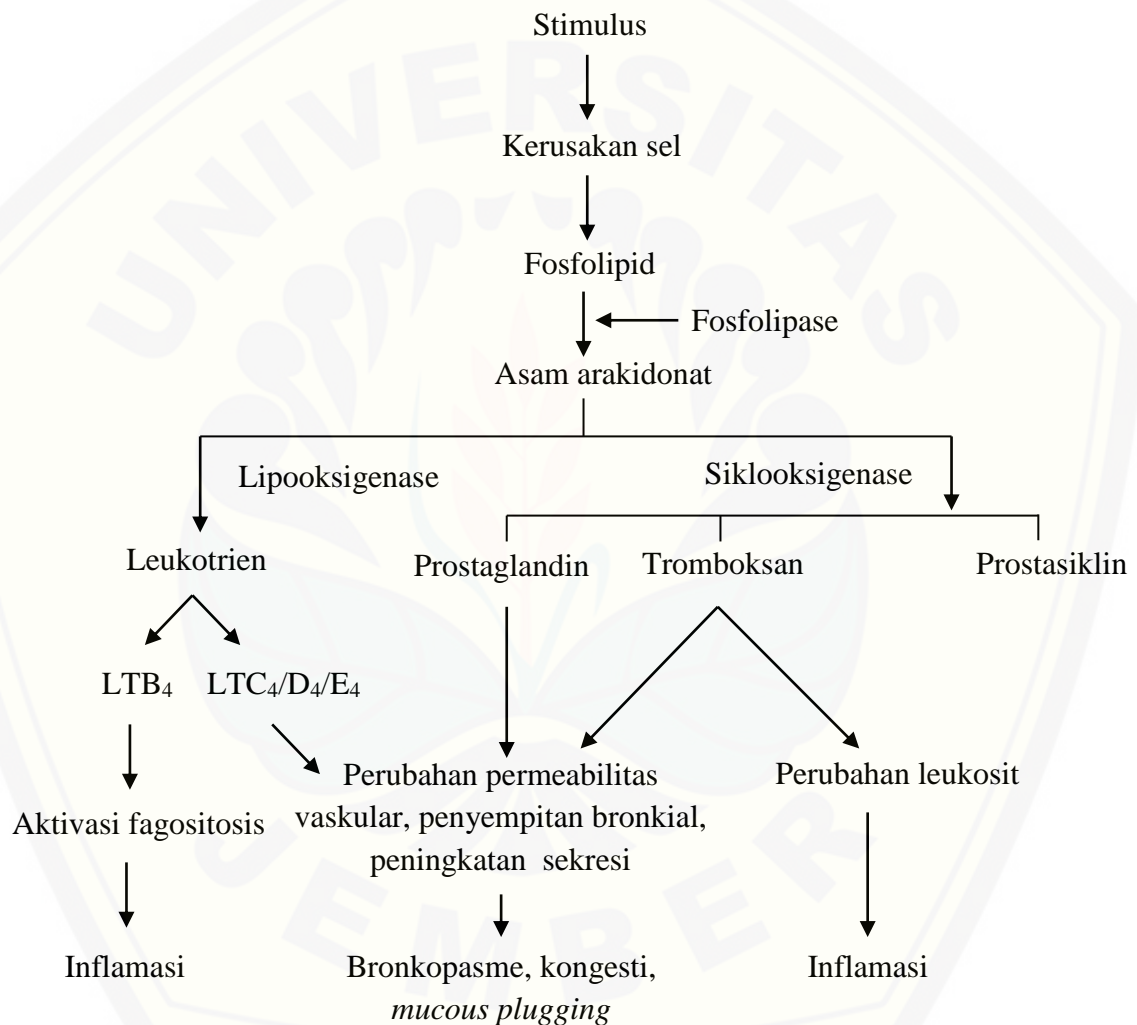
permeabilitas kapiler dan merangsang reseptor nyeri. Sintesis prostaglandin ini dapat dihambat oleh golongan obat AINS (Pountos dkk., 2011). Leukotrien merupakan produk akhir dari metabolisme asam arakidonat pada jalur lipooksigenase. Senyawa ini dapat meningkatkan permeabilitas kapiler dan meningkatkan adhesi leukosit pada pembuluh kapiler selama cedera atau infeksi (Corwin, 2008).

Mediator inflamasi yang lain adalah sitokin, yaitu zat-zat yang dikeluarkan oleh leukosit. Sitokin bekerja seperti hormon dengan merangsang sel-sel lain pada sistem imun untuk berproliferasi atau menjadi aktif selama infeksi dan inflamasi. Sitokin terdiri dari dua kategori yang bersifat pro-inflamasi dan antiinflamasi. Sitokin pro-inflamasi antara lain interleukin-1 yang berasal dari makrofag dan monosit, interleukin-2, interleukin-6, *tumor necrosis factor*, dan interferon gamma berasal dari aktivasi limfosit (Tracey, 2002). Sitokin pro-inflamasi berperan dalam merangsang makrofag untuk meningkatkan fagositosis dan merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan produksi leukosit dan eritrosit. Sitokin antiinflamasi meliputi interleukin-4 dan interleukin-10 yang berperan dalam menurunkan sekresi sitokin pro-inflamasi. Selain itu juga terdapat kemokin yaitu sejenis sitokin, bekerja sebagai agen kemotaksis yang mengatur pergerakan leukosit (Corwin, 2008).

2.5.2 Mekanisme terjadinya Inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsang atau cedera. Setiap ada cedera maka akan timbulnya rangsangan untuk dilepaskannya mediator-mediator inflamasi tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan jaringan pada reaksi radang tersebut diantaranya serotonin, bradikinin, histamin, leukotrien dan prostaglandin (Rankin, 2004). Histamin menyebabkan vasodilatasi pada arteriol yang didahului dengan vasokonstriksi awal dan peningkatan permeabilitas kapiler sehingga menyebabkan distribusi sel darah merah mengalami perubahan. Aliran darah yang lambat mengakibatkan sel darah merah akan menggumpal sehingga sel darah putih terdesak kepinggir, makin lambat aliran darah maka sel darah putih akan menempel pada dinding pembuluh darah yang semakin

lama semakin banyak. Perubahan permeabilitas yang terjadi menyebabkan cairan keluar dari pembuluh darah dan berkumpul dalam jaringan. Rasa sakit, vasodilatasi, meningkatnya permeabilitas kapiler merupakan akibat dari dilepaskannya bradikinin. Prostaglandin berpotensi kuat sebagai penyebab radang setelah bergabung dengan mediator lainnya (Ahmed, 2011).



Gambar 2.5 Mekanisme Inflamasi
(Sumber: Katzung, 2006)

Asam arakidonat merupakan komponen utama lipid seluler dan hanya terdapat dalam keadaan bebas dengan jumlah kecil yang sebagian besar berada dalam

fosfolipid membran sel. Ketika membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan maka enzim fosfolipase akan diaktivasi untuk mengubahnya menjadi asam arakidonat, sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan. Bagian lain dari asam arakidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi leukotrien (Needleman dkk., 1986). Leukotrien dibentuk di granulosit eosinofil untuk vasokonstriksi di bronkus dan mukosa lambung. Leukotrien yang dibentuk melalui jalur lipooksigenase yaitu LTA_4 yang tidak stabil yang kemudian oleh hidrolase diubah menjadi LTB_4 atau LTC_4 yang terakhir bisa diubah menjadi LTD_4 dan LTE_4 . Khusus LTB_4 disintesa di makrofag dan bekerja menstimulasi migrasi leukosit. Mediator-mediator ini dinamakan *slow substance of anaphylaxis* (SRS-A) (Tjay dan Rahardja, 2002).

2.6 Deskripsi Antiinflamasi

Menurut Dorland (2002) antiinflamasi merupakan suatu agen/obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan. Obat-obat antiinflamasi adalah golongan obat yang memiliki mekanisme kerja umum berupa penghambatan sintesis prostaglandin jalur penghambatan enzim siklooksigenase. Siklooksigenase bertanggung jawab atas biosintesis prostaglandin. Berdasarkan mekanismenya, obat-obat antiinflamasi dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu obat antiinflamasi golongan steroid yang bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel sumbernya, dan obat antiinflamasi golongan nonsteroid yang bekerja melalui mekanisme lain seperti inhibisi siklooksigenase yang berperan pada biosintesis prostaglandin. Pengobatan antiinflamasi mempunyai 2 tujuan utama yaitu meringankan rasa nyeri yang seringkali merupakan gejala awal yang terlihat dan keluhan utama yang terus menerus dari pasien dan kedua memperlambat atau membatasi perusakan jaringan (Qandil, 2012).

Mekanisme kerja obat golongan nonsteroid yaitu dengan menghambat prostaglandin (Tjay dan Rahardja, 2002). Prostaglandin diproduksi oleh mukosa lambung dan mempunyai efek sitoprotektif, mekanisme kerja utama prostaglandin

adalah menghambat sekresi lambung. Sintesis prostaglandin yang dihambat menyebabkan sekresi asam yang berlebih, sehingga meningkatkan keasamannya yang berpotensi menimbulkan tukak (ulser) (Tarnawski dkk., 2013). Sedangkan menurut Suleyman dkk (2008) mekanisme obat antiinflamasi nonsteroid pada umumnya menghambat biosintesis prostaglandin terutama pada perubahan asam arakidonat menjadi PGG₂, kebanyakan obat-obat antiinflamasi nonsteroid juga mempunyai aktivitas analgetik, antipiretik dan hampir semua menyebabkan efek samping gangguan saluran cerna berupa tukak lambung.

Beberapa obat yang termasuk dalam obat antiinflamasi steroid antara lain adalah kortison asetat, hidrokortison, prednison, deksametason, betametason dan sebagainya (Rhen dan Cidlowski, 2005). Sedangkan yang termasuk obat antiinflamasi nonsteroid antara lain asam asetil salisilat, natrium diklofenak, indometasin, ibuprofen, fenilbutason dan lain-lain (Blower, 1993).

2.7 Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode induksi karagenan pada telapak kaki mencit. Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode tersebut merupakan salah satu metode yang sederhana, mudah, sering digunakan, tidak menimbulkan kerusakan jaringan, tidak menimbulkan bekas dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi (Necas dan Bartosikova, 2013).

Terdapat tiga fase pembentukan udem yang diinduksi karagenan. Fase pertama yaitu pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua yaitu pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Fase ketiga yaitu 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 (Jones dkk.,

2016). Menurut Corsini dkk (2005), udem yang disebabkan oleh karagenan bisa bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam.

2.8 Deskripsi Karagenan dan Natrium Diklofenak

Penjelasan mengenai karagenan dan natrium diklofenak, sebagai berikut:

1. Karagenan

Iritan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antiinflamasi adalah karagenan. Karagenan merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari famili Euchema, Chondrus, dan Gigartina (Li dkk., 2014). Bentuknya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C (Belova dan Dyshlyuk, 2016).

Karagenan digunakan sebagai rangsangan pembentukan edema dalam inflamasi akut. Karagenan dipilih karena dapat menstimulasi pelepasan prostaglandin setelah disuntikkan ke hewan uji. Oleh karena itu, karagenan dapat digunakan sebagai iritan dalam metode uji yang bertujuan untuk mencari obat-obat antiinflamasi, tepatnya yang bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin (Winter dkk., 1962).

2. Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan obat AINS golongan asam karboksilat turunan asam fenil asetat. Obat ini mempunyai dosis sekali pakai 25 mg atau 50 mg, dua sampai tiga kali sehari, sedangkan dosis pemakaian tablet lepas lambat adalah 100-200 mg/hari (Chuasuwana dkk., 2009; AHFS Drug Information, 2008). Natrium diklofenak memiliki waktu paruh yang pendek, antara 1-2 jam (Chuasuwana dkk., 2009). Obat ini adalah penghambat siklooksigenase yang nonselektif dan kuat serta mengurangi aktivitas asam arakidonat. Obat ini dilaporkan dapat mengurangi sintesis prostaglandin dan leukotrien (Gan, 2010). Efek-efek yang tidak diinginkan bisa terjadi pada kira-kira 20% dari pasien dan meliputi distress gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal dan timbulnya ulserasi lambung, sekalipun timbulnya

ulkus lebih jarang terjadi daripada penggunaan beberapa AINS lainnya (Pountos dkk., 2011).

Mekanisme kerja natrium diklofenak yaitu pada saat membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakidonat (Gan, 2010). Asam lemak poli tak jenuh sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi prostaglandin. Siklooksigenase terdiri dari dua isoenzim, yaitu COX-1 (tromboksan dan prostasiklin) dan COX-2 (prostaglandin). Secara umum natrium diklofenak bekerja dengan menghambat COX-1 dan COX-2 sehingga menghasilkan penghambatan sintesis prostaglandin (Tjay dan Rahardja, 2002).

