



**EFEKTIVITAS CUKA APEL BAWANG DAYAK
ANTOSIANIN[®] TERHADAP PERUBAHAN VOLUME EDEMA
KAKI MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

Oleh

**Izza Mumtazati
NIM 152010101085**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EFEKTIVITAS CUKA APEL BAWANG DAYAK
ANTOSIANIN[®] TERHADAP PERUBAHAN VOLUME EDEMA
KAKI MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

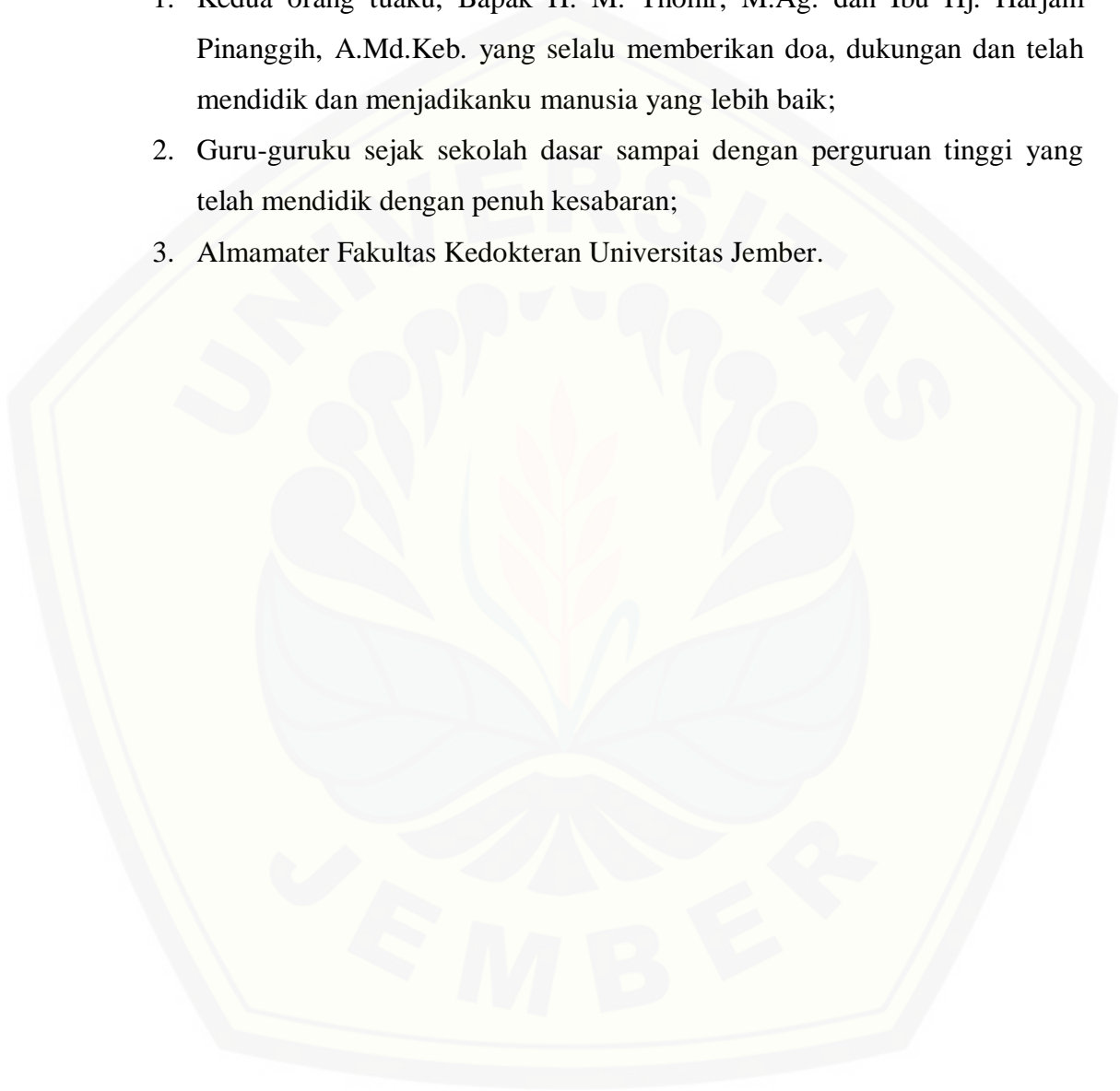
Izza Mumtazati
NIM 152010101085

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak H. M. Thohir, M.Ag. dan Ibu Hj. Harjani Pinanggih, A.Md.Keb. yang selalu memberikan doa, dukungan dan telah mendidik dan menjadikanku manusia yang lebih baik;
2. Guru-guruku sejak sekolah dasar sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

Dan barangsiapa yang memelihara kehidupan seorang manusia, maka seolah-olah dia telah memelihara kehidupan manusia semuanya.

(terjemahan Surat *Al-Maaidah* ayat 32)^{*)}



^{*)}Al-Quran Terjemahan. 2015. *Departemen Agama RI*. Bandung: CV Darus Sunnah.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Izza Mumtazati

NIM : 152010101085

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terhadap Perubahan Volume Edema Kaki Mencit yang Diinduksi Karagenin” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Januari 2019

Yang menyatakan,

Izza Mumtazati
NIM 152010101085

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS CUKA APEL BAWANG DAYAK
ANTOSIANIN[®] TERHADAP PERUBAHAN VOLUME EDEMA
KAKI MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN**

Oleh
Izza Mumtazati
NIM 152010101085

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si.
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rena Normasari, M.Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® terhadap Perubahan Volume Edema Kaki Mencit yang Diinduksi Karagenin” karya Izza Mumtazati telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 11 Januari 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Cicih Komariah, Sp.M
NIP 19740928200502001

Penguji III,

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si.
NIP 19840916 200801 2 003

Penguji II,

dr. Adelia Handoko, M.Si
NIP 198901072014042001

Penguji IV,

dr. Rena Normasari, M.Biomed.
NIP 19830512 200812 2 002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA
NIP 197304241999031002

RINGKASAN

Efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terhadap Perubahan Volume Edema Kaki Mencit yang Diinduksi Karagenin; Izza Mumtazati, 152010101085; 2018; 92 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Inflamasi merupakan gejala penyakit sering dialami oleh masyarakat. Salah satunya tanda makroskopis inflamasi adalah edema (tumor). Rata-rata angka kejadian edema di Indonesia cukup tinggi yaitu mencapai 32,2%, dengan Jawa Barat sebagai provinsi dengan prevalensi tertinggi yaitu 41,7%.

Obat antiinflamasi yang sering digunakan masyarakat selama ini adalah OAINS (Obat Anti Inflamasi Non Steroid). Berdasarkan data, penggunaan OAINS memiliki beberapa efek samping seperti iritasi permukaan membran mukosa saluran cerna, ulserasi, perforasi dan perdarahan terbuka pada saluran pencernaan atas, striktur pada diafragma serta dinding lambung menjadi lebih rentan terhadap asam lambung. Prevalensi kejadian akibat efek samping OAINS di Indonesia mencapai 15%- 30%.

Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] merupakan minuman fermentasi yang terbuat dari cuka apel yang dicampur dengan air gerusan bawang dayak. Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terdiri atas cuka apel yang mengandung quercetin dan bawang dayak yang mengandung antosianin. Quercetin dapat menghambat metabolisme asam arakhidonat sehingga menghambat produksi eikosanoid, yang merupakan mediator inflamasi yang poten. Antosianin menghambat enzim siklooksigenase-2 sehingga apabila kedua zat ini digabungkan dapat menghambat edema yang disebabkan oleh inflamasi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian *pre test* dan *post test*, yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] dalam menghambat kenaikan volume edema yang dilihat dari perubahan volume edema telapak kaki mencit yang diinduksi karagenin. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jumlah

sampel yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) yang terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok Kontrol Negatif ($K_{(-)}$), Kontrol Positif ($K_{(+)}$), Kelompok Perlakuan 1 ($K_{(1)}$), Kelompok Perlakuan 2 ($K_{(2)}$), Kelompok Perlakuan 3 ($K_{(3)}$). Kelompok $K_{(-)}$ diberikan NaCMC 1%, Kelompok $K_{(+)}$ diberikan natrium diklofenak dengan dosis 0,13 mg, dan kelompok perlakuan $K_{(1)}$, $K_{(2)}$, $K_{(3)}$, diberikan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] dengan konsentrasi 0.069, 0.130, dan 0.230 M secara peroral 30 menit sebelum injeksi 0,05 mL karagenin 1% pada telapak kaki mencit. Pengukuran volume dilakukan pada sebelum injeksi karagenin, sesaat setelah injeksi karagenin, satu jam, dua jam, dan tiga jam setelah injeksi karagenin menggunakan alat pletismometer digital.

Data yang didapat berupa presentase daya penghambatan volume edema dan volume, dan rata-rata edema dalam satuan mL. Nilai presentase daya penghambatan volume edema tiap kelompok adalah $K_{(+)}$ 57%; $K_{(1)}$ 11%; $K_{(2)}$ 28%; $K_{(3)}$ 41%. Hasil pengukuran rata-rata volume edema pada jam ketiga setelah injeksi karagenin pada kelompok Kontrol Negatif ($K_{(-)}$), Kontrol Positif ($K_{(+)}$), Kelompok Perlakuan 1 ($K_{(1)}$), Kelompok Perlakuan 2 ($K_{(2)}$), Kelompok Perlakuan 3 ($K_{(3)}$) berturut-turut adalah 0,37; 0,24; 0,34; 0,33; 0,30 mL. Hasil pengukuran volume edema diuji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*. Hasil uji tersebut didapatkan data terdistribusi tidak normal dan tidak homogen, sehingga tidak memenuhi syarat uji *One Way Anova*. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,005 ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan volume edema pada minimal 2 kelompok perlakuan. Analisis data dilanjutkan dengan *Post Hoc Man-Whitney* didapatkan perbedaan volume edema antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif, kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 3, dan kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 3 yang mempunyai nilai signifikansi sebesar 0,008; 0,009; 0,008; 0,009 ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] memiliki efektivitas dalam menghambat kenaikan volume edema telapak kaki mencit yang diinduksi karagenin.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terhadap Perubahan Volume Edema Kaki Mencit yang Diinduksi Karagenin”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

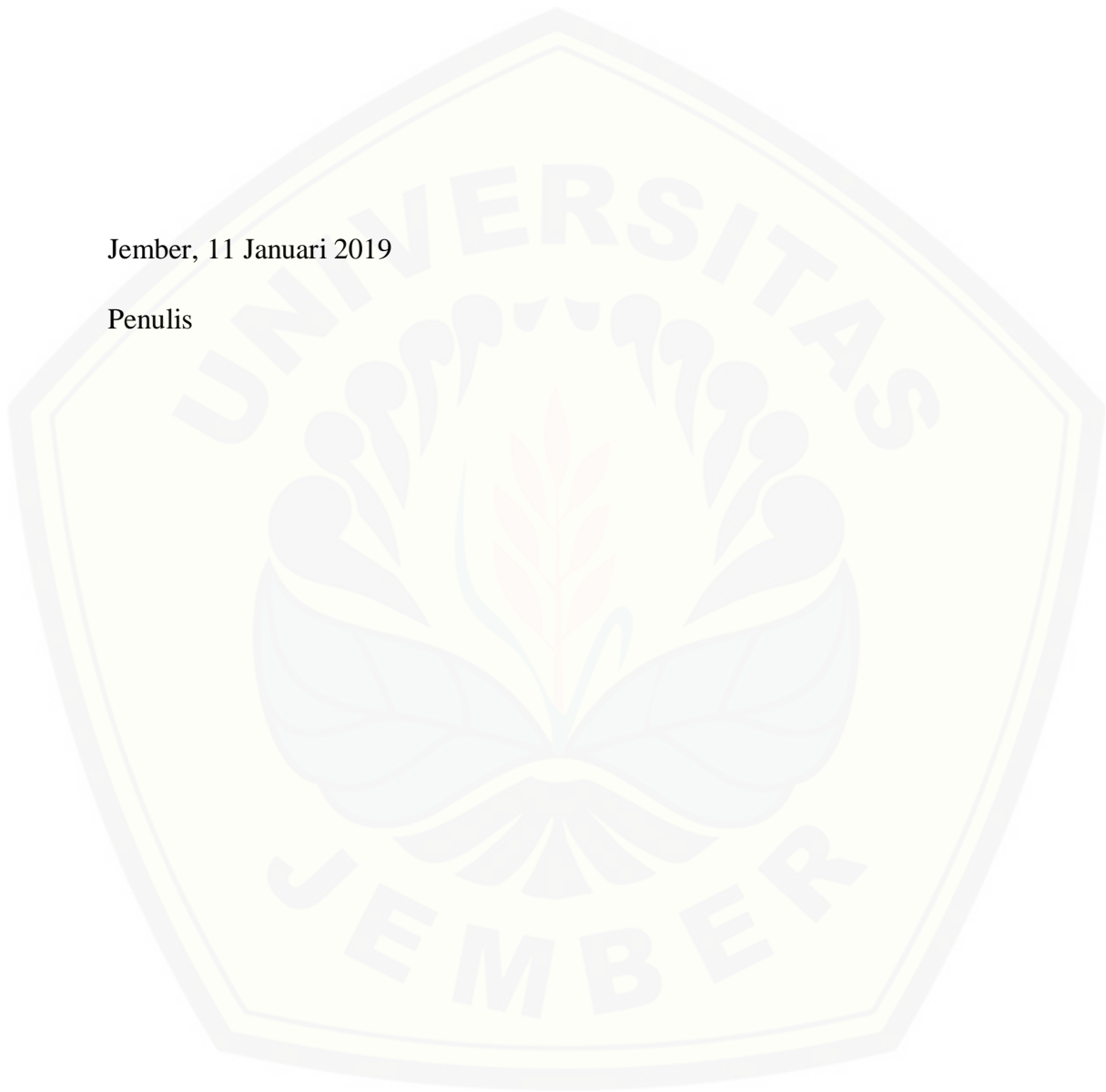
1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Rena Normasari, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Anggota yang selalu membimbing dan memberi saran yang membangun terhadap penulisan skripsi ini;
4. dr. Cicih Komariah, Sp.M dan dr. Adelia Handoko, M.Si sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak H. M. Thohir, M.Ag dan Ibu Hj. Harjani Pinanggih, A.Md.Keb, orang tuaku yang tercinta dan saya banggakan terimakasih atas semua bantuan moril dan materiil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
6. Naili Mumtazati, saudaraku yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
7. Pak Agus selaku Analis Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dalam penulisan ini;
8. Teman-teman angkatan 2015 yang telah berjuang bersama-sama menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;

9. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 11 Januari 2019

Penulis



DAFTAR ISI

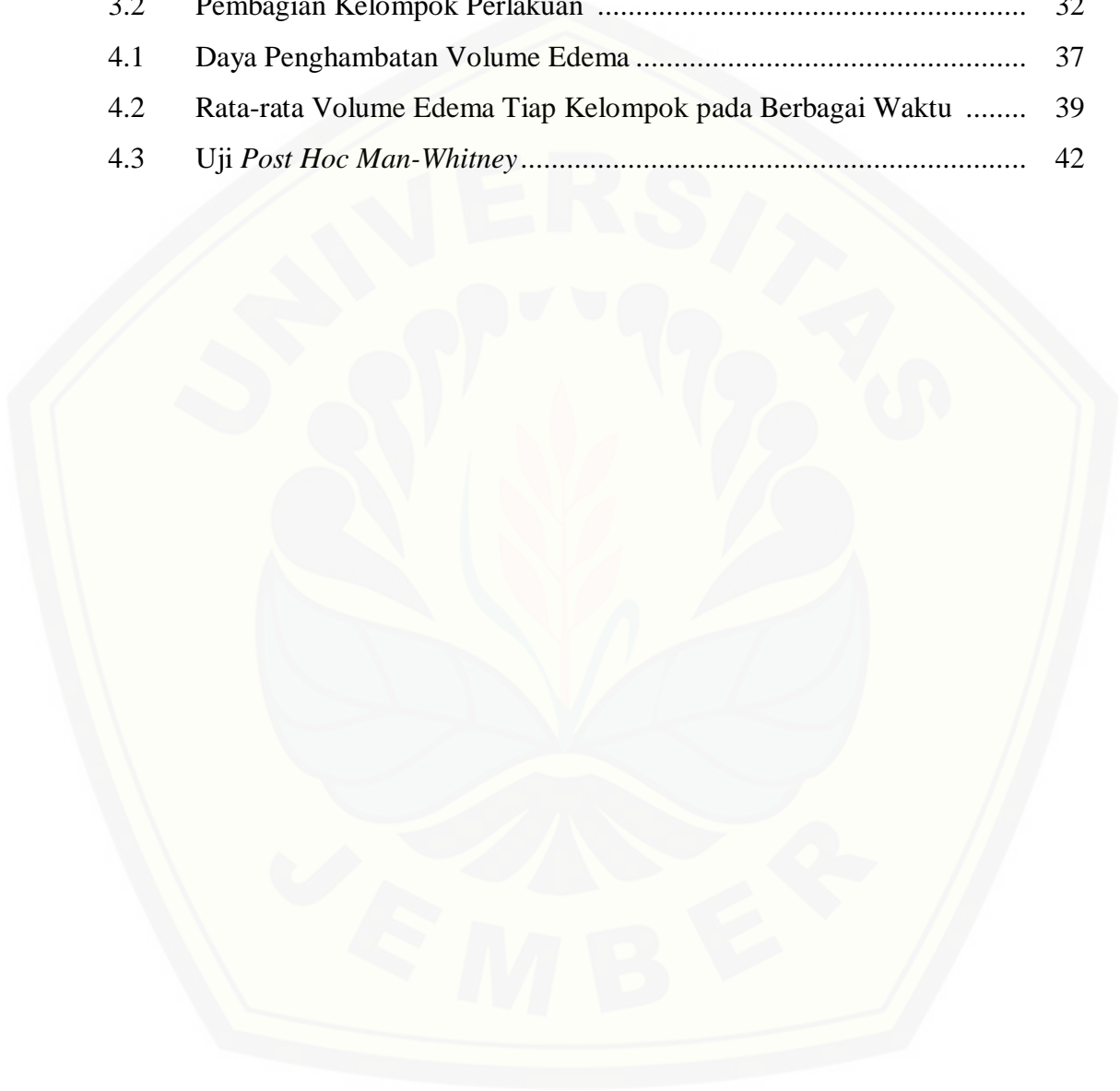
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Edema	4
2.2 Karagenin	6
2.3 Anti Inflamasi	8
2.4 Natrium Diklofenak	9
2.4.1 Farmakokinetik dan Farmakodinamik	
Natrium Diklofenak	10
2.4.2 Indikasi, Kontraindikasi dan Efek	
Samping Natrium Diklofenak	11

2.5	Cuka Apel	12
2.5.1	Apel	12
2.5.2	Kandungan Buah Apel	14
2.5.3	Kandungan Cuka Apel	15
2.5.4	Proses Pembuatan Cuka Apel	16
2.6	Bawang Dayak	19
2.6.1	Kandungan Kimia	20
2.6.2	Efek Bawang Dayak terhadap Edema	22
2.7	Metode Pembuatan Edema	23
2.8	Kerangka Konsep	24
2.9	Hipotesis	25
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1	Jenis Penelitian	26
3.2	Rancangan Penelitian	26
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.4	Populasi dan Sampel	27
3.5	Variabel	28
3.5.1	Variabel Bebas	28
3.5.2	Variabel Terikat	28
3.5.3	Variabel Terkendali	28
3.6	Definisi Operasional Variabel	28
3.7	Alat dan Bahan	31
3.7.1	Alat	31
3.7.2	Bahan	31
3.8	Prosedur Penelitian	31
3.8.1	Uji Kelayakan Etik	31
3.8.2	Adaptasi Hewan Coba	32
3.8.3	Pemilihan Hewan Coba	32
3.8.4	Penentuan Dosis	32
3.8.5	Pembagian Kelompok Perlakuan	33
3.8.6	Persiapan	33

3.8.7	Perlakuan pada Kelompok Sampel	34
3.8.8	Penghitungan % Daya Penghambatan Edema	35
3.9	Analisis Data	36
3.10	Alur Penelitian	37
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1	Hasil Penelitian	38
4.2	Analisis Data	41
4.2	Pembahasan	43
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1	Kesimpulan	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Definisi Operasional Variabel	27
3.2 Pembagian Kelompok Perlakuan	32
4.1 Daya Penghambatan Volume Edema	37
4.2 Rata-rata Volume Edema Tiap Kelompok pada Berbagai Waktu	39
4.3 Uji <i>Post Hoc</i> <i>Man-Whitney</i>	42



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Reaksi pembuluh darah pada inflamasi akut	5
2.2 Injeksi subplantar pada mencit	7
2.3 Skema mekanisme kerja natrium diklofenak	10
2.4 Buah apel	13
2.5 Mekanisme penghambatan inflamasi oleh quercetin	16
2.6 Fermentasi alkohol	17
2.7 Fermentasi asam asetat	17
2.8 Proses pembuatan cuka apel	18
2.9 Bawang dayak	20
2.10 Kerangka konsep	24
3.1 Skema rancangan penelitian	26
3.2 Pletismometer digital	35
3.3 Skema dan alur penelitian	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Etik Penelitian	55
3.2 Rekomendasi Bebas Plagiasi	57
3.3 Tabel Dosis Konversi	58
3.4 Protokol Sonde	59
3.5 Protokol Injeksi Karagenin	60
3.6 Protokol Penggunaan Pletismometer	61
4.1 Hasil Pengukuran Volume Edema	63
4.2 Hasil Analisis Statistik	65
4.3 Dokumentasi Penelitian	75

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan indikator penting dari beberapa insiden penyakit. Gejala inflamasi akut meliputi edema (tumor), nyeri (dolor), panas (kalor), kemerahan (rubor), dan hilangnya fungsi (function laesa) (Dorland, 2014). Menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 dengan responden berusia ≥ 15 tahun dengan jumlah 677.888 orang yang tersebar pada 33 provinsi, rata-rata prevalensi keluhan bengkak (edema) yang membuat masyarakat Indonesia datang ke dokter cukup tinggi, yaitu mencapai 32,2% dari keseluruhan responden. Angka yang tertinggi yaitu pada provinsi Jawa Barat yang mencapai 41,7% dari responden (Nainggolan, 2009). Jumlah tersebut diperkirakan terus meningkat setiap tahunnya (Arthritis Foundation, 2006).

Masyarakat menggunakan obat golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) maupun Anti Inflamasi Steroid (AIS) untuk mengatasi gejala inflamasi (Gunawan, 2009). Obat Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dilaporkan dapat mengiritasi permukaan membran mukosa saluran cerna, ulserasi, perforasi dan perdarahan terbuka pada saluran pencernaan atas, serta striktur pada diafragma. Pemakaian AINS juga dapat menyebabkan dinding lambung lebih rentan terhadap asam lambung walaupun pada kondisi normal (Rarangnu, 2013). Di Indonesia, prevalensi penyakit yang berkaitan dengan kerusakan mukosa lambung akibat efek samping penggunaan AINS cukup tinggi sekitar 15% - 30% (Schellack, 2012).

Efek samping OAINS membuat masyarakat beralih ke bahan alam. Penggunaan bahan alam saat ini merupakan salah satu pilihan terapi yang banyak digunakan di masyarakat. Penelitian terdahulu menyebutkan masyarakat menggunakan tanaman yang telah terbukti secara ilmiah memiliki khasiat sebagai anti inflamasi, yaitu daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfr.) Boerl.), rimpang kencur (*Kaempferiae galanga* L.), daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lamk.), kelopak bunga rosela merah (*Hisbiscus sabdariffa*), serta bunga dan daun asam jawa (*Tamarindus indica*) mempunyai kandungan flavonoid yang

bekerja melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (Khotimah, 2017).

Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] yang merupakan gabungan antara cuka apel dan air gerusan bawang dayak, terdiri atas cuka apel yang mengandung flavonoid golongan quercetin, sedangkan bawang dayak mengandung antosianin. Penelitian terdahulu yang meneliti tentang cuka apel sebagai anti inflamasi terbukti bahwa cuka apel yang diberikan dapat menghambat lesi aterosklerotik yang berkaitan dengan inflamasi (Setorki *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Hidayat (2016) menunjukkan bahwa umbi bawang dayak dapat menurunkan volume dan ketebalan edema pada kaki tikus putih yang diinduksi dengan karagenin 2%. Flavonoid yang terdapat pada cuka apel dijelaskan dalam penelitian Lafuente (2009) bahwa jika flavonoid masuk ke dalam tubuh akan memiliki kemampuan untuk memodulasi inflamasi sel. Quercetin dapat menghambat metabolisme asam arakhidonat dan menghambat produksi eikosanoid, yang merupakan mediator edema yang poten (Lesjak *et al.*, 2018). Antosianin yang terdapat dalam bawang dayak memiliki manfaat sebagai anti edema dengan jalan menghambat enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) sehingga dapat mengatasi edema (Hassimotto *et al.*, 2013).

Kandungan antosianin dan quercetin yang tinggi dari bawang dayak dan cuka apel akan menghasilkan kombinasi yang efektif dalam menghambat kenaikan volume edema kaki mencit yang diinduksi karagenin. Dari latar belakang di atas, maka peneliti akan melakukan penelitian tentang Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] yang dapat menghambat kenaikan volume edema kaki mencit yang diinduksi karagenin.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini, yaitu apakah Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] efektif menghambat kenaikan volume edema kaki mencit yang diinjeksi karagenin?

1.3 Tujuan

Untuk mengetahui apakah Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] efektif menghambat kenaikan volume edema kaki mencit yang diinduksi karagenin.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat diambil manfaatnya, antara lain:

a. Teori

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai landasan teoritis dan dapat menjadi acuan dasar untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang efektifitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terhadap penghambatan kenaikan volume edema kaki mencit yang diinduksi karagenin.

b. Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi masukan kepada masyarakat mengenai efektifitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] sebagai zat yang dapat menghambat kenaikan volume edema.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Edema

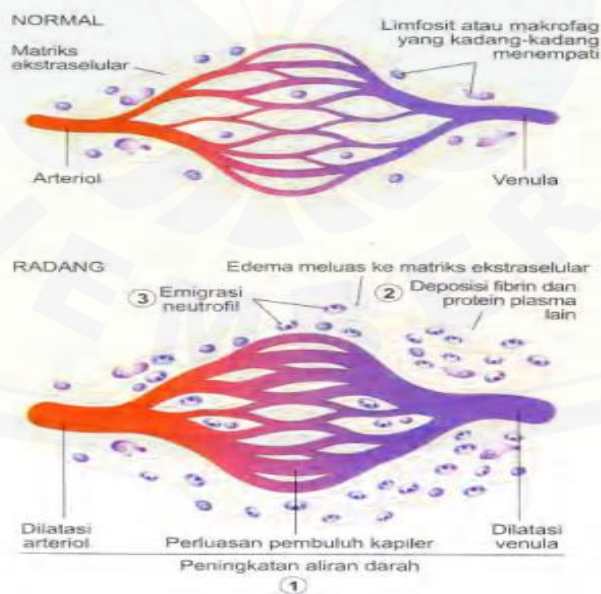
Edema merupakan akumulasi cairan ekstrasvaskular berupa eksudat atau transudat. Edema merupakan satu-satunya tanda makroskopis dari kelima tanda kardinal inflamasi (Stankov, 2012). Proses inflamasi bermanifestasi panas (kalor), warna kemerahan (rubor), bengkak atau edema (tumor), nyeri (dolor), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*). Inflamasi terjadi bila sel-sel atau jaringan mengalami cedera atau kematian dan jaringan sekitarnya membuat suatu respon. Respon inflamasi berupa reaksi pembuluh darah yang mengirimkan cairan, zat-zat yang terlarut, dan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan-jaringan intersitial di daerah cedera atau nekrosis (Price & Wilson, 2006). Keempat tanda kardinal inflamasi yang pertama tersebut diakibatkan oleh perubahan permeabilitas vaskuler dan pengumpulan serta pengaktifan leukosit (Kumar *et al.*, 2015).