Farmakokinetik dari natrium diklofenak yaitu diabsorpsi secara cepat dan sempurna dalam lambung, terakumulasi pada cairan sinovial. Kadar plasma tertinggi dicapai dalam 2 jam. Urin merupakan jalan utama ekskresi obat ini dan metabolitnya (Davies dan Anderson, 1997). Farmakodinamik dari natrium diklofenak yaitu mempunyai aktivitas antiinflamasi dengan menghambat aktivitas dari enzim siklooksigenase sehingga mengurangi produksi prostaglandin oleh jaringan. Namun, natrium diklofenak juga memiliki efek samping berupa masalah saluran cerna dan obat ini juga dapat meningkatkan kadar enzim hepar (Pountos dkk., 2011).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

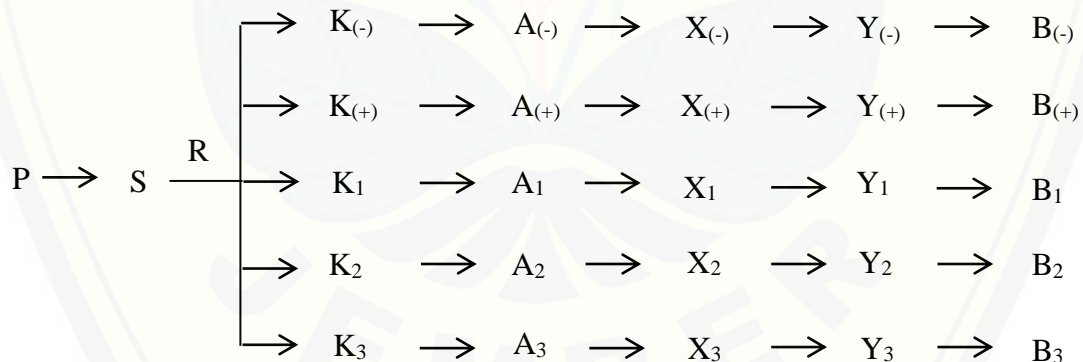
Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *True Experimental Laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu yang akan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Lusiana dkk., 2015).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018-selesai di Laboratorium Kimia Analisis dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *Pre and Post test only With Control Group Design*. Secara skematis rancangan penelitian induksi karagenan digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan Skematis Penelitian Uji Antiinflamasi

Keterangan :

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok

A : Data tebal plantar mencit sebelum penyuntikan karagenan (T₀)

- X : Perlakuan
 Y : Penyuntikan karagenan 1% sebanyak 0,05 mL
 B : Data tebal plantar mencit setelah penyuntikan karagenan pada waktu t (T_i)
 (-) : Kontrol negatif (Suspensi CMC-Na 1%)
 (+) : Kontrol positif (Suspensi natrium diklofenak dalam CMC-Na 1%)
 1 : Suspensi ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot dosis 100 mg/kgBB
 2 : Suspensi ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot dosis 200 mg/kgBB
 3 : Suspensi ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot dosis 400 mg/kgBB

3.4 Deskripsi Subjek Penelitian

Subjek penelitian dari penelitian ini terdiri dari jumlah hewan penelitian dan kriteria hewan penelitian, sebagai berikut:

3.4.1 Jumlah Hewan Penelitian

Jumlah sampel percobaan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer (Shaw dkk., 2002):

$$\{ (p-1) (n- 1) \} \geq 15 \dots\dots\dots(1.1)$$

Keterangan:

n: Jumlah sampel

p: Jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

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

3.4.2 Kriteria Hewan Penelitian

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

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dari penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkontrol, sebagai berikut:

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 96% tumbuhan tepung otot yang diberikan pada mencit.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah tebal udem mencit.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini terdiri dari tempat pengambilan sampel; metode ekstraksi; metode penetapan kadar; jenis, umur, jenis kelamin, berat badan dan pemeliharaan mencit; dosis karagenan; waktu dan lama perlakuan; dan prosedur pengujian.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tepung Otot adalah tumbuhan yang memiliki nama ilmiah *Stellaria media*, berasal dari Desa Ledokombo, Kecamatan Sumber, Probolinggo, Jawa Timur yang telah diidentifikasi oleh UPT Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Pasuruan. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah semua bagian mulai dari daun, bunga, batang dan akar.
2. Aktivitas antiinflamasi dapat diketahui melalui parameter pengujian respon terhadap inflamasi diperoleh dari pengukuran tebal plantar menggunakan jangka sorong dan perhitungan tebal udem pada masing-masing mencit.
3. Tebal plantar yang diukur menggunakan jangka sorong adalah telapak kaki bagian tengah yang telah diinjeksi dengan karagenan.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat penggiling, toples maserasi, batang pengaduk, corong *buchner*, *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), gelas ekstrak, oven (Memmert), timbangan analitik (Ohaus), set alat gelas, spatula, pinset, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), timbangan hewan (Ohaus), kandang hewan, mortir dan stamper, alat-alat suntik untuk injeksi (*One Med Disposable syringe*), *stopwatch*, jangka sorong, spidol.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan tepung otot yang diambil dari Desa Ledokombo Kecamatan Sumber Kabupaten Probolinggo, etanol 96%, HCl 2 N (Emsure), NaCl, NH₄OH 28%, kloroform (Emsure), kertas saring, metanol, lempeng KLT (kiesel gel GF 254), etil asetat, akuades, pereaksi Dragendorff, kapas, amonia, heksana, anisaldehyda asam sulfat, etanol, butanol, asam asetat glasial, toluena, aseton, asam formiat, FeCl₃, gelatin, NaCl 10%, *bromocresol green* (BCG) (Sigma-Aldrich), NaOH 2 N, Na₂HPO₄, asam sitrat, standar berberin klorida (Sigma-Aldrich), kuersetin, AlCl₃ (Merck), CH₃COOK, etanol p.a., asam galat (Sigma-Aldrich), reagen *Folin-Ciocalteu*, Na₂CO₃ (Bratako Ermika), mencit, sarung tangan tebal, CMC-Na 1%, natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB, karagenan 1% (Sigma-Aldrich).

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Penyiapan Simplisia

Tahapan ini diawali dengan proses sortasi basah pada tumbuhan tepung otot, dilanjutkan dengan pencucian hingga bersih menggunakan air mengalir. Tumbuhan tepung otot lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama satu minggu hingga diperoleh bahan yang kering. Proses selanjutnya adalah sortasi kering pada

simplisia. Kemudian, dilakukan perajangan pada tumbuhan tepung otot menjadi ukuran yang lebih kecil dan dihaluskan hingga menjadi serbuk.

3.8.2 Ekstraksi Simplisia

Ekstrak dibuat dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk kering simplisia sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 kali bobot serbuk. Campuran direndam selama 5 hari sambil diaduk. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Ampas kemudian di remaserasi menggunakan cairan penyari kedua selama 2 hari, lalu maserat dipisahkan seperti cara sebelumnya. Seluruh maserat yang terkumpul, dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga kering. Perhitungan rendemen ditentukan berdasarkan persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Kemenkes RI, 2000).

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

3.8.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada senyawa golongan alkaloid, glikosida saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, polifenol dan tanin. Menurut Harborne (1998) berikut identifikasinya:

a. Identifikasi Golongan Senyawa Alkaloid

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa alkaloid yaitu ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 5 mL HCl 2 N, sampel diaduk dan didinginkan pada temperatur ruang. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 mL HCl 2 N.

Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditambah NH₄OH 28% sampai larutan menjadi basa dan didiamkan selama 30 menit, kemudian

diekstraksi dengan 5 mL kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT pada kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254
Fase gerak : etil asetat:metanol:air (9:2:2)
Penampak noda : pereaksi Dragendorf

Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak.

b. Identifikasi Golongan Senyawa Glikosida Saponin, Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambah 5 ml HCl 2 N, dididihkan dan tutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin dinetralkan dengan amonia, kemudian diekstraksi dengan 3 mL heksana sebanyak 3 kali, lalu larutan diuapkan sampai tinggal 0,5 mL, kemudian ditotolkan pada pelat KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254
Fase gerak : heksana:etil asetat (4:1)
Penampak noda : anisaldehyda asam sulfat (dipanaskan)

Jika terjadi perubahan warna merah ungu menunjukkan adanya saponin triterpenoid dan steroid.

c. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid

Penyiapan sampel dalam identifikasi senyawa golongan flavonoid yaitu 0,3 gram ekstrak dikocok dengan 3 mL heksana berkali-kali sampai ekstrak heksana tidak berwarna kemudian filtrat dilarutkan dalam etanol.

Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa golongan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam, uji KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254
Fase gerak : butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5)
Penampak noda : sitrat borat (dipanaskan)

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif.

d. Identifikasi Golongan Senyawa Polifenol

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa polifenol yaitu 0,3 gram ekstrak ditambah 10 mL akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring.

Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa polifenol dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu larutan hasil penyiapan sampel ditotolkan pada fase diam. Uji KLT dengan kondisi:

Fase diam : kiesel gel GF 254

Fase gerak : toluena:aseton:asam formiat (6:6:1)

Penampak noda : pereaksi FeCl₃

Jika timbul noda warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam ekstrak.

e. Identifikasi Golongan Senyawa Tanin

Penyiapan sampel dalam identifikasi golongan senyawa tanin yaitu 0,05 gram ekstrak ditambah 10 mL akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes NaCl 10%, diaduk, dan disaring. Filtrat dibagi menjadi dua bagian masing-masing ± 4 mL yaitu larutan A dan larutan B. Larutan A digunakan untuk uji gelatin yaitu ditambahkan dengan sedikit gelatin dan 5 mL larutan NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih setelah penambahan gelatin menunjukkan adanya tanin. Selanjutnya larutan B digunakan untuk uji ferriklorida yaitu ditambahkan beberapa tetes FeCl₃, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

3.8.4 Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan pada senyawa golongan fenol total, flavonoid dan alkaloid sebagai berikut :

1. Penetapan Kadar Fenol Total

Metode penentuan kadar fenol total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* (Singleton dkk., 1999).

a. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Dibuat larutan induk terlebih dahulu dengan menimbang 30 mg asam galat, dan dilarutkan dengan etanol 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 300 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 30, 60, 90, 120 $\mu\text{g/mL}$.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Dipipet 0,5 mL larutan standar direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik. Salah satu larutan standar dipilih untuk *scanning* panjang gelombang dan dilihat spektranya di spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra dan digunakan sebagai panjang gelombang maksimal yang terpilih.

c. Penentuan Waktu Inkubasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar asam galat direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm dengan spektrofotometer UV-Vis mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

d. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 90 mg ekstrak etanol tepung otot dan direplikasi tiga kali. Kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dengan etanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 9.000 $\mu\text{g/mL}$.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar lalu direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama 45 menit. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang 765 nm.

f. Pengujian Fenol Total

Dipipet 0,5 mL larutan sampel direaksikan dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (1:10 v/v air) dan didiamkan selama 5 menit. Larutan tersebut ditambahkan 4 mL natrium karbonat, dikocok selama 15 detik kemudian didiamkan selama 40 menit. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang 765 nm. Kadar fenol total dinyatakan dalam mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam 1 gram ekstrak.

2. Penetapan Kadar Flavonoid

Metode penentuan kadar flavonoid menggunakan metode AlCl_3 (Woisky dan Salatino, 1998).

a. Pembuatan Larutan Standar Flavonoid

Dibuat larutan induk terlebih dahulu dengan menimbang 20 mg dan 40 mg kuersetin, masing-masing dilarutkan dengan metanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 2000 $\mu\text{g/mL}$ dan 4000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 2000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 20, 100, dan 140 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan larutan 4000 $\mu\text{g/mL}$ diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 80 $\mu\text{g/mL}$.

b. Penentuan Panjang Gelombang

Dipipet 0,5 mL larutan standar direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 1 mL reagen AlCl_3 (10% v/v akuades), 1 mL CH_3COOK dan 2,8 mL akuades. Dipilih salah satu larutan standar untuk *scanning* panjang gelombang dan dilihat spektranya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi terbesar menunjukkan titik puncak spektra dan digunakan sebagai panjang gelombang maksimal yang terpilih.

c. Penentuan Waktu Inkubasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar kuersetin direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 1 mL reagen AlCl_3 (10% v/v akuades), 1 mL CH_3COOK dan 2,8 mL akuades. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 428 nm dengan

spektrofotometer UV-Vis mulai menit ke-0 sampai ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

d. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 50 mg ekstrak etanol tepung otot dan direplikasi tiga kali. Kemudian ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dengan metanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 5000 $\mu\text{g/mL}$.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dipipet 0,5 mL larutan standar direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 1 mL reagen AlCl_3 (10% v/v akuades), 1 mL CH_3COOK dan 2,8 mL akuades kemudian didiamkan selama 25 menit dalam kuvet. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang 428 nm.

f. Pengujian Flavonoid

Dipipet 0,5 mL larutan sampel lalu direaksikan dengan 1,5 mL metanol, 1 mL reagen AlCl_3 (10% v/v akuades), 1 mL CH_3COOK dan 2,8 mL akuades kemudian didiamkan selama 25 menit dalam kuvet. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang 428 nm. Kadar flavonoid dinyatakan dalam mg QE (ekuivalensi kuersetin) dalam 1 gram ekstrak.

3. Penetapan Kadar Alkaloid

Metode penentuan kadar alkaloid menggunakan metode *Bromocresol green* (BCG) (Patel dkk., 2015).

a. Pembuatan Larutan *Bromocresol green* (BCG) 10^{-4} M

Larutan BCG dibuat dengan menimbang sebanyak 69,8 mg BCG dan mencampurkan dengan 3 mL NaOH 2 N dan 5 mL akuades, kemudian dipanaskan pada suhu $50-60^\circ\text{C}$ selama 15 menit hingga larut sempurna. Kemudian larutan campuran diencerkan dengan 1 liter akuades.

b. Pembuatan Dapar Fosfat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dengan mencampur natrium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M dengan asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) 0,2 M hingga dihasilkan pH 4,7.

c. Preparasi Larutan Standar Berberin Klorida

Dibuat larutan induk standar berberin klorida 100 $\mu\text{g/mL}$ terlebih dahulu dengan menimbang 1 mg berberin klorida kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL hingga tepat tanda sehingga diperoleh konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian diambil sejumlah 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; dan 1,4 mL larutan induk standar berberin klorida 100 $\mu\text{g/mL}$ kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG 10^{-4} M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Sehingga menghasilkan konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 14 $\mu\text{g/mL}$.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada standar berberin 10 $\mu\text{g/mL}$ yang telah dipreparasi dengan BCG 10^{-4} M. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm.

e. Preparasi Kurva Kalibrasi Larutan Standar Berberin

Konsentrasi 4, 6, 8, 10 dan 14 $\mu\text{g/mL}$ hasil pengenceran larutan induk standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan standar, kemudian diambil fase kloroformnya. Kurva kalibrasi dan persamaan regresi dibuat antara data absorbansi dan konsentrasi standar berberin ($\mu\text{g/mL}$).

f. Penetapan Kadar Alkaloid

Larutan sampel dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak etanol tepung otot, dilarutkan dalam HCl 2 N dan kemudian disaring. 1 mL larutan uji diambil kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan BCG 10^{-4} M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Pembuatan larutan sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 352 nm.

Kadar alkaloid ditentukan berdasarkan interpolasi absorbansi analit ke dalam persamaan regresi linear standar berberin sehingga didapatkan konsentrasi (x) dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Kadar alkaloid dinyatakan dalam mg BE (ekuivalensi berberin) dalam 1 gram ekstrak.

3.8.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji antiinflamasi dapat dilakukan dengan beberapa tahap, diantaranya:

1. Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji diadaptasikan selama 7 hari pada kandang yang memiliki ventilasi baik dan selalu dijaga kebersihannya, diberikan makan dan minum *ad libitum*. Pemuasaan dilakukan selama semalam (16-18 jam) sebelum dilakukan pemejanaan terhadap hewan uji.

2. Pembuatan Suspensi Ekstrak

Ekstrak etanol tumbuhan tepung otot ditimbang sebanyak 100 mg, 200 mg dan 400 mg yang kemudian disuspensikan ke dalam CMC-Na 1% sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen sampai volume 10 mL untuk dosis ekstrak tumbuhan tepung otot 100, 200 dan 400 mg/kgBB. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 1.6.

3. Pembuatan CMC-Na 1%

CMC-Na 1% dibuat dengan menimbang 1 gram CMC-Na dan ditaburkan dalam 10 mL air hangat (20 kali berat CMC) dan dibiarkan sampai mengembang. Kemudian diaduk sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah air sampai 100 mL.

4. Pembuatan Suspensi Natrium Diklofenak 6,5 mg/kgBB

Suspensi natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang natrium diklofenak sebanyak 6,5 mg dan disuspensikan dalam CMC-Na 1% hingga volume 10 mL. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 1.5.

5. Pembuatan Sediaan Karagenan 1%

Sediaan karagenan yang akan digunakan yaitu karagenan 1% yang dibuat dengan cara mencampurkan 1 gram karagenan dengan larutan CMC-Na 1% sampai volumenya 100 mL.

6. Perlakuan Hewan Uji

Mencit dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berisi 5 ekor mencit. Kemudian dilakukan penimbangan dan mencit diberi perlakuan sebagai berikut:

1. kelompok I (Kontrol negatif): 5 ekor mencit diberi CMC-Na 1% secara p.o
2. kelompok II (Kontrol positif): 5 ekor mencit diberi suspensi natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB dalam CMC-Na 1% secara p.o
3. kelompok III (dosis 100 mg/kgBB): 5 ekor mencit diberi ekstrak etanolik tepung otot dalam CMC-Na 1% dengan dosis 100 mg/kgBB secara p.o
4. kelompok IV (dosis 200 mg/kgBB): 5 ekor mencit diberi ekstrak etanolik tepung otot dalam CMC-Na 1% dengan dosis 200 mg/kgBB secara p.o
5. kelompok V (dosis 400 mg/kgBB): 5 ekor mencit diberi ekstrak etanolik tepung otot dalam CMC-Na 1% dengan dosis 400 mg/kgBB secara p.o

Selanjutnya dilakukan pengukuran tebal plantar mencit dengan menggunakan jangka sorong. Tebal plantar sebelum perlakuan disebut sebagai tebal plantar awal (T_0). Mencit diberikan perlakuan 1 jam sebelum diinduksi inflamasi dengan suspensi karagenan 1% sebanyak 0,05 mL. Pengukuran tebal plantar dilakukan pada waktu 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 dan 6 jam setelah induksi karagenan (T_1).

7. Pengamatan dan Pencatatan Data Tebal Plantar dan Tebal Udem

Data yang diperoleh dari pengukuran tebal plantar setiap waktu pada semua kelompok ditabulasikan kemudian dihitung tebal udemnya. Perhitungan nilai AUC_{0-6} yaitu luas daerah bawah kurva yang menunjukkan hubungan tebal udem pada masing-masing mencit tiap satuan waktu (mm.jam). Nilai AUC_{0-6} dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$AUC_{0-6} = \frac{T_0+T_{0,5}}{2} (t_{0,5} - t_0) + \frac{T_{0,5}+T_1}{2} (t_1 - t_{0,5}) + \frac{T_1+T_2}{2} (t_2 - t_1) + \frac{T_2+T_3}{2} (t_3 - t_2) + \frac{T_3+T_4}{2} (t_4 - t_3) + \frac{T_4+T_5}{2} (t_5 - t_4) + \frac{T_5+T_6}{2} (t_6 - t_5)$$

Selanjutnya, untuk melihat efek antiinflamasi dapat dihitung % daya antiinflamasi dengan rumus sebagai berikut:

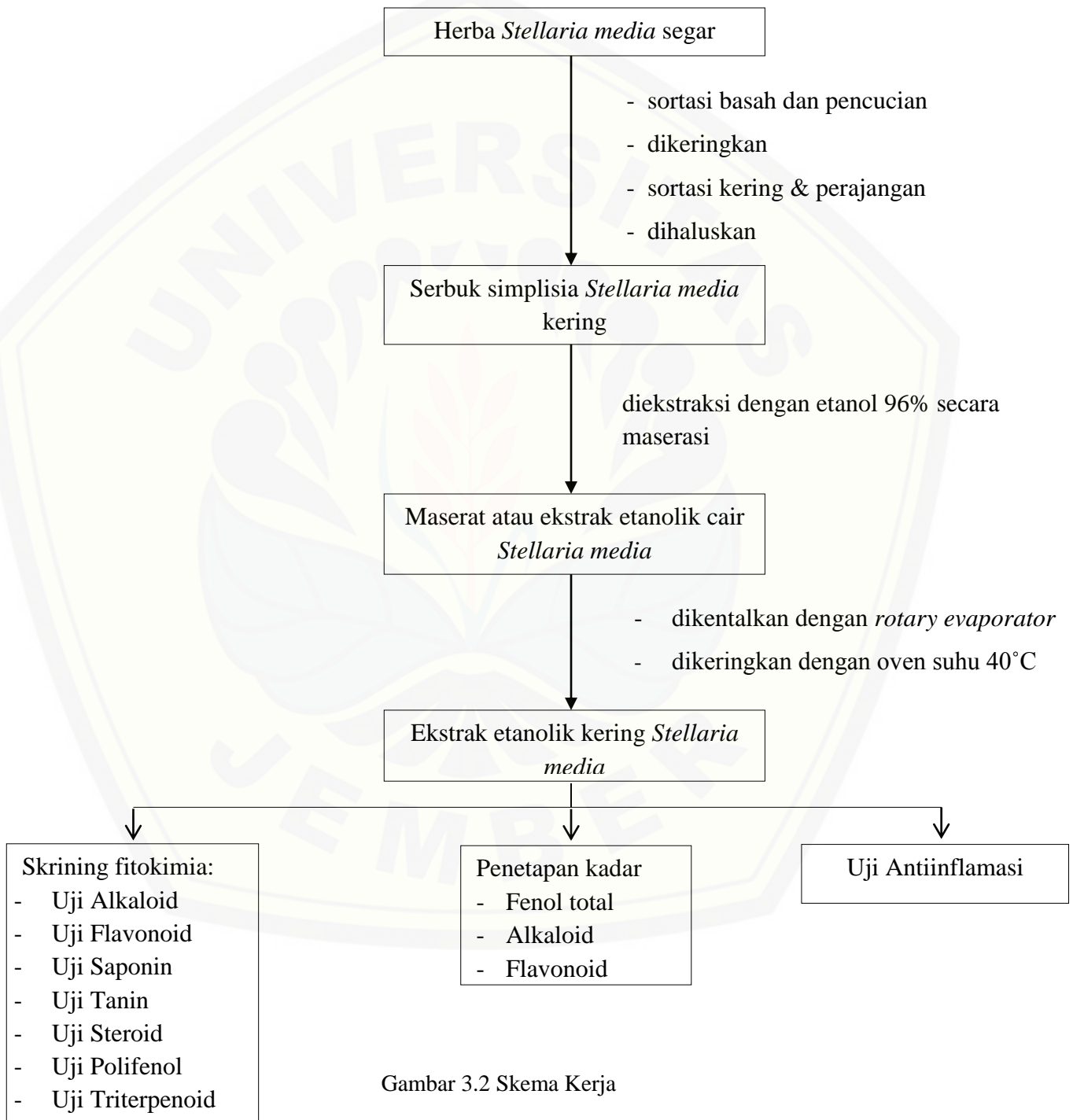
$$\% \text{ daya antiinflamasi} = \frac{\text{AUC kontrol negatif} - \text{AUC perlakuan}}{\text{AUC kontrol negatif}} \times 100\%$$

3.8.6 Analisis Data

Data pengamatan aktivitas antiinflamasi berupa adanya udem setelah diinduksi karagenan. Data nilai AUC masing-masing mencit dianalisis menggunakan metode statistik uji (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Dengan syarat uji homogenitas serta uji normalitas memenuhi persyaratan uji yaitu nilai $p > 0,05$. Dilakukan analisis lanjutan *post hoc test* menggunakan metode uji LSD untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada suatu kelompok. Namun, apabila salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak terpenuhi, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis. Kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney jika terdapat perbedaan yang bermakna.

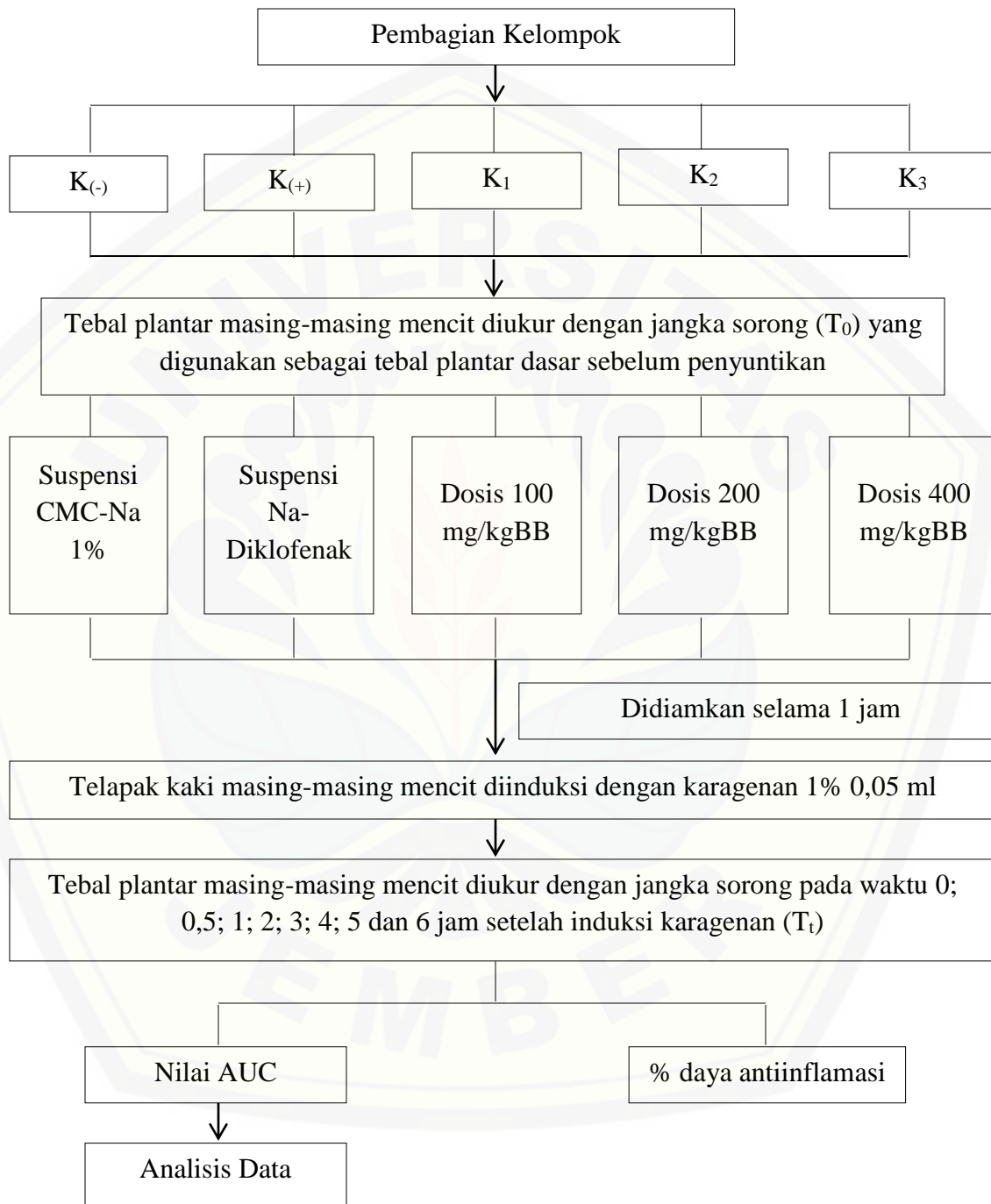
3.9 Skema Kerja Penelitian

3.9.1 Skema Kerja



Gambar 3.2 Skema Kerja

3.9.2 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan



Gambar 3.3 Skema Pengujian Antiinflamasi dengan Induksi Karagenan

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan polifenol.
2. Kadar fenol total dalam ekstrak etanol 96% tepung otot yaitu sebesar $5,672 \pm 1,186$ mg GAE/g ekstrak, kadar flavonoid dalam ekstrak etanol 96% tepung otot yaitu sebesar $4,732 \pm 0,172$ mg QE/g ekstrak, sedangkan kadar alkaloid dalam ekstrak etanol 96% tepung otot yaitu sebesar $1,631 \pm 0,013$ mg BE/g ekstrak.
3. Ekstrak etanol 96% tepung otot pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB mampu memberikan aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenan dengan % daya antiinflamasi sebesar 12,027%, 24,170% dan 46,735%. Pemberian ekstrak etanol 96% tepung otot pada dosis 400 mg/kgBB merupakan dosis yang terbaik dari penelitian ini sebagai antiinflamasi dalam menurunkan tebal udem mencit yang diinduksi karagenan.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol 96% tepung otot yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimum yang aman dari ekstrak etanol 96% tepung otot sebagai antiinflamasi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak etanol 96% tepung otot.

DAFTAR PUSTAKA

- AHFS Drug Information. 2008. The American Society of Health System Pharmacists. *Inc. Bethesda*. 1325-1337.
- Ahmed, A. U. 2011. An Overview of Inflammation: Mechanism and Consequences. *Frontiers in Biology*. 6(4): 274-281.
- American Public Health Association. 1999. *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water 22th Edition, 3020 B "Quality Control Practices"* APHA. Washington: USA.
- Arora, D., dan A. Sharma. 2012. Pharmacognostic and Phytochemical Studies of *Stellaria media* Linn. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 4(5):1819-1822.
- Atanassova, M., S. Georgieva, K. Ivancheva. 2011. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants Medicinal Herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 46(1): 81-88.
- Ayoola, G. A., H. A. B. Coker, S. A. Adesegun, A. A. Adepoju-Bello, K. Obaweya, E. C. Ezennia, dan T. O. Atangbayila. 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 7(3): 1019-1024.
- Azwanida, N. N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 4(3): 1-6.
- Belova, D. D., dan L. S. Dyshlyuk. 2016. The Study of Natural Polysaccharides: Organoleptic Physical, Chemical, Microbiological Properties, and Thermodynamic Characteristic of Aqueous Solutions. *Science Evolution*. 1(1): 72-79.
- Biesalski, H. K. 2007. Polyphenols and Inflammation: Basic Interactions. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 10: 724-728.