Proses inflamasi yang merupakan proses kerusakan sel akan menyebabkan phospholipid yang berada pada membran sel rusak. Asam arakhidonat dilepaskan dari phospholipid melalui kerja enzim fosfolipase. Enzim ini diaktifkan oleh rangsangan mekanik, kimia atau fisis, atau mediator inflamasi. Metabolisme asam arakhidonat terjadi melalui jalur siklooksigenase (COX) dan lipoxygenase (LO) (Smith & Murphy, 2015). Siklooksigenase memproduksi prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan, sedangkan jalur lipooksigenase untuk memproduksi leukotriene dan lipoksin. Zat-zat metabolit asam arakhidonat tersebut memiliki efek vaskular dan kemotaktik pada inflamasi dan beberapa diantaranya berperan penting dalam hemostasis (Price & Wilson, 2006). Prostaglandin berefek pada vasodilatasi dan penghambatan agregasi trombosit. Tromboksan menyebabkan vasokonstriksi dan memicu agregasi trombosit. Jalur LOX (Lipooksigenase) menghasilkan zat leukotrin, yang berfungsi meningkatkan permeabilitas vaskuler, kemotaksis dan perlekatan leukosit (Kumar *et al.*, 2015).

Proses inflamasi mengakibatkan perubahan vaskuler berupa vasodilatasi dan perubahan pada dinding pembuluh darah sehingga menyebabkan protein plasma keluar dari pembuluh darah. Pengaktifan sel endotel sehingga menyebabkan

perlekatan leukosit meningkat dan perpindahan leukosit melalui dinding pembuluh. Perpindahan leukosit keluar dari sirkulasi dan berkumpul di tempat cedera (pengumpulan sel), diikuti oleh pengaktifan leukosit yang berguna untuk menghilangkan agen yang merugikan (Kumar *et al.*, 2015).

Vasodilatasi mengakibatkan peningkatan aliran darah dan penyumbatan lokal (hiperemia) pada aliran darah kapiler selanjutnya, sehingga timbul warna merah (eritema) dan panas (kalor) pada daerah inflamasi. Vasodilatasi arterioli dan peningkatan aliran darah juga mengakibatkan kenaikan tekanan hidrostatik intravaskuler dan pergerakan cairan dari kapiler. Cairan dapat berupa transudat yaitu ultrafiltrat plasma darah dan sedikit mengandung protein. Permeabilitas vaskuler yang terus meningkat mengakibatkan pergerakan cairan kaya protein (eksudat) ke intersitium. Hilangnya cairan kaya protein ke dalam ruang perivaskular mengakibatkan turunnya tekanan osmotik intravaskular dan meningkatkan tekanan osmotik cairan intersitium. Akumulasi cairan ke dalam jaringan ekstrasvaskular ini disebut edema (Kumar *et al.*, 2015). Proses ini dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.1 Reaksi pembuluh darah pada inflamasi akut; gambaran pembuluh darah pada inflamasi akut dibandingkan dengan keadaan normal (Sumber: Kumar *et al.*, 2015)

Permeabilitas vaskuler yang meningkat disebabkan oleh kontraksi sel endotel sehingga menimbulkan celah interseluler. Kontraksi sel endotel ini merupakan suatu proses *reversibel* yang dihasilkan oleh histamin, bradikinin, leukotrien dan mediator inflamasi lainnya. Mediator sitokin (yaitu *tumor necrosis factor* (TNF) dan interleukin 1 (IL-1) menyebabkan perubahan pada sitoskeleton endotel sehingga sel yang berikatan satu sama lain menjadi terganggu. Leukosit yang berkumpul di sepanjang pembuluh darah dapat melepaskan spesies oksigen toksik dan enzim proteolitik, yang menyebabkan cedera atau lepasnya endotel (Kumar *et al.*, 2015).

Proses inflamasi melibatkan sitokin, yaitu produk polipeptida sel yang berperan untuk mediator edema dan respon imun. Sitokin yang berperan dalam respon primer adalah TNF dan IL-1 yang bertugas menginduksi aktivasi endotel, menyekresi sitokin dan faktor pertumbuhan tambahan, memproduksi eikosanoid dan nitrit oksida (NO), serta meningkatkan trombogenesis endotel. Kedua sitokin ini juga mengaktivasi fibroblas jaringan, menyebabkan peningkatan proliferasi dan produksi matriks ekstraselular (Kumar *et al.*, 2015).

2.2 Karagenin

Karagenin adalah polisakarida alami yang diperoleh dari rumput laut merah, *Chondrus crispus*, yang digunakan dalam berbagai aplikasi komersial seperti pembentuk gel, bahan pengental, dan zat penstabil, terutama dalam produk makanan dan saus. Karagenin juga digunakan dalam berbagai penelitian kesehatan, bahan kosmetik, dan aplikasi industri (Necas & Bartosikova, 2013).

Edema kaki mencit yang diinduksi karagenin biasanya digunakan pada penelitian untuk mengetahui aktivitas anti-inflamasi tanpa membuat kerusakan jaringan pada telapak kaki yang diinduksi (Sini *et al.*, 2010). Karagenin yang digunakan adalah karagenin dengan konsentrasi 1-3% yang dilarutkan dalam aquadest, dengan dosis 50-150 μL (Estakhr *et al.*, 2011). Penggunaan karagenin dengan konsentrasi yang lebih tinggi digunakan untuk kondisi patofisiologi yang spesifik (Silva *et al.*, 2010). Penginjeksian karagenin dilakukan pada daerah metatarsal pada kaki belakang mencit dan arah jarum mengarah ke daerah tarsal

sejauh 3-4 mm (Fehrenbacher *et al.*, 2012). Penginjeksian karagenin secara subplantar dapat dilihat pada Gambar 2.2. berikut.



Gambar 2.2 Injeksi subplantar pada mencit (Sumber: Fehrenbacher *et al.*, 2012)

Karagenin yang diinjeksikan pada kaki mencit akan melepaskan histamine, serotonin, bradikinin pada fase awal dan melepaskan prostaglandin pada fase akhir (Necas & Bartosikova, 2013). Fase awal terjadi sesaat setelah injeksi sampai 1 jam setelah injeksi karagenin. Fase akhir terjadi 1 sampai 3 jam setelah injeksi karagenin. Edema maksimal terjadi saat jam ketiga setelah injeksi karagenin, kemudian volume edema mulai berangsur-angsur turun (Suleyman, 2004). Waktu pemberian karagenin disesuaikan dengan onset kerja natrium diklofenak dan bahan yang diuji. Onset kerja natrium diklofenak yaitu 1,5 jam dan karagenin melepaskan prostaglandin saat 1 jam sampai 3 jam setelah injeksi sehingga karagenin diinjeksikan 30 menit setelah pemberian natrium diklofenak, Na CMC, dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] (Kim, 2009), (Suleyman, 2004).

Pembentukan edema yang disebabkan oleh injeksi karagenin bersifat bifasik (memiliki dua fase edema yaitu fase awal dan fase akhir), serta dipengaruhi oleh umur dan berat badan mencit. Edema fase awal yang ditandai dengan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin tidak dapat dihambat oleh

OAINS. Edema fase akhir dapat dihambat oleh OAINS karena pada fase ini dilepaskan prostaglandin pada telapak kaki mencit (Necas & Bartosikova, 2013).

Karagenin menginduksi inflamasi dengan meningkatkan ekspresi COX-2 sehingga dapat meningkatkan produksi prostaglandin dan sitokin inflamasi (Chao *et al.*, 2009). Sitokin tersebut diantaranya adalah *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang berperan sebagai penginduksi respon imun bawaan dengan cara mengaktifkan sel T dan makrofag, serta merangsang sekresi sitokin inflamasi lainnya. Pada induksi edema dengan karagenin, TNF- α melepaskan kinin dan leukotrien, yang memiliki peran penting dalam pemeliharaan respon nosiseptif yang lama (Beutler & Cerami, 1989). TNF- α menyebabkan perubahan pada kapiler pembuluh darah dengan cara mengaktivasi dan mengumpulkan leukosit dan eksudasi pada tempat terjadinya inflamasi (Vyas, 2010).

Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa inflamasi yang disebabkan oleh karagenin, berkaitan dengan infiltrasi neutrofil dan produksi mediator-mediator turunan neutrofil seperti superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida (Chao *et al.*, 2009). Radikal bebas, prostaglandin dan nitrit oksida dilepaskan pada jam pertama sampai jam keenam setelah penginjeksian karagenin (Dudhgaonkar *et al.*, 2006). Nitrit oksida berperan penting dalam proses inflamasi yaitu sebagai vasodilator kuat pada otot polos pembuluh darah. Karagenin juga diketahui dapat menyebabkan penumpukan malondialdehid (MDA) (Bilici *et al.*, 2002).

2.3 Anti Inflamasi

Obat anti inflamasi dibagi menjadi dua berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu obat anti inflamasi non steroid (OAINS) dan obat anti inflamasi steroid (OAIS). OAINS bekerja dengan menghambat Cyclooxygenase-1 (COX-1) dan Cyclooxygenase-2 (COX-2). COX-1 diproduksi saat terjadi peradangan dan terdapat pada jaringan normal, misalnya di ginjal untuk menjaga keseimbangan cairan dan keseimbangan elektrolit, serta berfungsi untuk perlindungan saluran cerna. COX-2 dipicu oleh rangsangan peradangan dan tidak didapatkan pada jaringan normal, sehingga apabila enzim ini dihambat akan mencegah efek merugikan radang tetapi tidak akan menghambat efek prostaglandin yang berfungsi

untuk melindungi jaringan sekitar. Penghambatan COX-2 dapat menimbulkan efek samping yaitu peningkatan resiko terjadinya gangguan serebrovaskuler dan kardiovaskuler. Efek samping ini muncul karena pembentukan prostasiklin (PGI₂) dalam endotel terganggu sehingga memudahkan agregasi trombosit (Kumar *et al.*, 2015).

OAIS menghambat enzim fosfolifase A₂ sehingga menghambat pembentukan prostaglandin maupun leukotrien. OAIS mengurangi konsentrasi, distribusi, fungsi leukosit perifer, menekan sitokin dan kemokin, serta mediator peradangan lainnya. Obat ini juga menghambat fungsi makrofag jaringan dan kemampuan sel untuk berespon terhadap antigen dan mitogen. Efek pada makrofag adalah membatasi makrofag untuk memfagosit dan mematikan mikroorganisme serta menghasilkan *tumor necrosis factor- α* , interleukin-1, metaloproteinase dan aktivator plasminogen. OAIS mengakibatkan makrofag dan limfosit akan lebih sedikit menghasilkan interleukin-12 dan interferon- γ , yang merupakan penginduksi penting imunitas seluler (Katzung *et al.*, 2015).

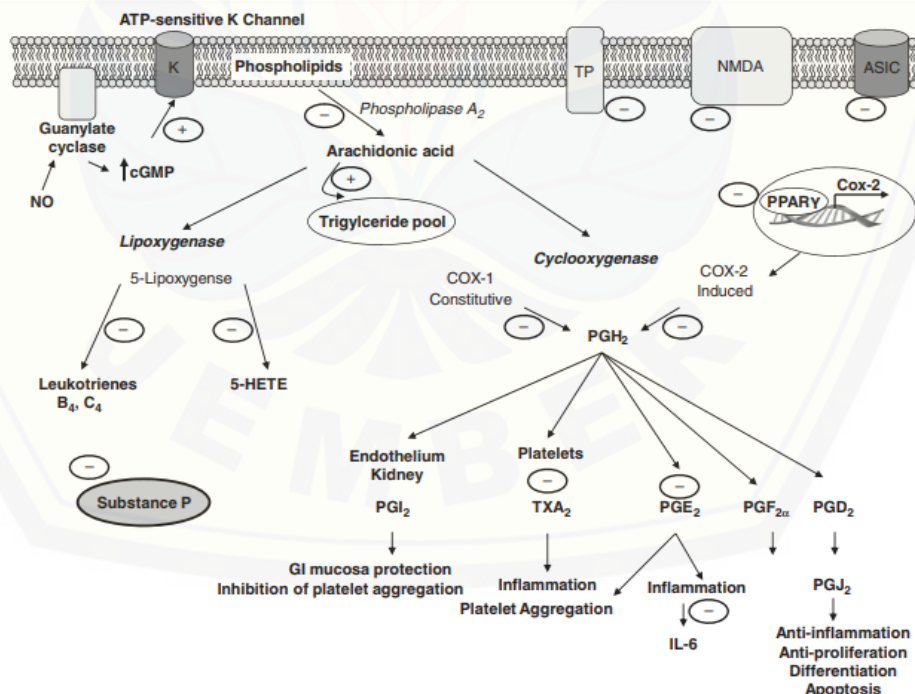
OAINS banyak digunakan untuk sebagai analgesik untuk meredakan nyeri dan nyeri ringan, sebagai antipiretik untuk mengurangi demam, dan sebagai obat anti-edema. OAINS bekerja dengan menghambat prostaglandin (Felson, 2016). Mekanisme kerja OAINS adalah menghambat sintesis prostaglandin dengan cara menghambat siklooksigenase (Ricciotti & Fitzgerald, 2011). Prostaglandin berfungsi dalam proses fisiologis dalam organ di seluruh tubuh, sehingga OAINS memiliki beberapa efek samping. Misalnya, prostaglandin berperan dalam mencegah ulserasi di mukosa lambung, dan mempertahankan perfusi ginjal dan gastromukosal sehingga NSAID dapat meningkatkan risiko ulkus lambung (Felson, 2016).