- Blower, P. R. 1993. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *British Journal of Rheumatology*. 32(4): 35-38.
- Brosseau, C. L., A. Gambardella, F. Casadio, C. M. Grzywacz, J. Wounters, dan R. P. V. Duyne. 2009. Thin Layer Chromatography-Surface Enhanced Raman Spectroscopy and In Situ on the Fiber Analysis. *Analysis Chemistry*. 81: 3056-3062.
- Buss, A. D., dan M. S. Butler. 2010. *Natural Product Chemistry for Drug Discovery*. UK: The Royal Society of Chemistry.
- CABI. 2018. Invasive Species Compendium: Detailed Coverage of Invasive Species Threatening Livelihoods and the Environment Worldwide. *online*. (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/51635>, diakses tanggal 20 Maret 2018).
- Chandra, S., dan D. S Rawat. 2015. Medicinal Plants of the Family Caryophyllaceae: A Review of Ethnomedicinal Uses and Pharmacological Properties. *Integrative Medicine Research*. 4:123-131.
- Chang, C., M. Yang, H. Wen, dan J. Chern. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3):178-182.
- Choudhury, B. H., A. M. Baruah, dan S. Baishya. 2018. Phytochemicals and Carbohydrates Content of Some Indigenous Leafy Vegetables of Jorhat District, India. *Asian Journal of Chemistry*. 30(6): 1252-1256.
- Chuasuwana, B., V. Binjesoh, J. E. Polli, H. Zhang, G. L. Amidon, H. E. Junginger, K. K. Midha, V. P. Shah, S. Stavchansky, J. B. Dressman, dan D. M. Barends. 2009. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Diclofenac Sodium and Diclofenac Potassium. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 98(4): 1206-1219.
- Cicco, N., M. T. Lanorte, M. Paraggio, M. Viggiano, dan V. Lattanzio. 2009. A Reproducible, Rapid and Inexpensive Folin-Ciocalteu Micro-Method in Determining Phenolics of Plant Methanol Extracts. *Microchemical Journal*. 91(1): 107-110.

- Corwin, E. J. 2008. *Handbook of Pathophysiology 3th Edition*. Philadelphia: Lippincort Williams & Wilkins.
- Corsini, E., R. D. Paola, B. Viviana, T. Genovese, E. Mazzon, L. Lucchi, M. Marinovich, C. L. Galli, dan S. Cuzzocrea. 2005. Increased Carrageenan-Induced Acute Lung Inflammation in Old Rats. *Immunology*. 115:253-261.
- Davies, N. M., dan K. E. Anderson. 1997. Clinical Pharmacokinetics of Diclofenac. *Clinical Pharmacokinetics*. 33(3): 184-213.
- Day, R. A., dan A. L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Direktorat Jenderal POM. 1989. *Materia Medika Jilid IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dorland, W. A. Newman. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland, alih bahasa Huriwati Hartanto, dkk., edisi 29*. Jakarta: ECG.
- Farnsworth, N. R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55(3): 225-276.
- Gan, T. J. 2010. Diclofenac: An Update on Its Mechanism of Action and Safety Profile. *Current Medical Research*. 26(7): 1715-1731.
- Harborne, J. B. 1998. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi II*. Hal 4-7:69-76. Bandung: ITB.
- Harirforoosh, S., dan F. Jamali. 2009. Renal Adverse Effects of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Expert Opinion on Drug Safety*. 8(6): 669-681.
- Harvey, A. L. 2008. Natural Product in Drug Discovery. *Drug Discovery Today*. 13(19-20): 894-901.
- Heim, K. E., A. R. Tagliaferro, dan D. J. Bobilya. 2002. Flavonoid Antioxidant: Chemistry, Metabolism and Structure Activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.

- Henson, P. M. 2005. Dampening Inflammation. *Nature Immunology*. 6(12): 1179-1181.
- Ingawale, D. K., S. K. Mandlik, dan S. S. Patel. 2015. An Emphasis on Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Effects and Glucocorticoid Resistance. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 12(1): 1-13.
- Jones, H. R., C. T. Robb, M. Perretti, dan A. G. Rossi. 2016. The Role of Neutrophils in Inflammation Resolution. *Seminars in Immunology*. 28(2): 137-145.
- Katno dan S. Pramono. 2008. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*: Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu dan Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Katzung, B. G. 2006. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 10. New York: McGraw-Hill.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Ditjen POM.
- Kim, H. P., H. S. Kun, H. W. Chang, dan S. S. Kang. 2004. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*. 96:229-245.
- Li, L., R. Ni, Y. Shao, dan S. Mao. 2014. Carrageenan and Its Applications in Drug Delivery. *Carbohydrate Polymers*. 103: 1-11.
- Lusiana, N., R. Andriyani, dan M. Megasari. 2015. *Metodologi Penelitian Kebidanan*. Yogyakarta: Deepublish Publisher.
- Medzhitov, R. 2008. Origin and Physiological Roles of Inflammation. *Nature*. 454: 428-435.
- Mohammed, M. S., W. J. A. Osman, E. A. E. Garelnabi, Z. Osman, B. Osman, H. S. Khalid, M. A. Mohamed. 2014. Secondary Metabolites as Anti-inflammatory Agents. *The Journal of Phytopharmacology*. 3(4): 275-285.

- Necas, J., dan L. Bartosikova. 2013. Carrageenan. *Veterinarni Medicina*. 58(4): 187-205.
- Needleman, P., J. Turk, B. A. Jakschik, A. R. Morrison, dan J. B. Lefkowitz. 1986. Arachidonic Acid Metabolism. *Annual Review of Biochemistry*. 55: 69-102.
- Owen, D. J. 2002. *The Herbal Internet Companion. Herbs and Herbal Medicine Online*. New York : The Haworth Information Press®.
- Oyebanji, B. O., A. B. Saba, dan A. Bernard. 2011. Phytochemistry and In Vitro Anti-Oxidant Activities of *Stellaria media* , *Cajanus cajan* and *Tetracera potatoria* Methanolic Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(30):6622-6627.
- Oyebanji, B. O., A. B. Saba, dan O. A. Oridupa. 2012. Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Methanol Extract of *Stellaria media* (L.) Vill Leaf. *African Journal of Biomedical Research*. 15:29-34.
- Patel, R. K., J. B. Patel, dan P. D. Trivedi. 2015. Spectrophotometric Method for the Estimation of Total Alkaloids in the *Tinospora cordifolia* M. and Its Herbal Formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(10):249-251.
- Perkampus, H. H. 1992. *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Petersen, A. M. W., dan B. K. Pedersen. 2005. The Anti-inflammatory Effect of Exercise. *Journal Application Physiology*. 98: 1154-1162.
- Pountos, I., T. Georgouli, H. Bird, P. V. Giannoudis. 2011. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: Prostaglandins, Indications, and Side Effects. *International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research*. 3: 19-27.
- Qandil, A. M. 2012. Prodrugs of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs), More Than Meets the Eye. *International Journal of Molecular Sciences*. 13: 17244-17274.

- Ramakrishna, A., dan G. A. Ravishankar. 2011. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. *Plant Signaling and Behavior*. 6(11): 1720-1731.
- Rani, N., N. Vasudeva, dan S. K. Sharma. 2012. Quality Assessment and Anti-Obesity Activity of *Stellaria media* (Linn.) Vill. *Complementary and Alternative Medicine*. 12: 145-152.
- Rankin, J. A. 2004. Biological Mediators of Acute Inflammation. *Advanced Critical Care*. 15(1): 3-17.
- Rathee, P., H. Chaudhary, S. Rathee, D. Rathee, V. Kumar, dan K. Kohli. 2009. Mechanism of Action of Flavonoids As Anti-inflammatory Agents: A Review. *Inflammation and Allergy-Drug Targets*. 8:229-235.
- Rhen, T., dan J. A. Cidlowski. 2005. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids- New Mechanisms for Old Drugs. *The New England Journal of Medicine*. 353(16): 1711-1723.
- Roper, E. G., R. N. Blomster, N. R. Farnsworth, dan F. J. Draus. 1965. Studies on Alkaloid Detecting Reagent: Stability and Sensitivity of Modified Dragendorff's Reagents. *Planta Medica*. 13(1): 98-103.
- Ryan, G. B., dan G. Majno. 1997. Acute Inflammation. *American Journal of Pathology*. 86(1): 185-276.
- Sarmah, P., A. Sarma, D. Kashyap, M. Mahanta, dan P. Medhi. 2014. Nutraceutical properties of *Stellaria media* (L.) Vill. and *Persicaria chinensis* (L.) H. Gross under Brahmaputra valley agro-climatic condition. *Annals of Plant Sciences*. 3(8):779-782.
- Sasidharan, S., Y. Chen, D. Saravanan, K. M. Sundram, dan L. Y. Latha. 2011. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants Extracts. *Africa Journal Tradit Complement Alternative Medicine*. 8(1): 1-10.
- Shalini, S., dan P. Sampathkumar. 2012. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Plant Extracts for Disease Management. *International Journal Currents Science*. 1: 209-218.

- Shaw, R., M. F. Festing, I. Peers, dan L. Furlong. 2002. Use of Factorial Designs to Optimize Animal Experiments and Reduce Animal Use. *ILAR Journal*. 43(4): 223-232.
- Signore, A. 2013. About Inflammation and Infection. *EJNMMI Research*. 3(8): 1-2.
- Singleton, V. L., R. Orthofer, dan R. M. L. Raventos. 1999. Analysis of Total Phenol and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Soemarie, Y. B. 2016. Uji Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 1(2): 163-172.
- Souto, A. L., J. F. Tavares, M. S. da Silva, M. F. F. M. Diniz, P. F. Athayde-Filho, dan J. M. B. Filho. 2011. Anti-inflammatory Activity of Alkaloids: An Update from 2000 to 2010. *Molecules*. 16:8515-8534.
- Spite, M., dan C. N. Serhan. 2010. Novel Lipid Mediators Promote Resolution of Acute Inflammation. *Circulation Research*. 107: 1170-1184.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Stankov, S. V. 2012. Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-inflammatory Strategies. *The Open Inflammation Journal*. 5: 1-9.
- Suleyman, H., Z. Halici, E. Cadirci, A. Hacimuftuoglu, dan H. Bilen. 2008. Indirect Role of β_2 -Adrenergic Receptors in the Mechanism of Anti-Inflammatory Action of NSAIDS. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 59(4): 661-672.
- Tarnawski, A., A. Ahluwalia, dan M. K. Jones. 2013. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids. *Current Pharmaceutical Design*. 19(1): 126-132.
- Taskin, T., dan L. Bitis. 2013. Antioxidant Activity of *Silene alba* subso. *divaricata* and *Stellaria media* subsp. *media* from Caryophyllaceae. *Spatula DD*. 3(1):1-5.

- Tjay, T. H., dan K. Rahardja. 2002. *Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya Edisi V*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tracey, K. J. 2002. The Inflammatory Reflex. *Nature International Journal of Science*. 420: 853-859.
- Verri, W. A., F. T. M. C. Vicentini, M. M. Baracat, S. R. Georgetti, R. D. R. Cardoso, T. M. Cunha, S. H. Ferreira, F. Q. Cunha, M. J. V. Fonseca, dan R. Casagrande. 2012. Flavonoids as Anti-inflammatory and Analgesic Drugs: Mechanisms of Action and Perspectives in the Development of Pharmaceutical Forms. *Bioactive Natural Products*. 36: 297-330.
- Winter, C. A., E. A. Risley, G. W. Nuss. 1962. Carrageenin-Induced Udem in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Society for Experimental Biology Medicine*. 111(3):544-547.
- Woisky, R. G., dan A. Salatino. 1998. Analysis of Propolis: Some Parameters and Procedures for Chemical Quality Control. *Journal of Apicultural Research*. 37(2): 99-105.
- Yang, C. L. H., T. C. T. Or, M. H. K. Ho. 2013. Scientific Basis of Botanical Medicine as Alternative Remedies for Rheumatoid Arthritis. *Clinical Reviews Allergy and Immunology*. 44: 284-300.

LAMPIRAN**LAMPIRAN 1. PERHITUNGAN****1.1 Perhitungan % Rendemen Ekstrak**

Berat ekstrak = 32,622 gram

Berat serbuk yang diekstraksi = 400 gram

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen ekstrak} &= \frac{\text{berat ekstrak hasil ekstraksi}}{\text{berat serbuk yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{32,622 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,16\%\end{aligned}$$

1.2 Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Fenol Total**a. Pembuatan Larutan *Folin-Ciocalteu***

Sebanyak 1mL *Folin-Ciocalteu* diencerkan dengan akuades 10 mL

b. Pembuatan Na₂CO₃

Sebanyak 7,5 gram Na₂CO₃ dilarutkan dalam 100 mL akuades

c. Pembuatan Larutan Asam Galat

Larutan induk yang dibuat adalah 300 µg/mL

$$\frac{30 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 300 \text{ µg/mL}$$

Penimbangan asam galat = 31,3 mg

$$\text{Larutan induk} = \frac{31,3 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 313 \text{ µg/mL}$$

Sebanyak 31,3 mg asam galat dilarutkan dalam 100 mL etanol sehingga didapatkan konsentrasi 313 µg/mL.

Pengenceran larutan induk:

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 \text{ µg/mL} = 31,3 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 \text{ µg/mL} = 62,6 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{1,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 \text{ µg/mL} = 93,9 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 313 \text{ } \mu\text{g/mL} = 125,2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

d. Pembuatan Ekstrak Uji

$$\frac{90 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 9000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sebanyak 90 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga didapatkan konsentrasi 9000 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

Replikasi 1 = 90,2 mg

$$\frac{90,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 9020 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2 = 90,3 mg

$$\frac{90,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 9030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3 = 90,3 mg

$$\frac{90,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 9030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

e. Pembuatan Blanko Negatif

0,5 mL etanol ditambah 5 mL *Folin-Ciocalteu* didiamkan selama 5 menit dalam tabung reaksi kemudian ditambah 4 mL Na_2CO_3 dikocok selama 15 detik.

f. Perhitungan Kadar Fenol Total

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
Asam galat	31,3	0,355
	62,6	0,563
	93,9	0,725
	125,2	0,903
Ekstrak	9020	0,391
	9030	0,497
	9030	0,436

Persamaan kurva baku standar yang diperoleh yaitu $y = 0,005x + 0,185$ dengan nilai $r = 0,998$. Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kadar fenol total larutan sampel ekstrak tepung otot ekivalen asam galat dengan menghitung nilai x . Absorbansi sampel ekstrak tepung otot dimasukkan ke y . Perhitungan sebagai berikut:

- Replikasi 1

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,391 = 0,005x + 0,185$$

$$x = 41,2 \mu\text{g GAE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar fenol total per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar fenol total} = 41,2 \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0902 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4547,461 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 4,547 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 4,547 mg fenol total yang setara dengan asam galat.

- Replikasi 2

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,497 = 0,005x + 0,185$$

$$x = 62,4 \mu\text{g GAE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar fenol total per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar fenol total} = 62,4 \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0903 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 6910,299 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 6,910 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 6,910 mg fenol total yang setara dengan asam galat.

- Replikasi 3

$$y = 0,005x + 0,185$$

$$0,436 = 0,005x + 0,185$$

$$x = 50,2 \mu\text{g GAE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar fenol total per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar fenol total} = 50,2 \mu\text{g GAE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0903 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 5559,247 \mu\text{g GAE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar fenol total} = 5,559 \text{ mg GAE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 5,559 mg fenol total yang setara dengan asam galat.

g. Perhitungan Standar Deviasi dan CV

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(4,547-5,672)^2 + (6,910-5,672)^2 + (5,559-5,672)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(1,266) + (1,533) + (0,013)}{2}} \\ &= 1,186 \end{aligned}$$

Keterangan : a,b = kadar fenol total ekstrak tepung otot

x = kadar rata-rata fenol total ekstrak tepung otot

n = banyaknya data

$$\begin{aligned} \text{CV} &= \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100\% \\ &= \frac{1,186}{5,672} \times 100\% \\ &= 20,910\% \end{aligned}$$

1.3 Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Flavonoid

a. Pembuatan Larutan AlCl_3 10%

Ditimbang AlCl_3 sebanyak 2,5 gram di ad 25 mL akuades

b. Pembuatan Larutan CH₃COOK 1 M

$$M_r = 98 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V \text{ (L)}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{x}{98 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,01 \text{ L}}$$

$$1 \text{ mol/L} = \frac{x}{98 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,01 \text{ L}}$$

$$x = 1 \times 98 \times 0,01 \text{ gram}$$

$$= 0,98 \text{ gram}$$

Ditimbang CH₃COOK sebanyak 0,98 gram di ad 10 mL akuades

c. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan induk yang dibuat adalah 2000 µg/mL dan 4000 µg/mL

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 2000 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 4000 \text{ µg/mL}$$

Penimbangan kuersetin = 20,9 mg dan 40,7 mg

$$\text{Larutan induk 1} = \frac{20,9 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 2090 \text{ µg/mL}$$

$$\text{Larutan induk 2} = \frac{40,7 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 4070 \text{ µg/mL}$$

Sebanyak 20,9 mg dan 40,7 mg kuersetin dilarutkan dalam 10 mL akuades sehingga didapatkan konsentrasi 2090 µg/mL dan 4070 µg/mL.

Pengenceran larutan induk:

$$\frac{0,1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2090 \text{ µg/mL} = 20,9 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 4070 \text{ µg/mL} = 81,4 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2090 \text{ µg/mL} = 104,5 \text{ µg/mL}$$

$$\frac{0,7 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2090 \text{ µg/mL} = 146,3 \text{ µg/mL}$$

d. Pembuatan Ekstrak Uji

$$\frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 5000 \text{ µg/mL}$$

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL metanol sehingga didapatkan konsentrasi 5000 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

Replikasi 1 = 50,3 mg

$$\frac{50,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2 = 50,3 mg

$$\frac{50,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3 = 50,3 mg

$$\frac{50,3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

e. Pembuatan Blanko Negatif

2 mL metanol dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 1 mL AlCl_3 , 1 mL CH_3COOK dan 2,8 mL akuades ditunggu 25 menit.

f. Perhitungan Kadar Flavonoid

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
Kuersetin	20,9	0,378
	81,4	0,705
	104,5	0,834
	146,3	1,023
Ekstrak	5030	0,393
	5030	0,401
	5030	0,394

Persamaan kurva baku standar yang diperoleh yaitu $y = 0,005x + 0,277$ dengan nilai $r = 0,998$. Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kadar alkaloid larutan sampel ekstrak tepung otot ekivalen kuersetin dengan menghitung nilai x . Absorbansi sampel ekstrak tepung otot dimasukkan ke y . Perhitungan sebagai berikut:

- Replikasi 1

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,393 = 0,005x + 0,277$$

$$x = 23,2 \text{ } \mu\text{g QE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar flavonoid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar flavonoid} = 23,2 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4612,326 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4,612 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 4,612 mg flavonoid yang setara dengan kuersetin.

- Replikasi 2

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,401 = 0,005x + 0,277$$

$$x = 24,8 \mu\text{g QE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar flavonoid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar flavonoid} = 24,8 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4930,418 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4,930 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 4,930 mg flavonoid yang setara dengan kuersetin.

- Replikasi 3

$$y = 0,005x + 0,277$$

$$0,394 = 0,005x + 0,277$$

$$x = 23,4 \mu\text{g QE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar flavonoid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar flavonoid} = 23,4 \mu\text{g QE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4652,087 \mu\text{g QE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar flavonoid} = 4,652 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 4,652 mg flavonoid yang setara dengan kuersetin.

g. Perhitungan Standar Deviasi dan CV

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(4,612-4,732)^2 + (4,930-4,732)^2 + (4,652-4,732)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,014) + (0,039) + (0,006)}{2}} \\ &= 0,172 \end{aligned}$$

Keterangan : a,b = kadar flavonoid ekstrak tepung otot

x = kadar rata-rata flavonoid ekstrak tepung otot

n = banyaknya data

$$\begin{aligned} \text{CV} &= \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100\% \\ &= \frac{0,172}{4,732} \times 100\% \\ &= 3,635\% \end{aligned}$$

1.4 Perhitungan Dalam Uji Penetapan Kadar Alkaloid

a. Pembuatan Larutan BCG (*Bromocresol green*) 10^{-4} M

$$\text{Mr} = 698,02 \text{ g/mol}$$

$$M = \frac{m}{\text{Mr}} \times \frac{1}{V \text{ (L)}}$$

$$10^{-4} \text{ mol/L} = \frac{m}{698,02 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$m = 0,0698 \text{ gram}$$

$$= 69,8 \text{ mg}$$

Ditimbang 68,9 mg BCG kemudian ditambah dengan 3 mL NaOH 2N dan 5 mL akuades, setelah itu dipanaskan pada suhu 50°C selama 15 menit dan selanjutnya diencerkan dengan 1L akuades.

b. Pembuatan Dapar

Natrium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M

$M_r = 358,2 \text{ g/mol}$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$0,2 \text{ mol/L} = \frac{m}{358,2 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,1 \text{ L}}$$

$$m = 7,164 \text{ gram}$$

Asam sitrat monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) 0,2 M

$M_r = 210,14 \text{ g/mol}$

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$0,2 \text{ mol/L} = \frac{m}{210,14 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,1 \text{ L}}$$

$$m = 4,203 \text{ gram}$$

Dibuat larutan Na_2HPO_4 dengan menimbang 7,164 gram Na_2HPO_4 dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian dibuat larutan $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ dengan menimbang 4,203 gram $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya kedua larutan tersebut dicampur dan diukur pH sebesar 4,7.

c. Pembuatan larutan HCl 2 N

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ N} \times 50 \text{ mL}}{12 \text{ N}}$$

$$= 8,33 \text{ mL}$$

d. Pembuatan Larutan Berberin Klorida

Larutan induk yang dibuat adalah 100 $\mu\text{g/mL}$

$$\frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 100 \mu\text{g/mL}$$

Penimbangan berberin = 1,02 mg

$$\text{Larutan induk} = \frac{1,02 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 102 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sebanyak 1,02 mg berberin klorida dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga didapatkan konsentrasi 102 $\mu\text{g/mL}$.

Pengenceran larutan induk:

$$\frac{0,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4,08 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6,12 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{0,8 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8,16 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10,20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 102 \text{ } \mu\text{g/mL} = 14,28 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

e. Pembuatan Ekstrak Uji

$$\frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mL/L} = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL HCl 2 N sehingga didapatkan konsentrasi 5000 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan ekstrak uji dilakukan 3 kali replikasi.

Replikasi 1 = 50,3 mg

$$\frac{50,3 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5030 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2 = 50,2 mg

$$\frac{50,2 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5020 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3 = 50,4 mg

$$\frac{50,4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ mg/mL} = 5040 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

f. Pembuatan Blanko Negatif

10 mL HCl dimasukkan dalam corong pisah ditambah 5 mL dapar fosfat, 5 mL BCG dan 5 mL kloroform kemudian diambil fase kloroformnya.

g. Perhitungan Kadar Alkaloid

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
Berberin	4,08	0,187
	6,12	0,331
	8,16	0,489
	10,20	0,627
	14,28	0,897
Ekstrak	5030	0,476
	5020	0,469
	5040	0,480

Persamaan kurva baku standar yang diperoleh yaitu $y = 0,069x - 0,091$ dengan nilai $r = 0,999$. Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan kadar alkaloid larutan sampel ekstrak tepung otot ekivalen berberin dengan menghitung nilai x . Absorbansi sampel ekstrak tepung otot dimasukkan ke y . Perhitungan sebagai berikut:

- Replikasi 1

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,476 = 0,069x - 0,091$$

$$x = 8,217 \mu\text{g BE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar alkaloid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar alkaloid} = 8,217 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0503 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1633,598 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,634 \text{ mg BE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 1,634 mg alkaloid yang setara dengan berberin.

- Replikasi 2

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,469 = 0,069x - 0,091$$

$$x = 8,116 \mu\text{g BE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar alkaloid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar alkaloid} = 8,116 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0502 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1616,733 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,617 \text{ mg BE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 1,617 mg alkaloid yang setara dengan berberin.

- Replikasi 3

$$y = 0,069x - 0,091$$

$$0,480 = 0,069x - 0,091$$

$$x = 8,275 \mu\text{g BE/mL}$$

dari nilai x dapat dihitung kadar alkaloid per berat ekstrak tepung otot dengan cara sebagai berikut:

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

$$\text{Kadar alkaloid} = 8,275 \mu\text{g BE/mL} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,0504 \text{ g}}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1641,865 \mu\text{g BE/g ekstrak}$$

$$\text{Kadar alkaloid} = 1,642 \text{ mg BE/g ekstrak}$$

Jadi, dalam 1 gram ekstrak etanol 96% tepung otot mengandung 1,642 mg alkaloid yang setara dengan berberin.

h. Perhitungan Standar Deviasi

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{(a-x)^2 + (b-x)^2 + \dots}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(1,634-1,631)^2 + (1,617-1,631)^2 + (1,642-1,631)^2}{3-1}} \end{aligned}$$

$$= \sqrt{\frac{(0,000009) + (0,000196) + (0,000121)}{2}}$$

$$= 0,013$$

Keterangan : a,b = kadar alkaloid ekstrak tepung otot

x = kadar rata-rata alkaloid ekstrak tepung otot

n = banyaknya data

$$CV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$= \frac{0,013}{1,631} \times 100\%$$

$$= 0,798\%$$

1.5 Perhitungan Dosis Natrium Diklofenak 6,5 mg/kgBB

Dosis natrium diklofenak orang dewasa = 50 mg

Konversi dosis ke mencit :

$$50 \text{ mg natrium diklofenak pada manusia} \sim 50 \text{ mg} \times 0,0026 \text{ pada mencit}$$

$$= 0,13 \text{ mg/20 gBB}$$

$$\text{Dosis kg/BB mencit} = \frac{1000 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,13 \text{ mg} = 6,5 \text{ mg/kgBB}$$

Volume pemberian pada mencit sebesar 0,2 mL/20 gBB ~ 0,13 mg/20 gBB

Volume yang dibuat = 10 mL

Jumlah natrium diklofenak yang ditimbang untuk 10 mL

$$\frac{0,13 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} = 6,5 \text{ mg} \quad \text{dalam 10 mL CMC Na 1\%}$$

1.6 Perhitungan Berat Ekstrak

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

Perhitungan berat ekstrak pada masing-masing dosis disesuaikan dengan berat badan mencit. Volume pemberian ekstrak etanol 96% tepung otot adalah 0,2

mL/20 gBB. Untuk perhitungan berat ekstrak yang akan ditimbang disesuaikan dengan volume larutan yang akan dibuat yaitu 10 mL.

a. Dosis 100 mg/kgBB

$$\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 2 \text{ mg}$$

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

$$x = 100 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 100 mg/kgBB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 100 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC-Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.

b. Dosis 200 mg/kgBB

$$\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{x}{20 \text{ g}}$$

$$x = 4 \text{ mg}$$

$$\frac{4 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}}$$

$$x = 200 \text{ mg}$$

Pembuatan ekstrak dosis 200 mg/kgBB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 200 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC-Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.

c. Dosis 400 mg/kgBB

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

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

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

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

Pembuatan ekstrak dosis 400 mg/kgBB dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 400 mg yang digerus dan disuspensikan dengan CMC-Na 1% b/v hingga homogen sampai 10 mL.