2.4 Natrium Diklofenak

2.4.1 Farmakodinamik dan Farmakokinetik Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan turunan asam fenilasetat yang relatif tidak selektif menghambat COX (Katzung *et al.*, 2015). Natrium diklofenak diabsorpsi melalui saluran gastrointestinal berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat

pada 99% protein plasma dan mengalami metabolisme lintas pertama sebesar 40-50% dan waktu paruh yang singkat yakni 1-3 jam. Onset kerja Natrium Diklofenak yaitu 1,5 sampai 2 jam (Kim, 2009). Natrium diklofenak merupakan OAINS (Obat Antiinflamasi Non Steroid) yang bersifat non selektif dimana terjadi penghambatan terhadap kedua jenis COX, yaitu COX-1 dan COX-2 (Katzung *et al.*, 2015). Natrium diklofenak menghambat siklooksigenase sehingga prostaglandin dan tromboksan ikut terhambat. Prostaglandin mengatur pelepasan IL-6, dan IL-10 dan sitokin proinflamasi lainnya. Natrium diklofenak diduga menghambat sintesis leukotrien, fosfolipase A₂, memodulasi kadar asam arakidonat, menstimulasi kanal perifer *nitric oxide*-*cyclic guanosine monophosphate* (NO-cGMP), menghambat *peroxisome proliferator activated receptor-γ* (PPAR- γ), menurunkan kadar substansi P dan IL-6 di dalam plasma dan cairan sinovial, serta menghambat reseptor tromboksan-prostanoid (Gan, 2010). Mekanisme kerja natrium diklofenak dapat dilihat pada Gambar 2.3. berikut.



Gambar 2.3 Skema mekanisme kerja natrium diklofenak. Tanda (-): menghambat, (+): memicu (Sumber: Gan, 2010).

Natrium diklofenak dapat diabsorpsi secara oral, obat ini mempunyai bioavailabilitas sistemik sebesar 30-70% karena metabolisme lintas pertama. Obat ini mempunyai waktu paruh 2-6 jam dalam kompartemen sehingga obat ini mempunyai durasi efek terapeutik yang jauh lebih lama daripada waktu paruhnya dalam plasma. (Katzung *et al.*, 2015). Diklofenak dimetabolisme di hati oleh isozim sitokrom P450 subfamili CYP2C9 menjadi 4-hidroksidiklofenak (Brunton *et al.*, 2012).

2.4.2 Indikasi, Kontraindikasi dan Efek Samping Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak mempunyai aktifitas analgetik, antipiretik, dan antiradang. Obat ini merupakan inhibitor siklooksigenase. Selain itu, natrium diklofenak menurunkan tingkat asam arakidonat intrasel bebas dalam leukosit, dengan mengubah pelepasan atau pengambilan asam lemak tersebut (Brunton *et al.*, 2012). Obat ini efektif untuk peradangan lain akibat trauma (pukulan, benturan, kecelakaan), misalnya setelah pembedahan, atau pada memar akibat olahraga. Natrium diklofenak adalah turunan asam fenilasetat sederhana yang merupakan penghambat COX yang kuat dengan efek anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik. Obat ini cepat diabsorpsi setelah pemberian oral dan mempunyai waktu paruh yang pendek (Brunton *et al.*, 2012).

Natrium diklofenak digunakan dalam penanganan simptomatik jangka lama pada arthritis rheumatoid, osteoarthritis, dan spondilitis ankilosa. Dosis lazim harian untuk indikasi tersebut adalah 100 sampai 200 mg, diberikan dalam beberapa dosis terbagi diberikan dengan dosis 25 mg sampai 50 mg dalam tiga kali pemberian perharinya. Senyawa ini mungkin juga berguna untuk penanganan jangka pendek cedera otot rangka akut, nyeri bahu akut, nyeri pasca operasi dan dismenorea (Katzung *et al.*, 2015).

Natrium diklofenak dikontraindikasikan pada orang yang hipersensitif pada diklofenak, ulkus, pendarahan, perforasi usus atau lambung, trimester terakhir kehamilan, gangguan fungsi hepar, ginjal, jantung. Kontraindikasi pada penggunaan secara intravena antara lain penggunaan bersama dengan AINS atau antikoagulan (termasuk heparin dosis rendah), riwayat *hemorrhagic diathesis*,

riwayat perdarahan serebrovaskular yang sudah maupun belum dipastikan, pembedahan yang berisiko tinggi menyebabkan pendarahan, riwayat asma, hipovolemi, dehidrasi. Natrium diklofenak kontraindikasi untuk pengobatan nyeri peri-operatif pada operasi CABG (*coronary artery bypass graft*) (BPOM RI, 2015).

Natrium diklofenak dengan dosis 150 mg /hari akan mengganggu aliran darah ginjal dan filtrasi glomerulus. Peningkatan aminotransferase serum lebih sering terjadi pada penggunaan natrium diklofenak, dibandingkan dengan OAINS lain (Katzung *et al.*, 2015). Natrium diklofenak dapat mengiritasi lambung. Pada pemberian secara intramuscular sering kali menyebabkan nyeri dan kerusakan jaringan. Suppositoria natrium diklofenak dapat menyebabkan iritasi lokal (Anggraeni *et al.*, 2012).

2.5 Cuka Apel

Cuka apel adalah hasil fermentasi buah apel segar yang pada proses awalnya gula diubah menjadi alkohol (etanol), kemudian alkohol ini diubah menjadi asam asetat (Sultoni, 2014). Proses fermentasi cuka apel pada tahap awal adalah menggunakan khamir, dimana khamir mengubah gula menjadi alkohol dan karbondioksida. Proses fermentasi selanjutnya adalah proses fermentasi asam asetat yang menggunakan bakteri asam asetat (Periadnadi & Nurmiati, 2015).

2.5.1 Apel

Klasifikasi tanaman Apel hijau manalagi menurut Bappenas (2000):

Kerajaan: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Rosales

Famili: Rosaceae

Bangsa: Maleae

Genus: Malus

Spesies: *Malus sylvestris*

Apel merupakan tanaman buah yang dapat tumbuh di iklim sub tropis. Apel di Indonesia ditanam di beberapa wilayah, terutama di wilayah Pasuruan, khususnya di Kecamatan Tukur Nongkojajar. Buah apel yang digunakan untuk membuat cuka apel adalah Apel Anna (*Malus sylvestris*) dikarenakan jenis apel ini mempunyai rasa asam dan beraroma kurang tajam sehingga cocok untuk dibuat cuka apel. Apel Anna mempunyai kandungan air yang lebih banyak, yang menyebabkan teksturnya lebih lunak dibanding buah apel jenis lain seperti apel Manalagi dan Romebeauty. Buah ini mempunyai kulit tipis dengan warna kuning kemerahan (Sa'adah & Estiasih, 2015).

Apel ini berasal dari Australia dan kini sedang ditumbuhkan di Indonesia. Apel yang digunakan untuk membuat cuka apel adalah apel yang terlalu masak dan sepat untuk dimakan secara langsung tetapi mempunyai rasa yang cocok untuk diolah menjadi cuka (Sultoni, 2014). Apel dikategorikan sebagai salah satu anggota keluarga mawar-mawaran (Rosaceae). Apel memiliki habitus berupa pohon, akar berupa akar tunggang. Apel memiliki batang pohon yang bulat, arah tumbuhnya tegak, tumbuhan kayu, memiliki batang yang kasar dan berwarna coklat (Adrianto, 2013). Buah apel dapat dilihat pada Gambar 2.4 berikut.



Gambar 2.4 Buah apel (Sumber: Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, 2015)

Apel mempunyai daun yang serupa dengan daun bunga mawar. Tipe daunnya tunggal dan tersebar, bentuk daun lonjong, tepi daun bergerigi teratur dengan ujung meruncing, pangkal daun tumpul, daging daun agak tebal dan kaku, memiliki panjang 9-14 cm, lebar 3-5 cm serta berwarna hijau. Bunga apel bertangai pendek,

bertandan dan pada tiap tandan terdapat 7-9 bunga. Bunga apel tumbuh pada ketiak daun. Mahkota bunga apel berwarna putih sampai merah jambu (Adrianto, 2013).

Buah apel berbentuk bulat sampai lonjong, bagian pucuk buah berlekuk dangkal, kulit agak kasar dan tebal dan biasanya berwarna merah di luar bagian kulitnya saat masak (siap dimakan) (Adrianto, 2013). Biji apel berbentuk pipih, panjang sekitar 1 cm, berkeping dua, ketika masih muda berwarna putih, dan ketika tua berubah menjadi hitam (Soelarso, 1998).

Perkembangbiakan tanaman apel dilakukan secara generatif dan vegetatif. Perkembangbiakan yang biasanya dilakukan adalah dengan cara vegetatif. Hal ini dikarenakan perbanyakan secara generatif membutuhkan waktu yang lama. Perkembangbiakan vegetatif dilakukan dengan okulasi (*budding*), sambungan (*grafting*), dan stek. Perbanyakan generatif dilakukan dengan biji (Kusumo, 1986).

2.5.2 Kandungan Buah Apel

a. Flavonoid

Kandungan flavonoid pada buah apel merupakan kandungan terbanyak apabila dibandingkan dengan buah –buahan lain. Flavonoid dapat menurunkan resiko penyakit kanker paru-paru sampai 50 persen (Sultoni, 2014). Flavonoid juga diketahui memiliki efek analgesik dan antiedema dengan menghambat enzim siklooksigenase (Arista, 2008). Jenis flavonoid yang banyak terkandung dalam apel adalah quercetin (Simamora, 2009).

b. Pektin

Kandungan pektin (serat larut yang dikandung buah-buahan dan sayuran), telah diteliti dan terbukti menurunkan kadar kolesterol di dalam darah. Pada penelitian lain, dalam apel ditemukan asam D-glucaric yang memiliki manfaat dapat menurunkan kolesterol sampai dengan 35%. Lima gram buah apel memiliki kandungan serat yang tinggi yang menjadikan buah ini dapat mengurangi berat badan (Sultoni, 2014).

c. Tannin

kandungan tannin dalam apel yang tinggi dapat mencegah menumpuknya plak sehingga dapat melindungi dari kerusakan gigi dan gusi, serta zat ini dapat

mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler serta penyakit infeksi saluran kemih (Sultoni, 2014).

2.5.3 Kandungan Cuka Apel

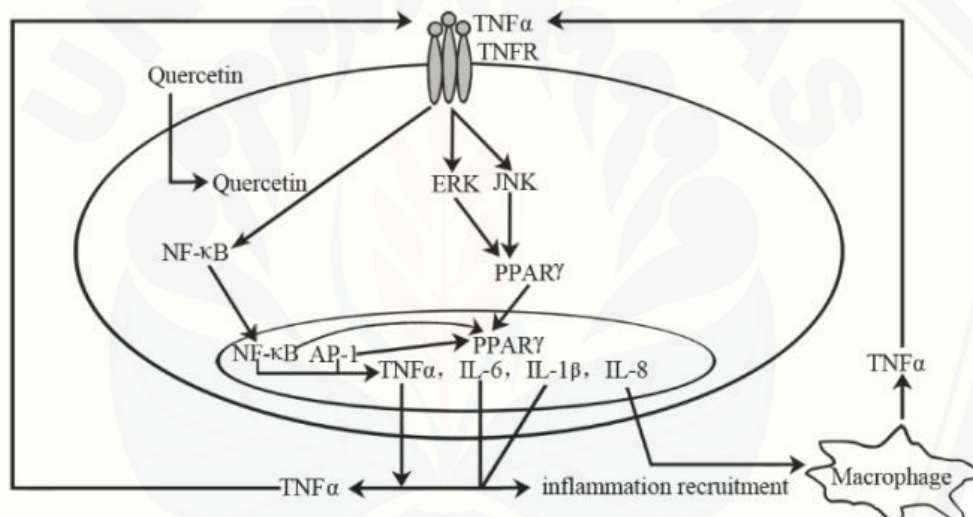
Cuka apel merupakan minuman kesehatan yang dibuat dari sari buah apel yang melewati proses fermentasi alami buah apel. Cuka apel memiliki manfaat antara lain pemberi rasa asam pada makanan, stimulasi nafsu makan, efek antioksidan, efek pemulihan kelelahan, efek penurun lipid, dan mengatur tekanan darah, mengatur kadar asam urat, penyakit kardiovaskuler dan paru, dan sejumlah penyakit lain (Pribadi *et al.*, 2010).

Penyajian buah apel dalam bentuk cuka adalah optimalisasi manfaat zat yang terkandung dalam buah apel. Proses fermentasi yang berkelanjutan dengan bakteri *Acetobacter aceti* dan *Gluconobacter oxydan* akan menghasilkan cuka apel yang tingkat alkohol dan keasaman yang sesuai (Swami *et al.*, 2014). Cuka apel mengandung kadar fenolik yang lebih tinggi daripada buah apel yang memberi mereka karakteristik pahit dan segar. Untuk apel segar, kandungan polifenol total berkisar dari 154-17 mg/L, sedangkan untuk cuka apel adalah 261–970 mg/L. Aktivitas antioksidan cuka apel bernilai 100-2595 unit / 250 mL lebih baik dibandingkan jus apel yang bernilai 140 unit / 150 mL (Skovenborg, 2009).

Kandungan flavonoid jenis quercetin ditemukan lebih banyak terdapat dalam cuka apel. Quercetin dapat menghambat metabolisme asam arakhidonat dan menghambat produksi eikosanoid, yang merupakan mediator inflamasi yang poten (Lesjak *et al.*, 2018). Quercetin dalam 100 gram buah apel, terkandung sekitar 4,42 mg aglikon quercetin dan 13,2 mg glikosida quercetin (Ventyaningsih, 2016), sedangkan dalam cuka apel mengandung sebanyak 9 mg quercetin (Rubiati, 2018).

Pada proses edema yang disebabkan oleh inflamasi, terjadi perubahan vaskuler berupa vasodilatasi dan perubahan pada dinding pembuluh darah sehingga menyebabkan protein plasma keluar dari pembuluh darah. Proses edema juga melibatkan perubahan seluler. Terjadi pelepasan berbagai sitokin inflamasi seperti *tumor necrosis factor - α* (TNF- α). TNF- α dilepaskan oleh makrofag, endotel dan sel mast. Quercetin menghambat (TNF- α) dengan cara mencegah aktivitas TNF- α ,

sehingga TNF- α tidak mampu mengaktifkan sinyal *extracellular signal-related kinase* (ERK), c-Jun NH2 - terminal kinase (JNK), c-Jun, dan *nuclear factor- κ B* (NF- κ B), yang merupakan gen yang mengekspresikan inflamasi dan sekresi protein. Selain itu, quercetin secara tidak langsung mencegah peradangan dengan meningkatkan aktivitas *peroxisome proliferator-activated receptor c* (PPAR γ), dengan demikian menghambat aktivasi transkripsional NF- κ B atau protein aktivator-1 (AP-1) gen inflamasi. Bersama-sama, ini menghambat induksi kaskade inflamasi yang dimediasi oleh TNF- α (Li *et al.*, 2016). Mekanisme quercetin dalam menghambat edema terkait inflamasi dinyatakan dalam Gambar 2.5 berikut.



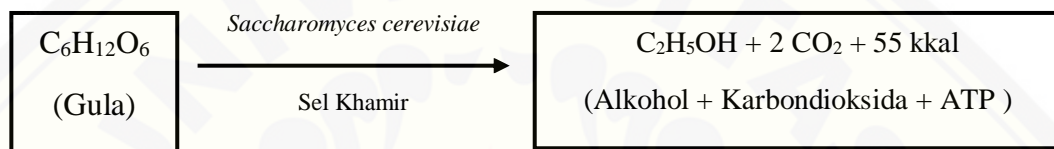
Gambar 2.5 Mekanisme penghambatan inflamasi oleh quercetin (Li *et al.*, 2016).

2.5.4 Proses Pembuatan Cuka Apel

Pembuatan cuka apel melibatkan dua fermentasi, yaitu, fermentasi alkohol dan asam asetat. Fermentasi alkohol dilakukan oleh *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan fermentasi asam asetat dilakukan oleh bakteri asam asetat. Proses fermentasi alkohol membutuhkan waktu 5- 7 hari. Buah apel yang akan dibuat cuka dihaluskan kemudian diekstraksi dengan menggunakan mesin bertekanan hidrolik, sehingga dihasilkan sari apel. Sari apel yang digunakan untuk pembuatan cuka, 60-70 % merupakan ampas (bahan kering). Sari apel masuk dalam tahap fermentasi alkohol hingga kandungan etil alkoholnya mencapai 9-11

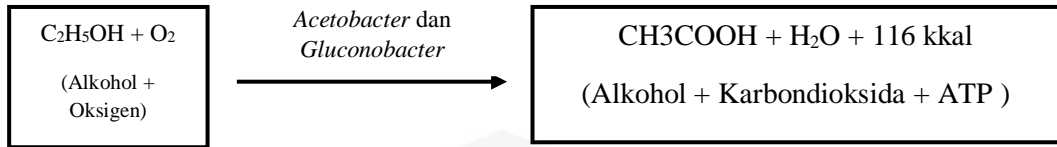
%. Fermentasi alkohol dilakukan pada suhu kamar (20-22°C). Pada tahapan ini sari apel disebut “wine”. Hasil dari proses fermentasi alkohol kemudian difiltrasi (Joshi *et al.*, 2016).

Hasil akhir proses fermentasi alkohol melalui jalur Embden-Meyerhof adalah dalam setiap 180 g glukosa akan diproduksi 92 g etanol, 80 g CO₂ dan energi (ATP) sehingga secara teoritis setiap 1 g glukosa akan menghasilkan 0,51 etanol dan 0,49 g CO₂ (Pranowo, 2006). Proses fermentasi alkohol jalur Embden-Meyerhof dapat dilihat pada Gambar 2.6.

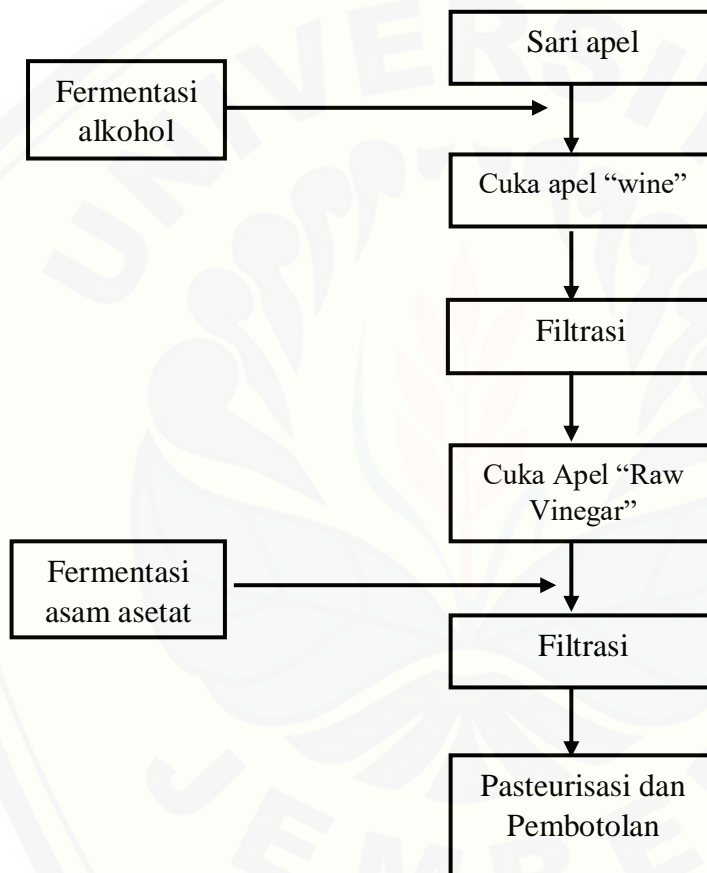


Gambar 2.6 Fermentasi alkohol (Sumber: Pranowo, 2006)

Tahapan selanjutnya adalah fermentasi asam asetat, yang merubah etanol (C₂H₅OH) menjadi asam asetat (CH₃COOH) yang menggunakan bakteri asam asetat. Bakteri asam asetat termasuk dalam genus *Acetobacter* dan *Gluconobacter*. Hasil dari fermentasi asam asetat adalah “*raw vinegar*” yang kemudian difiltrasi dengan menggunakan mikrofiltrasi. Cuka apel kemudian dilakukan pasteurisasi dan pembotolan kemudian siap untuk dikonsumsi. Proses fermentasi asam asetat jalur Embden-Meyerhof dinyatakan dalam Gambar 2.7 (Kwartiningsih, 2005). Keseluruhan proses dapat dilihat pada Gambar 2.8 Pembuatan cuka apel (Joshi *et al.*, 2016).



Gambar 2.7 Fermentasi asam asetat (Sumber: Kwartiningsih, 2005)



Gambar 2.8 Proses pembuatan cuka apel (Sumber: Joshi *et al.* , 2016)

2.6 Bawang Dayak

Klasifikasi tanaman bawang dayak menurut (Menteri Kesehatan RI, 2001):

Kingdom: *Plantae* (tumbuh-tumbuhan)

Divisi: *Tracheophyta* (tumbuhan berpembuluh)

Kelas: *Liliopsida* (monokotiledon)

Ordo: *Asparagales* (tumbuhan rumput)

Family: *Iridaceae*

Genus: *Eleutherine*

Species: *Eleutherine americana* (L.) Merr.

Bawang dayak (*Eleutherine americana* (L.) Merr) adalah tanaman yang berasal dari Amerika Selatan, terkenal di antara suku Dayak yang tinggal di Pulau Kalimantan, Indonesia. Spesies lain dari genus ini adalah *E. palmifolia*, *E. bulbosa*, *E. plicata* dan *E. latifolia*. Mereka dibudidayakan dan dinaturalisasi di Afrika, Malaysia, Indonesia (Kalimantan dan Jawa Barat) dan Filipina (Luzon, Leyte, Negros, Mindanao) (Febrinda *et al.*, 2014).

Tanaman ini memiliki kesamaan dengan bawang merah akan tetapi memiliki umbi yang berwarna merah menyala dengan permukaan yang licin. Umbi bawang dayak tidak berbau menyengat dan tidak menyebabkan mata pedih seperti bawang merah. Tanaman bawang dayak berakar serabut. Daun bawang dayak memiliki panjang 20-30 cm berpasangan dengan komposisi daun bersirip ganda, berbentuk daun pita, tepinya licin dan tulang daun sejajar. Bunganya berwarna putih, mungil, dan berkelopak lima. Tumbuhan bawang dayak dapat dilihat pada Gambar 2.9 (Galingging, 2009).



(a)

(b)

(a) Tumbuhan bawang dayak (b) Umbi bawang dayak

Gambar 2.9 Bawang dayak (Sumber: Puspadewi *et al.*, 2013)

Bawang dayak dipercaya oleh masyarakat dapat mengatasi hepatitis, batuk, diare, disentri, kanker colon, kanker payudara, pemicu muntah, dan obat bisul, diuretik, astringen, dan dapat mengobati luka (Galingging, 2009). Menurut penelitian lain, bagian umbi digunakan sebagai agen hipoglikemik, selain itu dapat digunakan sebagai antiepilepsi, anti diabetes, antihemoragik, dan diresepkan pada kejadian keseleo, penyakit perkemihan dan hemoroid (Fern, 2014), terutama masyarakat Distrik Bankure, Bengal Barat (Sinhbabu & Banerjee, 2013).

2.6.1. Kandungan Kimia

Umbi bawang dayak mengandung flavonoid, alkaloid, glikosida, fenolat, steroid, dan tannin. Flavonoid dapat mengatasi edema melalui berbagai cara seperti memodulasi aktivitas asam arakidonat (AA) metabolisme enzim seperti fosfolipase A2 (PLA2), siklooksigenase (COX) dan lipoxygenase (LOX) dan nitrat oksida (NO) menghasilkan enzim, nitrat oksida sintase (NOS). Penghambatan enzim ini mengurangi produksi AA, prostaglandin, leucotrienes, dan NO, yang merupakan mediator penting peradangan (Lafuente, 2009). Senyawa turunan polifenol ini mampu menstabilkan dan melepaskan elektron yang tidak berpasangan dan mampu menangkal radikal bebas (Nurcahyawati *et al.*, 2017).

Senyawa lain yang terkandung dalam umbi bawang dayak adalah antosianin. Antosianin diketahui dapat menghambat enzim siklooksigenase-2 sehingga dapat mengatasi edema (Hassimotto *et al.*, 2013). Antosianin merupakan salah satu jenis polifenol dengan aktivitas antioksidan yang berperan untuk pencegahan atau menurunkan risiko penyakit kardiovaskular, diabetes, radang sendi dan kanker. Antosianin termasuk dalam golongan flavonoid, akan tetapi dibedakan dari flavonoid lain karena kapasitas mereka untuk terbentuk kation flavylum (Mazza, 2007). Fraksi ekstraksi dari antosianin dapat meningkatkan ekspresi enzim antioksidan dan *nuclear factor (erythroid-derived-2)* (Nrf2) dan pada saat yang sama dapat menurunkan ekspresi mediator edema pada kerusakan sel hepar yang diinduksi dimethylnitrosamine (DMN). Fraksi antosianin memicu pertahanan antioksidan melalui jalur *nuclear factor (erythroid-derived-2)* (Nrf2) dan mengurangi peradangan melalui penghambatan NF- κ B (*nuclear factor kappa B*) (Hwang *et al.*, 2011).

Kelompok senyawa naphthoquinone (elecanacine, eleutherine, elutherole) yang terkandung dalam bawang dayak (Han *et al.*, 2008), berfungsi sebagai anti kanker dan sebagai antioksidan (Babula *et al.*, 2009). Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak umbi etanol umbi bawang dayak dari Banjarbaru memiliki aktivitas antioksidan IC50 sebesar 25,33 ppm. Hasil skrining fitokimia umbi bawang dayak mengandung triterpenoid dan quinone (Kuntorini & Astuti, 2016).

Senyawa naphthoquinone dihasilkan dari hampir semua bagian daun dan umbi akan tetapi umbi berperan sebagai tempat penyimpanan, sehingga ditemukan kadar naphthoquinone yang lebih banyak di umbi bawang dayak (Kuntorini & Sumardi, 2008). Menurut Babula *et. al.* (2009) senyawa naphthoquinone merupakan senyawa beracun, biasanya digunakan sebagai antimikroba, antijamur, antiviral, anti parasit, dan antioksidan.