Contoh perhitungan volume pemberian:

Volume pemberian per oral pada masing-masing mencit disesuaikan dengan berat badan mencit

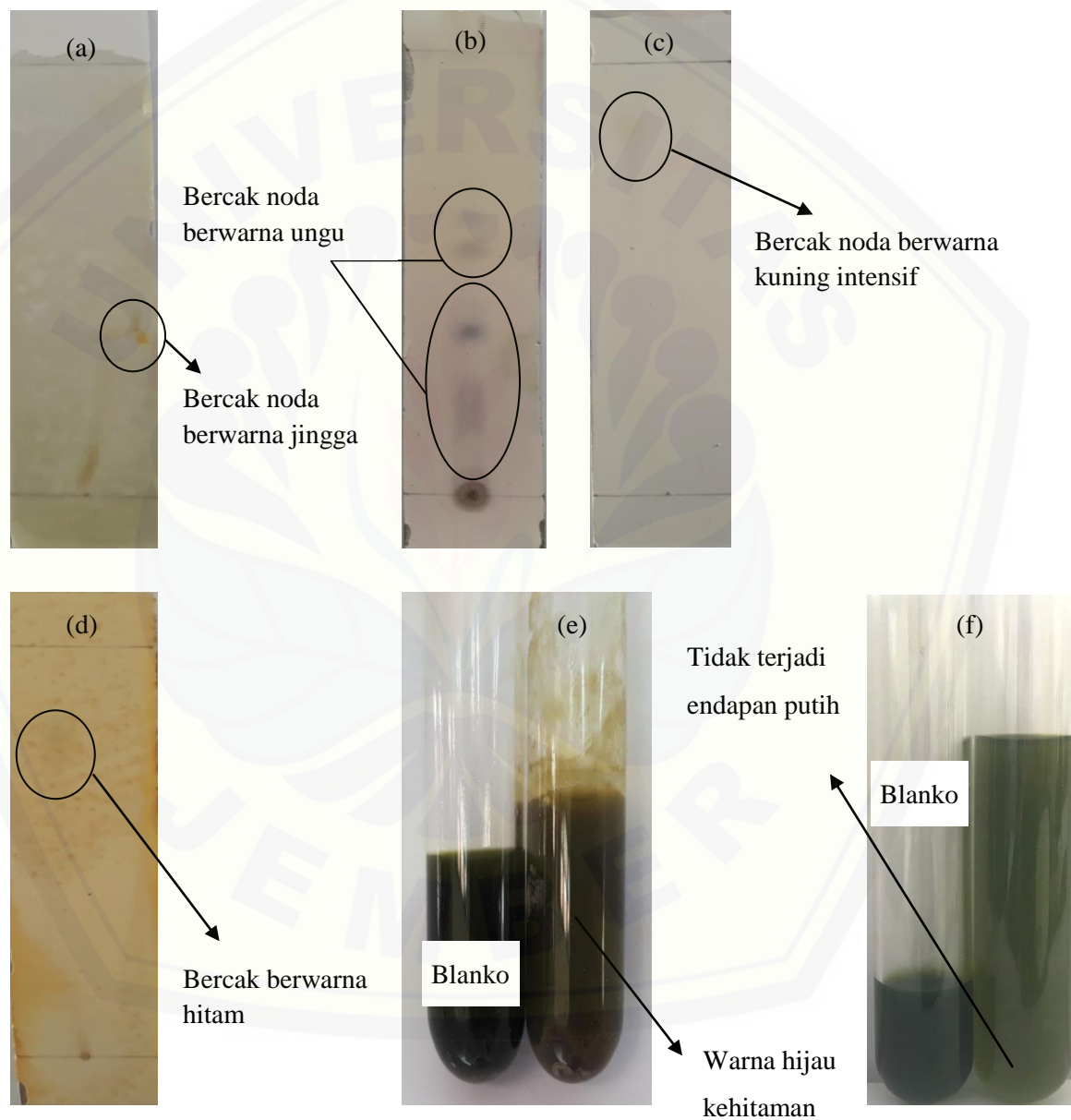
$$\frac{0,2 \text{ mL}}{20 \text{ g}} = \frac{x}{24 \text{ g}} \rightarrow x = 0,24 \text{ mL}$$

Data volume pemberian per oral pada masing-masing mencit

Kelompok	Mencit ke-	Berat (gram)	Volume yang diberikan (mL)	Tebal plantar sebelum diinjeksi karagenan (T ₀) (mm)
Kelompok negatif (CMC-Na)	1	24,0	0,240	0,230
	2	22,6	0,226	0,215
	3	21,0	0,210	0,200
	4	19,0	0,190	0,175
	5	20,0	0,200	0,195
Kelompok positif (Na-diklofenak)	1	28,2	0,282	0,240
	2	25,0	0,250	0,214
	3	26,5	0,265	0,235
	4	20,3	0,203	0,200
	5	19,7	0,197	0,170
Dosis 100 mg/kgBB	1	23,1	0,231	0,215
	2	21,1	0,211	0,200
	3	20,9	0,209	0,190
	4	22,0	0,220	0,220
	5	21,7	0,217	0,210
Dosis 200 mg/kgBB	1	24,1	0,241	0,200
	2	20,6	0,206	0,180
	3	20,0	0,200	0,190
	4	23,9	0,239	0,190
	5	26,8	0,268	0,215
Dosis 400 mg/kgBB	1	23,7	0,237	0,200
	2	23,7	0,237	0,180
	3	19,0	0,190	0,165
	4	24,0	0,240	0,230
	5	22,9	0,229	0,170

LAMPIRAN 2
HASIL SKRINING FITOKIMIA

2.1 Hasil Skrining Fitokimia



(a) KLT-Alkaloid; (b) KLT-Saponin, steroid, triterpenoid; (c) KLT-Flavonoid;

(d) KLT-Polifenol; (e) Uji FeCl_3 -Tanin; (f) Uji Gelatin-Tanin

LAMPIRAN 3

SCANNING PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM

3.1 Scanning Panjang Gelombang Maksimum Standar Asam Galat

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.673	799.0	0.673	798.0	0.674	797.0	0.674
796.0	0.675	795.0	0.675	794.0	0.676	793.0	0.676
792.0	0.677	791.0	0.680	790.0	0.680	789.0	0.678
788.0	0.677	787.0	0.678	786.0	0.679	785.0	0.679
784.0	0.680	783.0	0.681	782.0	0.683	781.0	0.684
780.0	0.683	779.0	0.683	778.0	0.683	777.0	0.683
776.0	0.682	775.0	0.681	774.0	0.682	773.0	0.683
772.0	0.685	771.0	0.683	770.0	0.685	769.0	0.686
768.0	0.686	767.0	0.686	766.0	0.686	765.0	0.686
764.0	0.686	763.0	0.686	762.0	0.685	761.0	0.685
760.0	0.685	759.0	0.684	758.0	0.684	757.0	0.684
756.0	0.684	755.0	0.684	754.0	0.683	753.0	0.683
752.0	0.682	751.0	0.681	750.0	0.680	749.0	0.678
748.0	0.678	747.0	0.679	746.0	0.679	745.0	0.678
744.0	0.677	743.0	0.677	742.0	0.677	741.0	0.676
740.0	0.675	739.0	0.675	738.0	0.673	737.0	0.672
736.0	0.672	735.0	0.671	734.0	0.671	733.0	0.671
732.0	0.670	731.0	0.669	730.0	0.669	729.0	0.670
728.0	0.670	727.0	0.669	726.0	0.668	725.0	0.667
724.0	0.666	723.0	0.665	722.0	0.665	721.0	0.664
720.0	0.663	719.0	0.662	718.0	0.661	717.0	0.660
716.0	0.659	715.0	0.658	714.0	0.657	713.0	0.656
712.0	0.655	711.0	0.654	710.0	0.653	709.0	0.652
708.0	0.651	707.0	0.649	706.0	0.648	705.0	0.647
704.0	0.646	703.0	0.645	702.0	0.644	701.0	0.644
700.0	0.644	699.0	0.644	698.0	0.642	697.0	0.641
696.0	0.639	695.0	0.639	694.0	0.637	693.0	0.637
692.0	0.637	691.0	0.635	690.0	0.634	689.0	0.633
688.0	0.632	687.0	0.631	686.0	0.630	685.0	0.629
684.0	0.627	683.0	0.626	682.0	0.625	681.0	0.624
680.0	0.623	679.0	0.622	678.0	0.621	677.0	0.620
676.0	0.619	675.0	0.618	674.0	0.616	673.0	0.615
672.0	0.614	671.0	0.612	670.0	0.611	669.0	0.610
668.0	0.609	667.0	0.607	666.0	0.607	665.0	0.605
664.0	0.604	663.0	0.602	662.0	0.601	661.0	0.600
660.0	0.599	659.0	0.598	658.0	0.597	657.0	0.596
656.0	0.595	655.0	0.594	654.0	0.593	653.0	0.591
652.0	0.590	651.0	0.589	650.0	0.588	649.0	0.586
648.0	0.585	647.0	0.584	646.0	0.583	645.0	0.582
644.0	0.581	643.0	0.579	642.0	0.578	641.0	0.577
640.0	0.578	639.0	0.575	638.0	0.574	637.0	0.572
636.0	0.571	635.0	0.570	634.0	0.569	633.0	0.568
632.0	0.566	631.0	0.564	630.0	0.562	629.0	0.561
628.0	0.561	627.0	0.559	626.0	0.558	625.0	0.557
624.0	0.556	623.0	0.555	622.0	0.554	621.0	0.552
620.0	0.551	619.0	0.550	618.0	0.548	617.0	0.547
616.0	0.546	615.0	0.545	614.0	0.543	613.0	0.541
612.0	0.540	611.0	0.539	610.0	0.537	609.0	0.536
608.0	0.535	607.0	0.533	606.0	0.531	605.0	0.528
604.0	0.527	603.0	0.526	602.0	0.525	601.0	0.524
600.0	0.521	599.0	0.517	598.0	0.515	597.0	0.514
596.0	0.512	595.0	0.512	594.0	0.511	593.0	0.510
592.0	0.509	591.0	0.509	590.0	0.508	589.0	0.507
588.0	0.506	587.0	0.506	586.0	0.505	585.0	0.505
584.0	0.505	583.0	0.508	582.0	0.505	581.0	0.504
580.0	0.504	579.0	0.503	578.0	0.501	577.0	0.500
576.0	0.498	575.0	0.495	574.0	0.493	573.0	0.491
572.0	0.489	571.0	0.488	570.0	0.487	569.0	0.488
568.0	0.488	567.0	0.484	566.0	0.479	565.0	0.478
564.0	0.477	563.0	0.475	562.0	0.473	561.0	0.471
560.0	0.469	559.0	0.467	558.0	0.466	557.0	0.464
556.0	0.462	555.0	0.460	554.0	0.458	553.0	0.456

3.2 Scanning Panjang Gelombang Maksimum Standar Kuersetin

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 600.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
600.0	-0.013	599.0	-0.013	598.0	-0.013	597.0	-0.013
596.0	-0.013	595.0	-0.013	594.0	-0.012	593.0	-0.013
592.0	-0.013	591.0	-0.013	590.0	-0.013	589.0	-0.013
588.0	-0.014	587.0	-0.014	586.0	-0.014	585.0	-0.014
584.0	-0.014	583.0	-0.014	582.0	-0.014	581.0	-0.014
580.0	-0.014	579.0	-0.014	578.0	-0.015	577.0	-0.015
576.0	-0.015	575.0	-0.014	574.0	-0.013	573.0	-0.014
572.0	-0.015	571.0	-0.015	570.0	-0.015	569.0	-0.015
568.0	-0.014	567.0	-0.014	566.0	-0.014	565.0	-0.014
564.0	-0.014	563.0	-0.014	562.0	-0.014	561.0	-0.014
560.0	-0.014	559.0	-0.014	558.0	-0.014	557.0	-0.013
556.0	-0.013	555.0	-0.013	554.0	-0.014	553.0	-0.014
552.0	-0.014	551.0	-0.013	550.0	-0.013	549.0	-0.013
548.0	-0.014	547.0	-0.014	546.0	-0.014	545.0	-0.013
544.0	-0.013	543.0	-0.014	542.0	-0.014	541.0	-0.014
540.0	-0.014	539.0	-0.014	538.0	-0.014	537.0	-0.014
536.0	-0.014	535.0	-0.014	534.0	-0.013	533.0	-0.013
532.0	-0.013	531.0	-0.012	530.0	-0.013	529.0	-0.012
528.0	-0.012	527.0	-0.011	526.0	-0.011	525.0	-0.011
524.0	-0.011	523.0	-0.011	522.0	-0.010	521.0	-0.009
520.0	-0.008	519.0	-0.007	518.0	-0.006	517.0	-0.006
516.0	-0.004	515.0	-0.003	514.0	-0.001	513.0	0.000
512.0	0.001	511.0	0.000	510.0	0.001	509.0	0.005
508.0	0.007	507.0	0.009	506.0	0.011	505.0	0.014
504.0	0.016	503.0	0.018	502.0	0.019	501.0	0.021
500.0	0.023	499.0	0.026	498.0	0.029	497.0	0.032
496.0	0.036	495.0	0.040	494.0	0.044	493.0	0.049
492.0	0.053	491.0	0.058	490.0	0.064	489.0	0.069
488.0	0.075	487.0	0.082	486.0	0.088	485.0	0.095
484.0	0.102	483.0	0.110	482.0	0.119	481.0	0.127
480.0	0.137	479.0	0.146	478.0	0.154	477.0	0.163
476.0	0.181	475.0	0.191	474.0	0.200	473.0	0.210
472.0	0.234	471.0	0.245	470.0	0.264	469.0	0.280
468.0	0.297	467.0	0.313	466.0	0.330	465.0	0.347
464.0	0.365	463.0	0.383	462.0	0.400	461.0	0.419
460.0	0.438	459.0	0.457	458.0	0.476	457.0	0.494
456.0	0.512	455.0	0.530	454.0	0.549	453.0	0.568
452.0	0.587	451.0	0.604	450.0	0.620	449.0	0.636
448.0	0.653	447.0	0.668	446.0	0.682	445.0	0.695
444.0	0.708	443.0	0.720	442.0	0.732	441.0	0.743
440.0	0.753	439.0	0.762	438.0	0.770	437.0	0.779
436.0	0.787	435.0	0.794	434.0	0.799	433.0	0.804
432.0	0.807	431.0	0.811	430.0	0.813	429.0	0.815
428.0	0.816	427.0	0.816	426.0	0.816	425.0	0.814
424.0	0.812	423.0	0.808	422.0	0.804	421.0	0.799
420.0	0.793	419.0	0.787	418.0	0.778	417.0	0.769
416.0	0.760	415.0	0.750	414.0	0.739	413.0	0.726
412.0	0.714	411.0	0.701	410.0	0.688	409.0	0.674
408.0	0.660	407.0	0.645	406.0	0.631	405.0	0.617
404.0	0.602	403.0	0.587	402.0	0.573	401.0	0.558
400.0	0.547						