Zat lain yang terdapat dalam umbi bawang dayak adalah quinone. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol umbi bawang dayak dari Banjarbaru mengandung quinone berdasarkan skrining fitokimia. Quinone merupakan komponen teroksidasi dari fenol, seperti katekol (1,2 dihidroksibenzen) menghasilkan orto-kuinon dan quinole (1,4 dihidroksibenzen) menghasilkan para

quinone, sehingga quinone dapat terbentuk dari sistem fenol yang dihasilkan melalui jalur asetat atau shikimate (Kuntorini & Astuti, 2016). Umbi bawang dayak dapat menghambat alpha-glucosidase sehingga menurunkan tingkat glukosa darah postprandial, dan juga dengan memperbaiki kerusakan sel beta pankreas, sehingga meningkatkan sekresi insulin secara langsung (Febrinda *et al.*, 2014).

2.6.2. Efek Bawang Dayak terhadap Edema

Patogen bakteri dan juga produknya, seperti lipopolisakarida (LPS) memicu aktivasi NF- κ B yang memainkan peran sentral dalam induksi sitokin dan mediator inflamasi. Selama rangsangan inflamasi, translokasi NF- κ B dari sitosol ke dalam inti sel menginduksi ekspresi sejumlah besar gen yang terlibat dalam inflamasi, termasuk pengkodean sitokin (interleukin-1/IL-1, IL-6 dan tumor necrosis factor- α /TNF- α), molekul adhesi, protein fase akut, serta enzim seperti nitric oxide synthase (NOS). Sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi merangsang peningkatan produksi cyclooxygenase-2 (COX-2) dalam makrofag dan sel endotel yang memberikan kontribusi edema dan vasodilatasi sisi inflamasi (Prasetyo & Suparyanti, 2013). Bawang dayak memiliki kandungan flavonoid golongan antosianin yang dapat mengurangi peradangan melalui penghambatan NF- κ B (*nuclear factor kappa B*) sehingga dapat menurunkan mediator inflamasi (Hwang *et al.*, 2011). Bawang dayak juga diketahui dapat menghambat enzim siklooksigenase-2 (COX-2) sehingga dapat mengatasi edema (Hassimotto *et al.*, 2013).

Bawang dayak diketahui mengandung senyawa antioksidan seperti polifenol dan flavonoid. Pada penyakit tukak lambung flavonoid meningkatkan kandungan prostaglandin mukosa, menurunkan sekresi histamin dari sel mast oleh penghambatan histidine decarboxylase, dan juga sebagai radical scavengers. Kinerja flavonoid juga dijelaskan dalam penelitian Lafuente (2009) bahwa jika flavonoid masuk ke dalam tubuh akan memiliki kemampuan untuk memodulasi edema sel, memodulasi enzim, memodulasi gen, sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas, menghambat produksi ROS (Reactive Oxygen Species) dan menghambat enzim prooksidan, sedangkan polifenol dapat memberikan

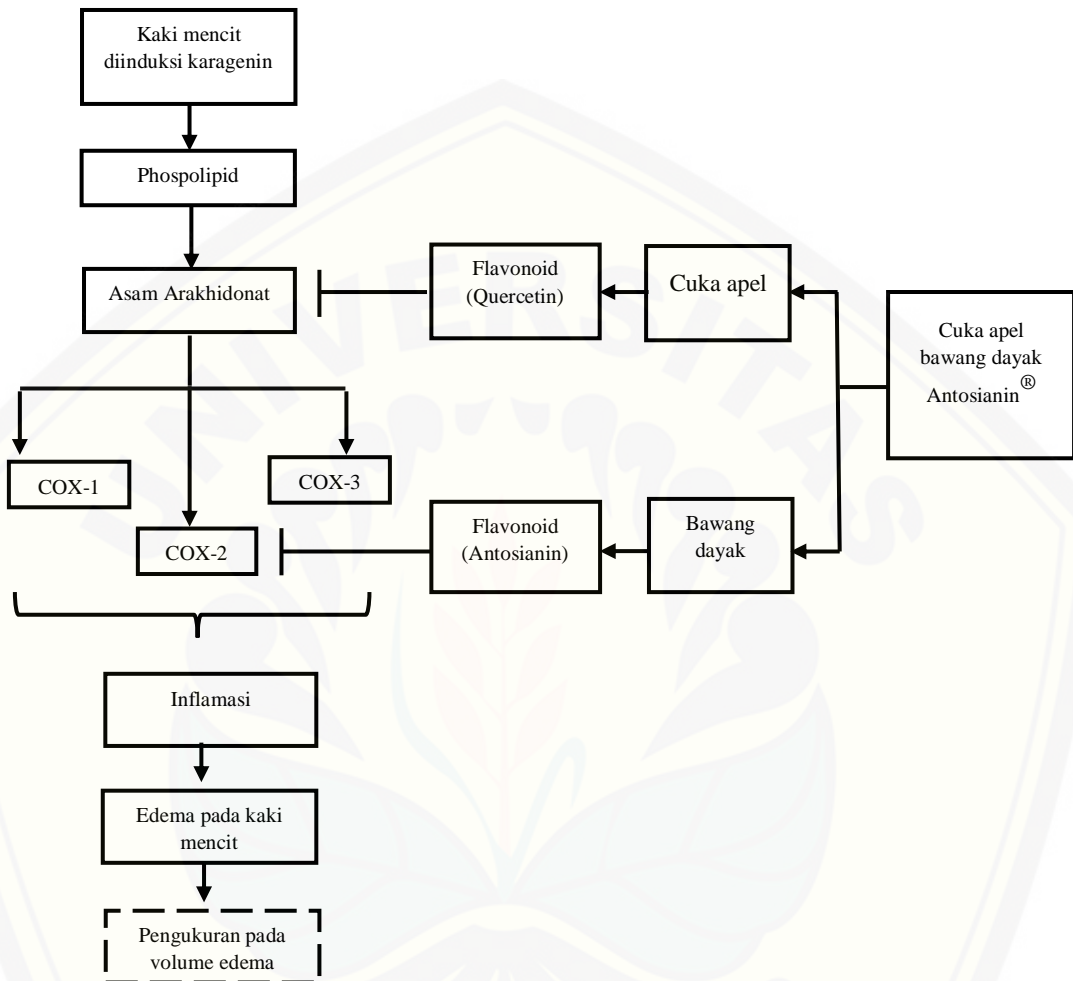
faktor perlindungan terhadap membran mukosa, secara tidak langsung dapat menghambat sekresi asam lambung berlebihan yang dapat memperburuk kerusakan jaringan mukosa yang disebabkan oleh edema (Windari, 2017).

2.7 Metode Pembentukan Edema

Bahan yang digunakan untuk menginduksi edema yaitu ragi, telur, kaolin dan karagenin. Karagenin merupakan bahan penginduksi edema yang paling sering digunakan karena tidak merusak jaringan pada hewan uji (Morris, 2003). Kelebihan metode pembentukan edema menggunakan karagenin selain tidak merusak jaringan pada hewan uji, metode ini juga lebih mudah dalam pengukurannya karena menggunakan alat pletismometer, sehingga pengukurannya lebih akurat dan objektif (Necas & Bartosikova, 2013).

2.8 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut.



Keterangan:

: variabel tidak diteliti

: variabel diteliti

| : menghambat

→ : memicu

Gambar 2.10 Kerangka konsep

Injeksi karagenin 1% akan memicu edema pada telapak kaki mencit. Pada saat terjadi inflamasi, asam arakhidonat dimetabolisme oleh enzim siklooksigenase (COX). Proses inflamasi, dalam hal ini edema telapak kaki mencit akan terus berlangsung, jika jalur COX tidak dihambat. Enzim ini berperan untuk mengubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Keadaan inflamasi dapat dilihat dari tanda kardinal inflamasi, salah satunya adalah edema. Apabila proses inflamasi dihambat misalnya melalui jalur COX maka volume edema akan berkurang. Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] memiliki zat yang dapat menghambat edema yaitu quercetin dan antosianin. Quercetin memiliki aktivitas menghambat asam arakhidonat sehingga tidak terjadi konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Antosianin dapat menghambat pelepasan mediator inflamasi dan menghambat siklooksigenase-2 (COX-2). Apabila asam arakhidonat dan COX-2 dihambat maka proses edema tidak dapat berlangsung, sehingga pembentukan edema pada telapak kaki mencit terhambat. Pengukuran dilakukan menggunakan pletismometer dan diharapkan terjadi penurunan volume edema setelah pemberian Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®].

2.9 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] efektif menghambat kenaikan volume edema pada kaki mencit yang diinduksi karagenin.

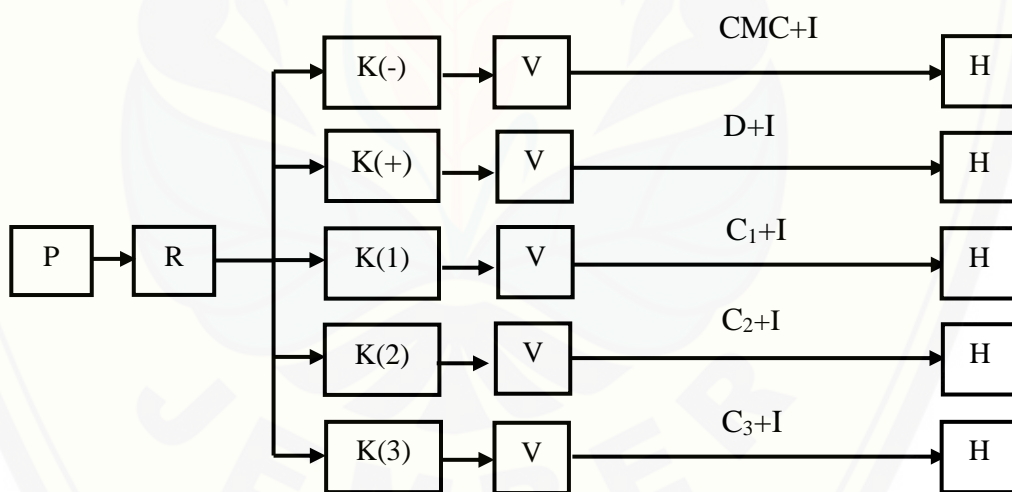
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian tentang efektivitas Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] terhadap perubahan volume edema kaki mencing yang diinduksi karagenin ini merupakan jenis penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian *pre test* dan *post test*.

3.2 Rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah yaitu penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian *pre test* dan *post test* yaitu menggunakan metode sampling secara random dan pengambilan data variabel dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- P : Populasi
- R : Randomisasi
- V : Volume kaki awal sebelum diberi perlakuan
- K(-) : Kelompok kontrol negatif
- K(+): Kelompok kontrol positif

- K(1,2,3) : Kelompok perlakuan (1,2 dan 3)
- CMC : Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL
- D : Natrium Diklofenak 0,13 mg yang dilarutkan dalam Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL
- C(1,2,3) : Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] dengan variasi dosis kelompok perlakuan 1, 2, 3 masing masing adalah 0,6 mL dengan konsentrasi kelompok 1, 2, 3 adalah 0.069, 0.130, dan 0.230 M.
- I : Injeksi karagenin 0,05 mL 1% pada kaki kiri mencit secara subplantar
- H : Volume edema kaki mencit setelah diberi perlakuan

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Biomedik Ruang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Desember 2018.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan sebagai hewan coba. Besar sampel diperoleh dari Rumus Federer sebagai berikut:

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

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

t = jumlah kelompok perlakuan

r = besar sampel tiap kelompok

Berdasarkan rumus di atas, besar sampel untuk masing masing kelompok pada penelitian ini minimal 5 ekor. Jadi besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 25 ekor mencit yang terbagi dalam 5 kelompok dengan jumlah

sama besar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

1. Mencit jenis kelamin jantan
2. Mencit dengan berat badan 20 -30 gram
3. Mencit berumur 2-3 bulan
4. Mencit dalam keadaan sehat

3.5 Variabel

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin®.

3.5.2 Variable Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah volume edema telapak kaki mencit.

3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Hewan uji mencit (*Mus musculus*).
- b. Jenis kelamin mencit, digunakan jantan karena relatif lebih kuat dan tidak terganggu oleh kehamilan.
- c. Berat badan mencit, yang digunakan adalah 20-30 gram karena merupakan berat badan ideal dengan ukuran yang kecil tetapi luas permukaan besar, yang memudahkan mencit untuk beradaptasi.
- d. Usia hewan coba, usia mencit yang digunakan adalah 2-3 bulan.
- e. Kondisi hewan uji sehat
- f. Pemeliharaan dan perlakuan mencit, di sebuah kandang beralaskan sekam kering.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi operasional variabel

Variabel		Cara Pengukuran	Satuan	Skala Data
1. Bebas	Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] . Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] merupakan minuman fermentasi dalam bentuk cairan, terbuat dari gabungan cuka apel dan air gerusan bawang dayak. Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] diperoleh dari perusahaan CM kota wisata Batu, Malang, Jawa Timur. Variasi dosis Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] kelompok perlakuan 1, 2, 3 masing masing adalah 0,6 mL dengan konsentrasi kelompok 1, 2, 3 adalah 0.069, 0.130, dan 0.230 M. Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] diberikan secara oral, dosis tunggal kepada 25 mencit, 30 menit sebelum injeksi 0,05 mL karagenin 1% secara subplantar, kaki kiri.	Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] diukur volumenya menggunakan <i>beaker glass</i> , kemudian tingkat konsentrasi cuka apel bawang dayak dibuat sesuai dengan konsentrasi masing masing kelompok.	mL	Rasio
2. Terikat	Variabel terikat dalam penelitian ini adalah volume edema kaki mencit. Volume edema kaki mencit adalah volume kaki mencit yang terbentuk setelah diinjeksi karagenin secara subplantar. Edema pada penelitian ini dapat diketahui melalui penambahan volume kaki mencit. Metode pembentukan edema adalah teknik yang digunakan untuk membentuk edema di kaki kiri mencit setelah injeksi zat penyebab radang. Pada penelitian ini, digunakan karagenin sebagai induktor edema. Karagenin adalah zat yang digunakan untuk menimbulkan edema pada telapak kaki mencit. Dosis karagenin yang digunakan sebesar 0,05 mL 1%.	Volume kaki mencit diukur menggunakan pletismometer digital, yaitu alat yang dirancang untuk mengukur perubahan kecil dalam volume. Volume kaki mencit yang diukur dengan pletismometer digital yaitu volume kaki dibawah maleolus lateral, pada kaki kiri. Pengukuran volume dilakukan pada awal, sesaat	mL	Rasio

Variabel	Cara Pengukuran	Satuan	Skala Data
yang diberikan 30 menit sebelum pemberian Na CMC pada kelompok kontrol negatif, 30 menit sebelum pemberian natrium diklofenak pada kelompok kontrol positif dan 30 menit sebelum pemberian cuka apel bawang dayak pada kelompok perlakuan 1, 2, 3. Karagenin diberikan secara subplantar pada kaki kiri mencit.	setelah injeksi, satu jam, dua jam dan tiga jam setelah injeksi karagenin.		
3. Terkendali			
a. Hewan uji mencit (<i>Mus musculus</i>).			
b. Jenis kelamin mencit, digunakan jantan karena relatif lebih kuat dan tidak terganggu oleh kehamilan.			
c. Berat badan mencit, yang digunakan adalah 20-30 gram karena merupakan berat badan ideal dengan ukuran yang kecil tetapi luas permukaan besar, yang memudahkan mencit untuk beradaptasi.	Berat badan diukur menggunakan neraca elektrik.	Gram	Rasio
d. Dosis dan frekuensi pemberian karagenin.			
e. Usia hewan coba, usia mencit yang digunakan adalah 2-3 bulan.	Dosis karagenin yang digunakan sebesar 0,05 mL 1% diberikan 30 menit sebelum pemberian aquadest, natrium diklofenak dan cuka apel bawang dayak. Frekuensi pemberian karagenin adalah sekali pemberian.	mL	Rasio
f. Kondisi hewan uji sehat			
g. Pemeliharaan dan perlakuan mencit, di sebuah kandang beralaskan sekam kering.			

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Alat untuk adaptasi dan pemilihan hewan coba adalah neraca elektrik, bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label.
- b. Alat untuk pemberian Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] dan natrium diklofenak adalah *beaker glass*, *sprit* sonde dan *handscoon*.
- c. Alat untuk injeksi karagenin adalah beaker glass, spuit ukuran 1 mL, jarum ukuran 25 Gauge dan *handscoon*.
- d. Alat untuk mengukur pengurangan edema pada kaki mencit adalah pletismometer digital.

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan pelet, air dan sekam.
- b. Bahan untuk menurunkan volume edema adalah natrium diklofenak 50 mg dalam sediaan tablet.
- c. Bahan untuk perlakuan adalah cuka apel bawang dayak, karagenin 1%, natrium diklofenak 50 mg, aquadest dan NaCMC 1%.

3.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan dibagi menjadi beberapa tahapan yang dimulai dari uji kelayakan etik sampai tahapan percobaan. Prosedur penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Pada penelitian ini subjek penelitian yang digunakan adalah mencit yang dalam pelaksanaannya telah mendapatkan sertifikat kelayakan etik dari FK UNEJ dengan nomor 1.214/H25.1.11/KE/2018 yang dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

Prosedur ini untuk menjamin keamanan baik bagi peneliti maupun objek penelitian, melindungi hak hak hewan coba serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Mencit diberi perlakuan sebagai berikut:

1. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan kandang di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama ± 7 hari
2. Mencit diberi makanan standard dan minuman setiap hari
3. Pada hari pengujian mencit ditimbang dan kemudian dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok dengan jumlah sama besar

3.8.3 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi menjadi 5 kelompok secara *simple random sampling* dengan kriteria *Mus musculus* jantan dengan berat badan 20-30 gram, usia sekitar 2-3 bulan dan mencit dalam keadaan sehat (bergerak aktif).

3.8.4 Penentuan Dosis

Pada kontrol negatif menggunakan Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL. Kontrol positif digunakan Natrium Diklofenak 0,13 mg yang dilarutkan dalam larutan Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL. Dosis Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] yang digunakan diperoleh melalui petunjuk penggunaan yang tertera dalam kemasan yang kemudian dikonversi menjadi dosis mencit. Dosis Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] untuk manusia adalah 2-4 sendok makan yang dilarutkan dalam 200 mL air. Berdasarkan tabel konversi, variasi dosis cuka apel bawang dayak kelompok perlakuan 1, 2, 3 masing masing adalah 0,6 mL dengan konsentrasi kelompok 1, 2, 3 adalah 0.069, 0.130, dan 0.230 M (Laurence & Bacharach, 1964). Tabel konversi dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

3.8.5. Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 5 kelompok dengan masing masing kelompok terdiri atas 5 mencit. Pembagian kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.2 sebagai berikut.

Tabel 3.2 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan
Kelompok K(-)	Diberi Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL 30 menit sebelum injeksi karagenin
Kelompok K(+)	Diberi Natrium Diklofenak 0,13 mg yang dilarutkan dalam larutan Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL 30 menit sebelum injeksi karagenin
Kelompok K(1)	Diberi Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] 0,6 mL dengan konsentrasi 0.069 M 30 menit sebelum injeksi karagenin
Kelompok K(2)	Diberi Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] 0,6 mL dengan konsentrasi 0.130 M 30 menit sebelum injeksi karagenin
Kelompok K(3)	Diberi Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin [®] 0,6 mL dengan konsentrasi 0.230 M 30 menit sebelum injeksi karagenin

3.8.6 Persiapan

Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] diperoleh kota wisata Batu, Malang, Jawa Timur yang merupakan gabungan dari cuka apel dan air gerusan bawang dayak yang diambil airnya. Dosis Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] yang dikonsumsi manusia adalah 15 mL, 30 mL, dan 60 mL yang dilarutkan dalam 200 mL air kemudian dikonversi sesuai tabel konversi dosis menjadi 0,52 mL dengan konsentrasi kelompok 1, 2, 3 adalah 0.069, 0.130, dan 0.230 M. Penghitungan dosis tersebut berdasarkan tabel konversi dosis (Laurence & Bacharach, 1964). Tabel dosis konversi dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

3.8.7 Perlakuan pada Kelompok Sampel

- a. Mencit diadaptasikan selama 7 hari di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan cara diberi makan standar berupa pellet serta diberi minum.
- b. Mencit dipuasakan selama 3 – 4 jam sebelum perlakuan.
- c. Masing masing kelompok perlakuan diberikan dosis sesuai dengan rancangan penelitian secara per oral.
- d. Kelompok kontrol negatif diberikan Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL, kelompok kontrol positif diberikan natrium diklofenak 0.13 mg yang dilarutkan dalam Na CMC 1% sebanyak 0,6 mL dan kelompok lain diberi cuka apel bawang dayak antosianin dengan variasi dosis dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] kelompok perlakuan 1, 2, 3 adalah 0,6 mL dengan konsentrasi kelompok 1, 2, 3 masing masing adalah 0.069, 0.130, dan 0.230 M. Pemberian Na CMC, natrium diklofenak, dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] diberikan secara per oral, 30 menit sebelum injeksi 0.05 mL karagenin 1%, yang diinduksi pada kaki kiri belakang mencit secara subplantar. Protokol sonde dapat dilihat pada Lampiran 3.4.
- e. Tiga puluh menit kemudian mencit diberikan karagenin dan diamati perubahan volume kaki mencit dengan menggunakan pletismometer digital. Onset kerja natrium diklofenak yaitu 1,5 jam dan karagenin melepaskan prostaglandin saat 1 jam sampai 3 jam setelah injeksi sehingga karagenin diinjeksikan 30 menit setelah pemberian natrium diklofenak, Na CMC, dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] (Kim, 2009), (Suleyman, 2004). Pengamatan volume dilakukan pada awal sebelum injeksi, sesaat setelah injeksi karagenin, satu, dua, dan tiga jam setelah induksi karagenin. Induksi karagenin akan menimbulkan edema pada telapak kaki mencit. Protokol induksi karagenin dapat dilihat pada Lampiran 3.5.
- f. Pengukuran volume edema telapak kaki mencit dilakukan dengan menggunakan pletismometer digital, yaitu suatu alat yang dirancang untuk mengukur perubahan kecil dalam volume. Sebelum pengukuran volume edema telapak kaki mencit, malleolus lateral kaki mencit ditandai dengan

menggunakan spidol permanen dahulu untuk mempermudah pengukuran berulang. Volume edema kaki mencit yang terbentuk akibat injeksi karagenin kemudian diukur dengan pletismometer digital sebanyak 5 kali. Pengukuran volume edema dilakukan pada awal sebelum injeksi, sesaat setelah injeksi karagenin, satu jam, dua jam, dan tiga jam setelah injeksi karagenin. Prinsip alat ini adalah sesuai dengan hukum Archimedes yaitu benda yang dimasukkan ke dalam zat cair akan memberikan tekanan ke atas sesuai dengan volume yang dipindahkan. Volume kaki ditampilkan pada angka yang tertera pada LCD plethysmometer. Tingkat ketelitian alat ini adalah 0,01 mL. Pletismometer digital dapat dilihat pada Gambar 3.2. Protokol penggunaan pletismometer serta bagian-bagian pletismometer dapat dilihat pada Lampiran 3.6.



Gambar 3.2. Pletismometer Digital (Bader *et al.*, 2017)

3.8.8 Perhitungan % Daya Penghambatan Edema

Metode Langford yang telah dimodifikasi digunakan untuk mengetahui efek penghambatan edema yang dihitung dalam persen (%) daya penghambatan edema dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ daya penghambatan edema} = \frac{N-U}{N} \times 100\%$$

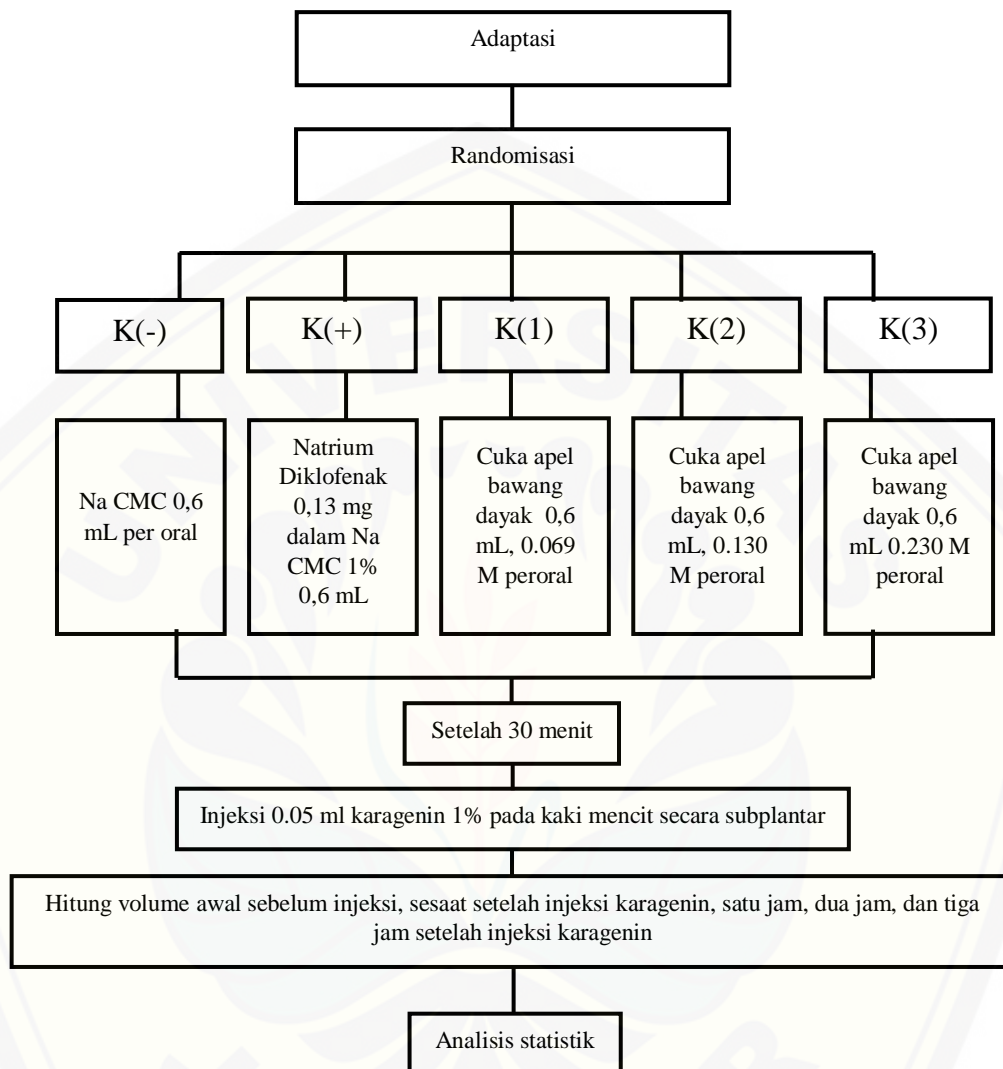
Keterangan:

- N : nilai rata-rata edema telapak kaki mencit kelompok kontrol negatif setelah injeksi karagenin- sebelum injeksi karagenin
- U : nilai rata-rata volume edema telapak kaki mencit kelompok uji setelah injeksi karagenin – sebelum injeksi karagenin.