3.3 Scanning Panjang Gelombang Maksimum Standar Berberin

368.0	0.199	367.0	0.213	366.0	0.228	365.0	0.246
364.0	0.263	363.0	0.280	362.0	0.297	361.0	0.312
360.0	0.324	359.0	0.335	358.0	0.343	357.0	0.350
356.0	0.355	355.0	0.358	354.0	0.359	353.0	0.359
352.0	0.359	351.0	0.357	350.0	0.356	349.0	0.354
348.0	0.353	347.0	0.352	346.0	0.351	345.0	0.349
344.0	0.348	343.0	0.346	342.0	0.343	341.0	0.340
340.0	0.334	339.0	0.326	338.0	0.318	337.0	0.311
336.0	0.304	335.0	0.296	334.0	0.287	333.0	0.278
332.0	0.269	331.0	0.261	330.0	0.253	329.0	0.245
328.0	0.237	327.0	0.229	326.0	0.221	325.0	0.214
324.0	0.206	323.0	0.198	322.0	0.191	321.0	0.183
320.0	0.176	319.0	0.169	318.0	0.163	317.0	0.157
316.0	0.152	315.0	0.146	314.0	0.141	313.0	0.135
312.0	0.130	311.0	0.126	310.0	0.123	309.0	0.119
308.0	0.116	307.0	0.114	306.0	0.112	305.0	0.111
304.0	0.111	303.0	0.112	302.0	0.114	301.0	0.116
300.0	0.120	299.0	0.124	298.0	0.129	297.0	0.135
296.0	0.142	295.0	0.152	294.0	0.162	293.0	0.174
292.0	0.187	291.0	0.199	290.0	0.212	289.0	0.223
288.0	0.233	287.0	0.241	286.0	0.250	285.0	0.258
284.0	0.266	283.0	0.274	282.0	0.283	281.0	0.292
280.0	0.300	279.0	0.308	278.0	0.315	277.0	0.323
276.0	0.329	275.0	0.335	274.0	0.341	273.0	0.345
272.0	0.349	271.0	0.353	270.0	0.356	269.0	0.358
268.0	0.358	267.0	0.357	266.0	0.354	265.0	0.350
264.0	0.344	263.0	0.336	262.0	0.329	261.0	0.321
260.0	0.313	259.0	0.305	258.0	0.300	257.0	0.296
256.0	0.293	255.0	0.290	254.0	0.290	253.0	0.292
252.0	0.294	251.0	0.298	250.0	0.305	249.0	0.312
248.0	0.320	247.0	0.329	246.0	0.340	245.0	0.349
244.0	0.355	243.0	0.356	242.0	0.347	241.0	0.331
240.0	0.307	239.0	0.271	238.0	0.234	237.0	0.208
236.0	0.193	235.0	0.184	234.0	0.167	233.0	0.147
232.0	0.137	231.0	0.114	230.0	0.090	229.0	0.087
228.0	0.071	227.0	0.056	226.0	0.048	225.0	0.038
224.0	0.049	223.0	0.051	222.0	0.031	221.0	0.031
218.0	0.041	217.0	0.020	216.0	-0.012	215.0	-0.023
216.0	-0.012	215.0	-0.012	214.0	-0.035	213.0	-0.035
212.0	-0.023	211.0	-0.035	210.0	-0.059	209.0	-0.062
208.0	-0.038	207.0	-0.049	206.0	-0.072	205.0	-0.059
204.0	-0.035	203.0	-0.001	202.0	0.008	201.0	-0.016
200.0	-0.013						

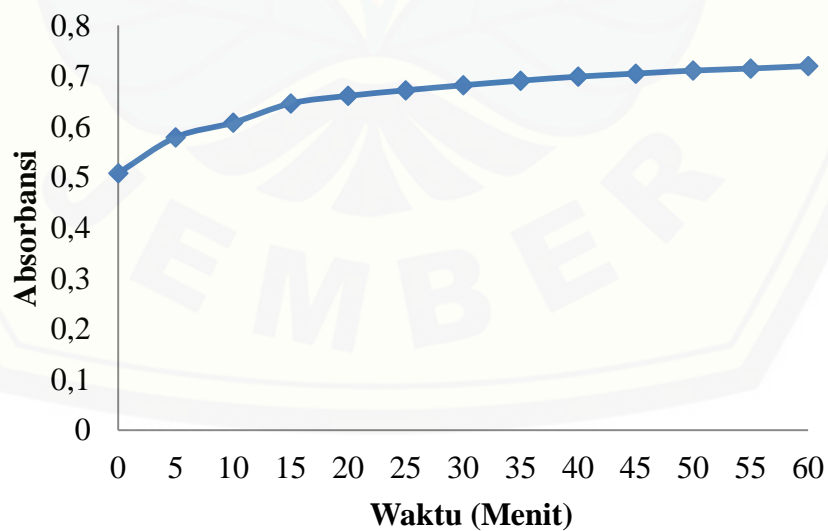
LAMPIRAN 4
HASIL OPTIMASI WAKTU INKUBASI

4.1 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Fenol Total

a. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Asam Galat

Tabel 4.1.a Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Asam Galat

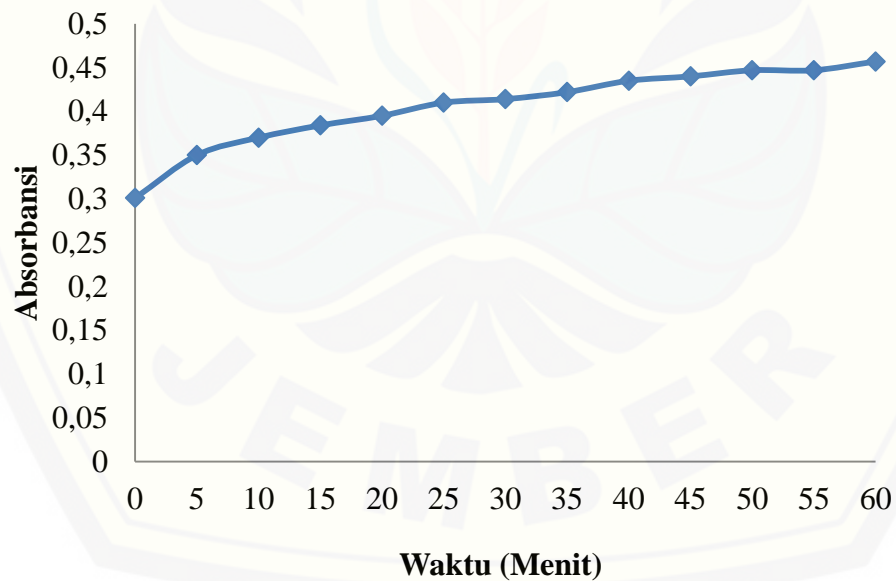
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,508
5	0,579
10	0,608
15	0,646
20	0,661
25	0,672
30	0,682
35	0,691
40	0,699
45	0,705
50	0,711
55	0,715
60	0,720



b. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Tabel 4.1.b Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,301
5	0,350
10	0,370
15	0,384
20	0,395
25	0,410
30	0,414
35	0,422
40	0,435
45	0,440
50	0,447
55	0,447
60	0,457

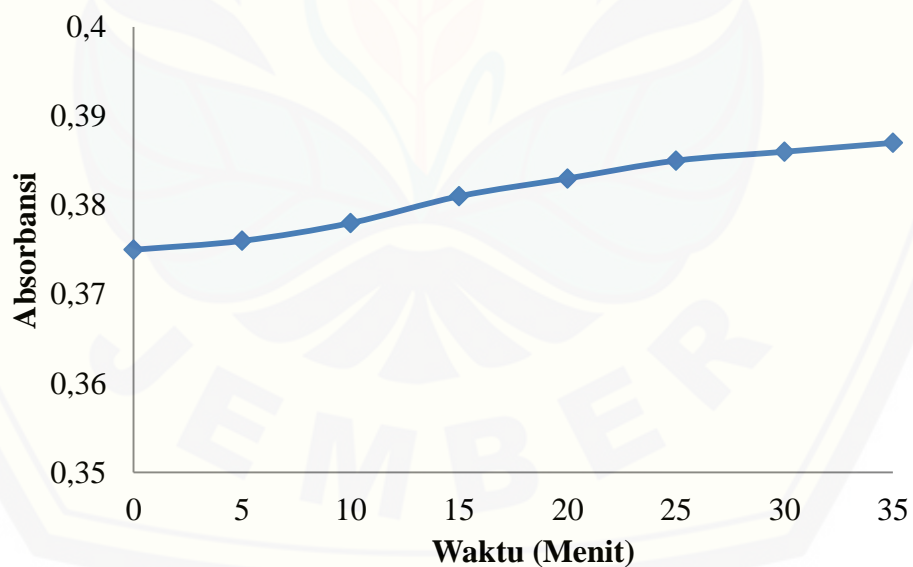


4.2 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Flavonoid

a. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin

Tabel 4.2.a Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin

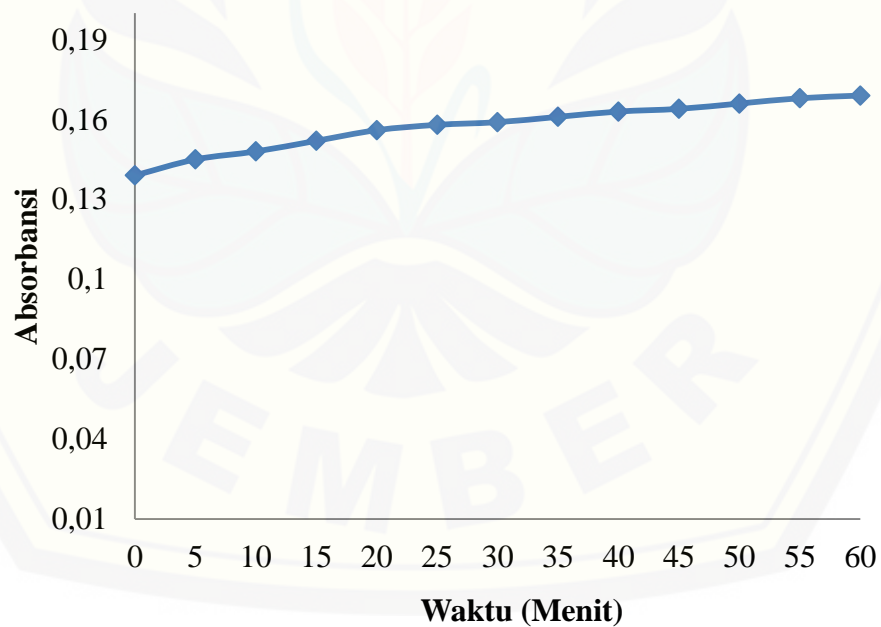
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,375
5	0,376
10	0,378
15	0,381
20	0,383
25	0,385
30	0,386
35	0,387
40	0,389
45	0,390
50	0,392
55	0,394
60	0,395



b. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Tabel 4.2.b Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,139
5	0,145
10	0,148
15	0,152
20	0,156
25	0,158
30	0,159
35	0,161
40	0,163
45	0,164
50	0,166
55	0,168
60	0,169

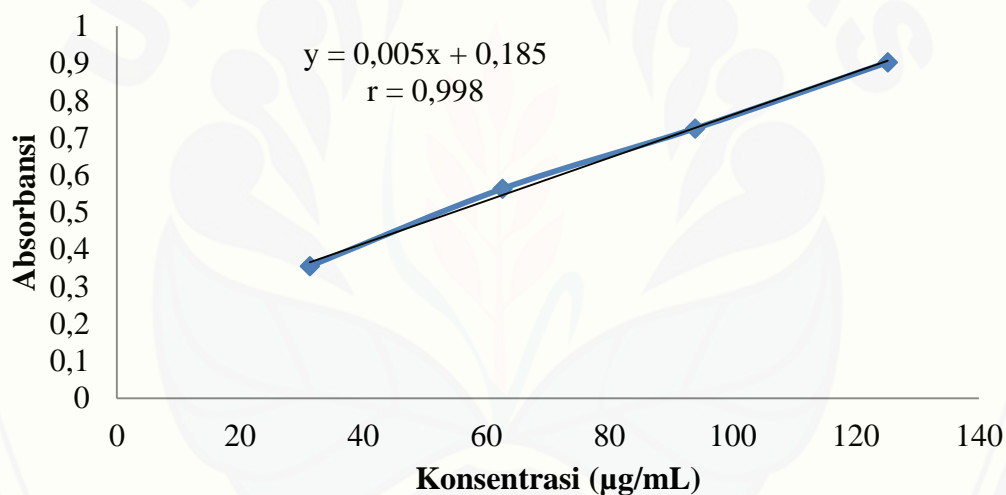


LAMPIRAN 5
DATA ANALISIS KADAR FENOL TOTAL

5.1 Hasil Analisis Larutan Standar Asam Galat

Tabel 5.1 Hasil Analisis Kadar Fenol Total Standar Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
31,3	0,355
62,6	0,563
93,9	0,725
125,2	0,903



5.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Tabel 5.2 Hasil Analisis Kadar Fenol Total Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Kadar fenol total (mg GAE/g ekstrak)	Rata-rata kadar fenol total \pm SD (mg GAE/g ekstrak)
9020	1	0,391	4,547	5,672 \pm 1,186
9030	2	0,497	6,910	
9030	3	0,436	5,559	

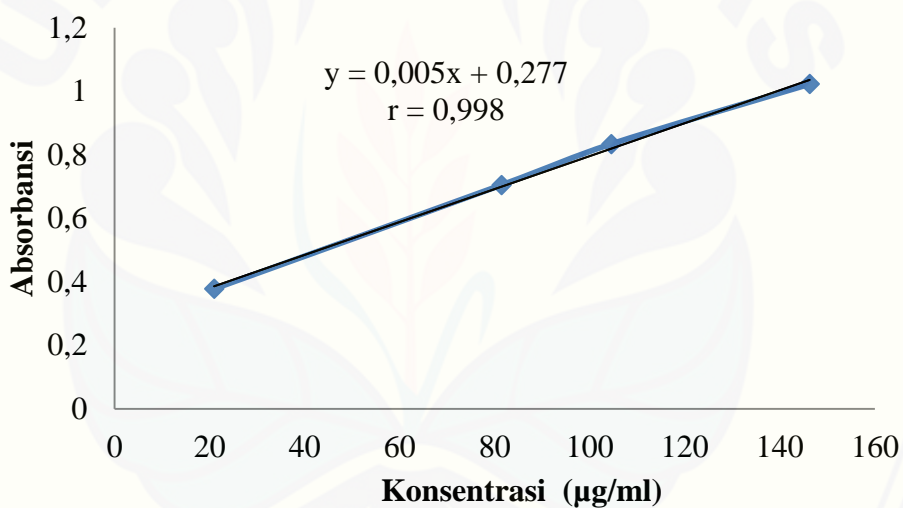
LAMPIRAN 6

DATA ANALISIS KADAR FLAVONOID

6.1 Hasil Analisis Larutan Standar Kuersetin

Tabel 6.1 Hasil Analisis Kadar Flavonoid Standar Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
20,9	0,378
81,4	0,705
104,5	0,834
146,3	1,023



6.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Tabel 6.2 Hasil Analisis Kadar Flavonoid Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg QE/g ekstrak)	Rata-rata Kadar Flavonoid \pm SD(mg QE/g ekstrak)
5030	1	0,393	4,612	4,732 \pm 0,172
	2	0,401	4,930	
	3	0,394	4,652	

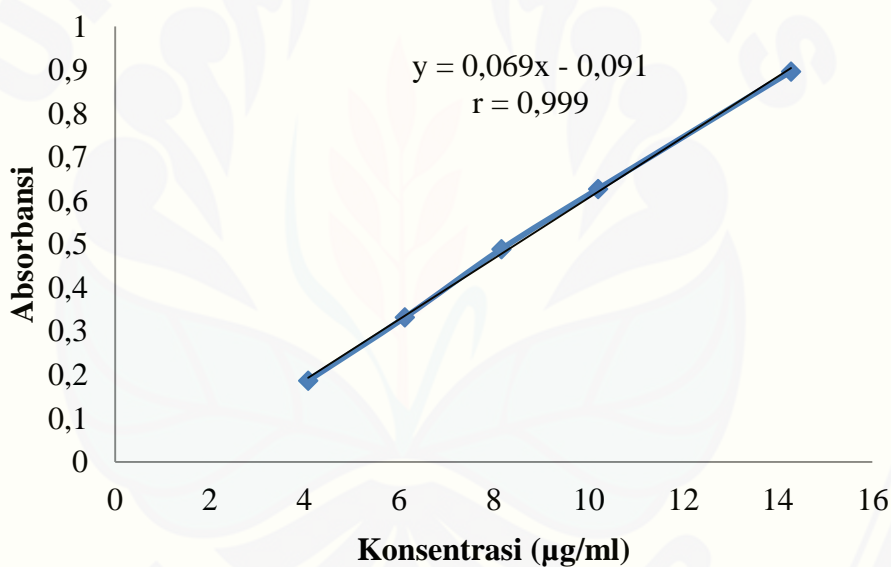
LAMPIRAN 7

DATA ANALISIS KADAR ALKALOID

7.1 Hasil Analisis Larutan Standar Berberin

Tabel 7.1 Hasil Analisis Kadar Alkaloid Standar Berberin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
4,08	0,187
6,12	0,332
8,16	0,489
10,20	0,627
14,28	0,897



7.2 Hasil Analisis Larutan Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Tabel 7.2 Hasil Analisis Kadar Alkaloid Sampel Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Kadar Alkaloid (mg BE/g ekstrak)	Rata-rata Kadar Alkaloid \pm SD (mg BE/g ekstrak)
5030	1	0,476	1,634	1,631 \pm 0,013
5020	2	0,469	1,617	
5040	3	0,480	1,642	

LAMPIRAN 8

DATA TEBAL PLANTAR, TEBAL UDEM DAN NILAI AUC

8.1 Data Tebal Plantar Mencit

Kelompok	Mencit ke-	Waktu (jam)							
		0	0,5	1	2	3	4	5	6
Kelompok Negatif (CMC-Na)	1	0,345	0,380	0,385	0,385	0,370	0,370	0,365	0,360
	2	0,400	0,450	0,380	0,375	0,375	0,365	0,350	0,340
	3	0,320	0,370	0,370	0,345	0,345	0,330	0,330	0,330
	4	0,315	0,325	0,390	0,340	0,300	0,300	0,300	0,280
	5	0,300	0,400	0,340	0,330	0,330	0,330	0,320	0,320
Kelompok positif (Na-Diklofenak)	1	0,335	0,440	0,380	0,375	0,350	0,300	0,300	0,300
	2	0,300	0,320	0,330	0,300	0,285	0,285	0,270	0,270
	3	0,400	0,450	0,365	0,320	0,320	0,315	0,300	0,300
	4	0,275	0,300	0,265	0,250	0,250	0,250	0,245	0,245
	5	0,300	0,330	0,300	0,245	0,240	0,240	0,240	0,220
Dosis 100 mg/kgBB	1	0,230	0,370	0,370	0,350	0,350	0,350	0,330	0,320
	2	0,310	0,320	0,330	0,310	0,310	0,300	0,300	0,300
	3	0,300	0,320	0,350	0,355	0,340	0,300	0,290	0,280
	4	0,270	0,360	0,365	0,365	0,350	0,350	0,340	0,340
	5	0,280	0,370	0,370	0,370	0,366	0,352	0,330	0,320
Dosis 200 mg/kgBB	1	0,320	0,340	0,300	0,300	0,295	0,280	0,280	0,280
	2	0,350	0,360	0,310	0,300	0,300	0,300	0,300	0,250
	3	0,330	0,300	0,300	0,300	0,290	0,270	0,270	0,270
	4	0,300	0,340	0,325	0,325	0,300	0,300	0,280	0,272
	5	0,340	0,360	0,345	0,345	0,340	0,320	0,320	0,315
Dosis 400 mg/kgBB	1	0,300	0,300	0,300	0,300	0,290	0,280	0,280	0,270
	2	0,290	0,300	0,300	0,280	0,280	0,270	0,260	0,240
	3	0,300	0,265	0,225	0,225	0,220	0,200	0,200	0,200
	4	0,300	0,325	0,330	0,330	0,320	0,300	0,290	0,290
	5	0,270	0,280	0,265	0,250	0,245	0,245	0,240	0,225

8.2 Data Tebal Udem Mencit

Kelompok	Mencit ke-	Waktu (jam)							
		0	0,5	1	2	3	4	5	6
Kelompok Negatif (CMC-Na)	1	0,115	0,150	0,155	0,155	0,140	0,140	0,135	0,130
	2	0,185	0,235	0,165	0,160	0,160	0,150	0,135	0,125
	3	0,120	0,170	0,170	0,145	0,145	0,130	0,130	0,130
	4	0,140	0,150	0,150	0,165	0,125	0,125	0,125	0,105
	5	0,105	0,205	0,205	0,135	0,135	0,135	0,125	0,125
Rata-rata ± SD		0,133 0,032	0,182 0,037	0,169 0,022	0,152 0,012	0,141 0,013	0,136 0,010	0,130 0,005	0,123 0,010
Kelompok positif (Na-diklofenak)	1	0,095	0,200	0,140	0,135	0,110	0,060	0,060	0,060
	2	0,086	0,106	0,116	0,086	0,071	0,071	0,056	0,056
	3	0,165	0,215	0,130	0,085	0,085	0,080	0,065	0,065
	4	0,075	0,100	0,065	0,050	0,050	0,050	0,045	0,045
	5	0,130	0,160	0,130	0,075	0,070	0,070	0,070	0,050
Rata-rata ± SD		0,110 0,037	0,156 0,053	0,116 0,030	0,086 0,031	0,077 0,022	0,066 0,011	0,059 0,010	0,055 0,008
Dosis 100 mg/kgBB	1	0,015	0,155	0,155	0,135	0,135	0,135	0,115	0,105
	2	0,110	0,120	0,130	0,110	0,110	0,100	0,100	0,100
	3	0,110	0,130	0,160	0,165	0,150	0,110	0,100	0,090
	4	0,050	0,140	0,145	0,145	0,130	0,130	0,120	0,120
	5	0,070	0,160	0,160	0,160	0,156	0,142	0,120	0,110
Rata-rata ± SD		0,071 0,041	0,141 0,017	0,150 0,013	0,143 0,022	0,136 0,018	0,123 0,018	0,111 0,010	0,105 0,011
Dosis 200 mg/kgBB	1	0,120	0,140	0,100	0,100	0,095	0,080	0,080	0,080
	2	0,170	0,180	0,130	0,120	0,120	0,120	0,120	0,070
	3	0,140	0,110	0,110	0,110	0,100	0,080	0,080	0,080
	4	0,110	0,150	0,135	0,135	0,110	0,110	0,090	0,082
	5	0,125	0,145	0,130	0,130	0,125	0,105	0,105	0,100
Rata-rata ± SD		0,133 0,023	0,145 0,025	0,121 0,015	0,119 0,014	0,110 0,013	0,099 0,018	0,095 0,017	0,082 0,011
Dosis 400 mg/kgBB	1	0,100	0,100	0,100	0,100	0,090	0,080	0,080	0,070
	2	0,110	0,120	0,120	0,100	0,100	0,090	0,080	0,060
	3	0,135	0,100	0,060	0,060	0,055	0,035	0,035	0,035
	4	0,070	0,095	0,100	0,100	0,090	0,070	0,060	0,060
	5	0,100	0,110	0,095	0,080	0,075	0,075	0,070	0,055
Rata-rata ± SD		0,103 0,023	0,105 0,010	0,095 0,022	0,088 0,018	0,082 0,018	0,070 0,021	0,065 0,019	0,056 0,013

8.3 Data Nilai AUC dan % Daya Antiinflamasi

Kelompok	Mencit ke-	AUC (mm.jam)	Rata-rata AUC \pm SD (mm.jam)	% Daya Antiinflamasi
Kelompok Negatif (CMC-Na)	1	0,858	0,873 \pm 0,044	-
	2	0,953		
	3	0,859		
	4	0,864		
	5	0,831		
Kelompok positif (Na-diklofenak)	1	0,551	0,496 \pm 0,101	43,184
	2	0,475		
	3	0,595		
	4	0,336		
	5	0,522		
Dosis 100 mg/kgBB	1	0,771	0,768 \pm 0,071	12,027
	2	0,656		
	3	0,784		
	4	0,778		
	5	0,851		
Dosis 200 mg/kgBB	1	0,571	0,662 \pm 0,006	24,170
	2	0,746		
	3	0,583		
	4	0,691		
	5	0,718		
Dosis 400 mg/kgBB	1	0,445	0,465 \pm 0,088	46,735
	2	0,578		
	3	0,332		
	4	0,490		
	5	0,482		

Contoh perhitungan tebal udem:

$$\begin{aligned}
 \text{Tebal udem} &= T_t - T_0 \\
 &= 0,345 - 0,230 \\
 &= 0,115 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

Keterangan:

T_0 = tebal plantar mencit sebelum diinduksi karagenan

T_t = tebal plantar mencit setelah diinduksi karagenan (tiap jam)

Contoh perhitungan nilai AUC:

$$\begin{aligned}
 AUC_{0-6} &= \frac{T_0+T_{0,5}}{2} (t_{0,5} - t_0) + \frac{T_{0,5}+T_1}{2} (t_1 - t_{0,5}) + \frac{T_1+T_2}{2} (t_2 - t_1) + \frac{T_2+T_3}{2} (t_3 - t_2) + \\
 &\quad \frac{T_3+T_4}{2} (t_4 - t_3) + \frac{T_4+T_5}{2} (t_5 - t_4) + \frac{T_5+T_6}{2} (t_6 - t_5) \\
 &= \frac{0,115+0,150}{2} (0,5-0) + \frac{0,150+0,155}{2} (1-0,5) + \frac{0,155+0,155}{2} (2-1) + \frac{0,155+0,140}{2} \\
 &\quad (3-2) + \frac{0,140+0,140}{2} (4-3) + \frac{0,140+0,135}{2} (5-4) + \frac{0,135+0,130}{2} (6-5) \\
 &= 0,858 \text{ mm.jam}
 \end{aligned}$$

Contoh perhitungan % daya antiinflamasi:

$$\begin{aligned}
 \% \text{ daya antiinflamasi} &= \frac{(AUC \text{ kontrol negatif}) - (AUC \text{ perlakuan})}{AUC \text{ kontrol negatif}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,873 - 0,496}{0,873} \times 100\% \\
 &= 43,184\%
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 9

ANALISIS DATA STATISTIK

9.1 Analisis *One Way* ANOVA Nilai AUC

a. Uji Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CMC-Na	.377	5	.019	.786	5	.062
Na-diklofenak	.217	5	.200 [*]	.918	5	.515
100 mg/kgBB	.317	5	.112	.890	5	.357
200 mg/kgBB	.243	5	.200 [*]	.868	5	.257
400 mg/kgBB	.209	5	.200 [*]	.957	5	.786

a. Lilliefors Significance Correction
*. This is a lower bound of the true significance.

b. Uji Homogenitas dan ANOVA

Test of Homogeneity of Variances			
AUC			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.673	4	20	.618

ANOVA					
AUC					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.608	4	.152	24.257	.000
Within Groups	.125	20	.006		
Total	.733	24			

c. Uji LSD

Post Hoc**Multiple Comparisons**

AUC
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif (CMC-Na)	Kontrol Positif (Nadiklofenak)	.377200 [*]	.050067	.000	.27276	.48164
	Dosis 100 mg/kgBB	.105000 [*]	.050067	.049	.00056	.20944
	Dosis 200 mg/kgBB	.211200 [*]	.050067	.000	.10676	.31564
	Dosis 400 mg/kgBB	.407600 [*]	.050067	.000	.30316	.51204
Kontrol Positif (Nadiklofenak)	Kontrol negatif (CMC-Na)	-.377200 [*]	.050067	.000	-.48164	-.27276
	Dosis 100 mg/kgBB	-.272200 [*]	.050067	.000	-.37664	-.16776
	Dosis 200 mg/kgBB	-.166000 [*]	.050067	.003	-.27044	-.06156
	Dosis 400 mg/kgBB	.030400	.050067	.551	-.07404	.13484
Dosis 100 mg/kgBB	Kontrol negatif (CMC-Na)	-.105000 [*]	.050067	.049	-.20944	-.00056
	Kontrol Positif (Nadiklofenak)	.272200 [*]	.050067	.000	.16776	.37664
	Dosis 200 mg/kgBB	.106200 [*]	.050067	.047	.00176	.21064
	Dosis 400 mg/kgBB	.302600 [*]	.050067	.000	.19816	.40704
Dosis 200 mg/kgBB	Kontrol negatif (CMC-Na)	-.211200 [*]	.050067	.000	-.31564	-.10676
	Kontrol Positif (Nadiklofenak)	.166000 [*]	.050067	.003	.06156	.27044
	Dosis 100 mg/kgBB	-.106200 [*]	.050067	.047	-.21064	-.00176
	Dosis 400 mg/kgBB	.196400 [*]	.050067	.001	.09196	.30084
Dosis 400 mg/kgBB	Kontrol negatif (CMC-Na)	-.407600 [*]	.050067	.000	-.51204	-.30316
	Kontrol Positif (Nadiklofenak)	-.030400	.050067	.551	-.13484	.07404
	Dosis 100 mg/kgBB	-.302600 [*]	.050067	.000	-.40704	-.19816
	Dosis 200 mg/kgBB	-.196400 [*]	.050067	.001	-.30084	-.09196

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

LAMPIRAN 10
DOKUMENTASI



Tumbuhan Tepung Otot



Ekstrak Etanol 96% Tepung Otot



Pengukuran Tebal Plantar Mencit

LAMPIRAN 11

HASIL DETERMINASI

11.1 Hasil Determinasi Tepung Otot (*Stellaria media* (L.) Vill)



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 1155/IPH.06/HM/IX/2017

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

Nama : Masuliyatul Hukmiah
NIM : 142210101070
Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 18 September 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Caryophyllidae
Ordo : Caryophyllales
Family : Caryophyllaceae
Genus : *Stellaria*
Species no.1 : *Stellaria vestita* Kurz
Species no.2 : *Stellaria media* (L.) Vill

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.III. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 644
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIV
3. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1968. Flora of Java Vol.III. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 201

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 25 September 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



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