3.9 Analisis Data

Seluruh data dianalisis secara komputerisasi dan menggunakan software SPSS. Sebelum dilakukan uji statistik, dilakukan uji normalitas data *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan *Levene's test*. Uji normalitas data dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk* karena jumlah sampel <50 . Uji *One Way Anova* dengan *Post Hoc Bonferroni* dilakukan setelah uji normalitas dan uji homogenitas mendapatkan hasil data berdistribusi normal dan homogen. Data kemudian diuji dengan *One Way Anova* dan apabila didapatkan hasil uji *One Way Anova* yang signifikan ($p < 0.05$), dilakukan analisis *Post Hoc Bonferroni* untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan signifikan. Apabila data yang didapatkan terdistribusi tidak normal dan tidak homogen maka data ditransformasi terlebih dahulu. Apabila setelah data ditransformasi tetap didapatkan hasil data yang tidak normal dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dengan *Post Hoc Mann-Whitney*. Tingkat kepercayaan yang digunakan pada penelitian ini adalah 95,5% atau nilai signifikansinya sebesar $p=0,05$.

3.10 Alur penelitian



Gambar 3.3 Skema dan alur penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, 2013. Biosistematika Varietas Pada Apel (*Malus Sylvestris* L.) di Kota Batu Berdasarkan Morfologi. *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Anggraeni, Y., Esti H., & Tutiek P. 2012. Karakteristik Sediaan dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sistem Niosom dengan Basis Gel Carborner 940. *Pharm. Sci*, Vol. 1, 1, 57-78.
- Arista I., 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L) Menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Arthritis Foundation. 2006. The facts about arthritis. <https://www.arthritis.org/about-arthritis/>. [Diakses pada 2 Januari 2019].
- Babula, P., V. Adam, R. Kizek, R., Z. Sladký, dan L. Havel L. 2009. Naphthoquinones as Allelochemical Triggers of Programmed Cell Death. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3): 330-337.
- Bader, A. A. S., A. H. Omar, dan M. H. El-Odemi. 2017. Anti-Inflammatory Effects of Diazepam on Different Models of Inflammation: Roles of Peripheral Benzodiazepine Receptors and Genes for Corticosterone, Nitric Oxide and Cytokines Biosynthesis. *J Clin Epigenet*. 3:2.
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro). 2015. Apel osako. <http://balitjestro.litbang.pertanian.go.id/budidaya-apel/apel-osako/>. [Diakses pada 2 Januari 2019].
- BAPPENAS. 2000. Apel (*Malus sylvestris* Mill). Jakarta.
- Beutler, B., dan A. Cerami. 1989. The Biology of Cachectin/TNF-- α Primary Mediator Of The Host Response. *Annual review of immunology*. 7(1): 625-655.
- Bilici, D., E.Akpinar, dan A. Kiziltunc. 2002. Protective Effect of Melatonin in Carrageenan-Induced Acute Local Inflammation. *Pharmacological research*. 46(2): 133-139.
- BPOM RI. 2015. Natrium Diklofenak. <http://pionas.pom.go.id/monografi/natrium-diklofenak>. [Diakses pada 2 Januari 2019].

- Brunton, L. L., K. L. Parker, D. K. Blumenthal, dan I. L. O. Buxton. 2008. *Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. The McGraw-Hill Companies Inc. 2012. *Goodman Gilman Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC Press.
- Chao, J., T. C. Lu, J. W. Liao, T. H. Huang, M. S. Lee, H. Y. Cheng dan W. H. Peng. 2009. Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Ethanol Root Extract of *Mahonia oiwakensis* in Mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 125(2): 297-303.
- Dasar, R. K. 2007. Laporan Nasional 2007. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, Republik Indonesia*. Jakarta: Depkes.
- Departemen Kesehatan RI. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta : Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia.
- Dorland, W. A. 2014. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Edisi 28. Jakarta: EGC.
- Dudhgaonkar, S. P., S. K. Tandan, A. S. Bhat, S. H. Jadhav, dan D. Kumar. 2006. Synergistic Anti-Inflammatory Interaction between Meloxicam and Aminoguanidine Hydrochloride in Carrageenan-Induced Acute Inflammation in Rats. *Life Sciences*. 78(10): 1044-1048.
- Estakhr, J., N. Sanchooli, S. H. Najafi, N. Javdan. 2011. Antiinflammatory Activity of Ethanolic Extract of *Physalis alkekengi*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2(421): 5.
- Febrinda, A. E., M. Astawan, T. Wresdiyati, dan N. D. Yuliana. 2014. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24(2): 161.
- Fehrenbacher, J.C., M. R. Vasko, dan D. B. Duarte. 2012. Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. *Curr Protoc Pharmacol*. 5(4): 8.
- Felson, D. T. 2016. Safety of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *New England Journal of Medicine*. 375(26): 2595-2596.
- Fern, K. 2014. Useful Tropical Plants Database. <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Eleutherine+bulbosa>. [Diakses pada 2 Januari 2019].
- Galingging, 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai Tanaman Obat Multifungsi. Pontianak : BPTP Kalimantan Tengah. Halaman 9-12.

- Gan, T. J. 2010. Review Diclofenac: An Update on its Mechanism of Action and Safety Profile. *Current Medical Research & Opinion*. 26(7): 1715–1731.
- Gunawan, G. S. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. 2009.
- Guyton, A.C., dan Hall J.E. 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: EGC.
- Han, A. R., H. Y. Min, J. W. Nam, N. Y. Lee, A. Wiryawan, W. Suprpto dan E. K. Seo. 2008. Identification of A New Naphthalene and Its Derivatives from The Bulb of *Eleutherine americana* With Inhibitory Activity on Lipopolysaccharide-Induced Nitric Oxide Production. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 56(9): 1314-1316.
- Hapsari, H.D., Handajani. J., dan Tandelilin, R.T.C. 2006. Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Mengkudu sebagai Bahan Anti Inflamasi pada Tikus Wistar. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi*. 21(2): 60-68.
- Hassimotto, N. M. A., V. Moreira, N. G. Nascimento, P. C. M. C. Souto, C. Teixeira, dan F. M. Lajolo. 2013. Inhibition of Carrageenan-Induced Acute Inflammation in Mice by Oral Administration of Anthocyanin Mixture from Wild Mulberry and Cyanidin-3-Glucoside. *BioMed Research International*. 2013: 1-9.
- Hidayat, A. 2016. Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia L. Merr*) terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. *Disertasi*. Purwokerto: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Hidayati, N. A., Listyawati, S., dan Setyawan, A. D. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara L.* pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Jantan. *Bioteknologi*. 5(1): 10-17.
- Hootman, J. M., C. G. Helmick, K. E. Barbour, K. A. Theis, dan M. A. Boring. 2016. Updated Projected Prevalence of Self-Reported Doctor-Diagnosed Arthritis and Arthritis-Attributable Activity Limitation Among US Adults, 2015–2040. *Arthritis & Rheumatology*. 68(7): 1583.
- Hwang, Y. P., J. H., Choi, H. J. Yun, E. H. Han, H. G. Kim, J. Y. Kim, dan H. G. Jeong, 2011. Anthocyanins from Purple Sweet Potato Attenuate Dimethylnitrosamine-Induced Liver Injury in Rats by Inducing Nrf2-Mediated Antioxidant Enzymes and Reducing COX-2 and INOS Expression. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1), 93-99.

- Joshi, V. K., J. Yadav, R. Sharma, D. Joshi, dan R.K. Gupta. 2016. Effect of Nutrients and Growth Stimulators on Acetic Acid Fermentation Using Natural Consortia. *Intl. J. Food. Ferment. Technol.* 6(1): 81-95.
- Katzung, B. G., A. J. Trevor dan S. B. Masters. 2012. *Basic & Clinical Pharmacology*. 12th Edition. New York, NY: McGraw-Hill. Terjemahan B. U. Pedit. 2015. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi Keduabelas. Jakarta: EGC Press.
- Khotimah, S. N., dan Muhtadi, A. 2017. Review Artikel: Beberapa Tumbuhan yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi. *Farmaka*. 14(2): 29.
- Kim, K.P. Brar, J. Jakubowski, S. Kaltman, dan E. Lopez. 2009. The Use of Corticosteroids and Nonsteroidal Antiinflammatory Medication for The Management of Pain and Inflammation After Third Molar Surgery: A Review of the Literature. *Mosby, Inc.* 107(5): 631-632.
- Kumar, V., R.S. Cotran, dan S.L. Robbins 2015. *Robbins Basic Pathology 9th Edition*. USA: WB. Saunders Company. Terjemahan oleh I. M. Nasar dan S. Cornain. 2015. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi Kesembilan. Jakarta: EGC.
- Kuntorini, E. M., dan I. Sumardi. 2008. Perkembangan Bulbus dan Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana Merr.*) serta Kandungan Senyawa Bioaktif Turunan Naftokuinon. *Disertasi*. Biologi Universitas Gadjah Mada.
- Kuntorini, E. M., dan M. D. Astuti. 2016. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana Merr.*). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 4(1), 15-22.
- Kusumo, S., 1986, *Apel (Mallus sylvestris Mill)*, CV. Yasaguna, Jakarta.
- Kwartiningsih, E., L. N. S. Mulyati. 2005. Fermentasi Sari Buah Nanas Menjadi Vinegar. *Ekulibrium*. 4(1): 8.
- Lafuente, A. G., E. Gullamon, A. Villares, M. A. Rostaagno, dan J. A. Martinez. 2009. Review Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents: Implications in Cancer and Cardiovascular Disease. *Inflammation Research*. 58:537–552.
- Laurence, D. R., dan A. L. Bacharach. 1964. *Evaluation of drug activities: pharmacometrics*. New York: Academic press.

- Lesjak, M., I. Beara, N. Simin, D. Pintac, T. Majkic, dan K. Bekvalac. 2018. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Quercetin and its Derivatives. *Journal of Functional Foods*. 40(2018): 68-75.
- Li, Y., J. Yao, C. Han, J. Yang, M. Chaudhry, S. Wang, dan Y. Yin. 2016. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*. 8(3): 167.
- Mazza, G. 2007. Anthocyanins and Heart Health. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*. 43(4) 369-374.
- Morris, C. J. 2003. Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. *Pubmed*. 225: 115-121.
- Nainggolan, O. 2009. Prevalensi dan Determinan Penyakit Rematik di Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 59(12): 588-594.
- Necas, J. dan Bartosikova, L. 2013. Carrageenan: a Review. *Veterinarni Medicina*. 58(4): 187-205.
- Nurchayawati, D. G., H. Plumeriastuti, dan L. Maslachah. 2017. Protection of Dayak Onion Tuber Extract (*Eleutherine palmifolia*) Against Kidney Histopathological Appearance of Albino Male Rat Strain Wistar Which was Induced by Alloxan. *The Veterinary Medicine International Conference*. 2017: 703.
- Periadnadi, R. A. A., dan Nurmiati. 2015. Keberadaan Mikroflora Alami dalam Fermentasi Cuka Apel Hijau (*Mallus sylvestris Mill.*) Kultivar Granny Smith. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(3):158-161.
- Pranowo, D. 2006. "Kajian Kinerja Membran Ultrafiltrasi Untuk Penjernihan Cuka Apel". *Tesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Prasetyo, D. H., & E. L. Suparyanti. 2013. Ekstrak Etanol Propolis Isolat Menurunkan Derajat Inflamasi dan Kadar Malondialdehid pada Serum Tikus Model Sepsis. *Majalah Kedokteran Bandung*. 45(3):161-166.
- Pribadi, S. B., M. Yogiartono, dan T. H. Agustantina. 2010. Perubahan Kekuatan Impak Resin Akrilik Polimerisasi Panas dalam Perendaman Larutan Cuka Apel. *Dentofasial*. 9(1): 13-20.
- Price, S. A., dan Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Puspadewi, R., P. Adirestuti, dan R. Menawati. 2013. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 1(1): 31-37.

- Rarangnu, Y., I. N. R. Intarniati, dan S. Santoso. 2013. Pengaruh Pemberian Boraks Dosis Bertingkat terhadap Perubahan Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Gaster Tikus Wistar Selama 4 Minggu Dilanjutkan 2 Minggu Tanpa Pemberian Boraks. *Disertasi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Recio, M. C., I. Andujar, dan J. L. Rios. 2012. Anti-Inflammatory Agents from Plants: Progress and Potential. *Current Medicinal Chemistry*. 19(14): 2088-2103.
- Ricciotti, E dan G. A. Fitzgerald. 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 31(5): 986-1000.
- Rubiati. 2018. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Antioksidan Kalus Tiga Kultivar Apel (*Malus domestica*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sa'adah, L. I. N., dan T. Estiasih. 2015. Karakterisasi Minuman Sari Apel Produksi Skala Mikro dan Kecil. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 374-380.
- Schellack, N. 2012). An Overview of Gastropathy Induced by Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Evidence-Based Pharmacy Practice. *SA Pharmaceutical Journal*. 79(4): 12-18.
- Setorki, M., S. Asgary, S. Haghjooyjavanmard, dan B. Nazari. 2011. Reduces Cholesterol Induced Atherosclerotic Lesions in Aorta Artery in Hypercholesterolemic Rabbits. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(9): 1518-1525.
- Shao, X., X. Wang, S. J. English, T. Desmond, P. S. Sherman, C. A. Quesada, dan M. R. Piert. 2013. Imaging of Carrageenan-Induced Local Inflammation and Adjuvant-Induced Systemic Arthritis With [11C] PBR28 PET. *Nuclear Medicine And Biology*. 40(7): 906-911.
- Silva, F. R. F., C. M. P. G. Dore, C. T. M. S, Marques, Nascimento, N. M. B., Benevides, H. A. O. Rocha, dan E. L. Leite. 2010. Anticoagulant Activity, Paw Edema and Pleurisy Induced Carrageenan: Action Of Major Types Of Commercial Carrageenans. *Carbohydrate Polymers*. 79(1): 26-33.
- Simamora, A. (2009). Flavonoid dalam Apel dan Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 15(40):1-14.
- Sinhababu, A., dan A. Banerjee. 2013. Ethno-Botanical Study of Medicinal Plants Used by Tribals of Bankura District, West Bengal, India. *J Med Plants Stud*. 1(3): 98-104.

- Sini, J. M., A. H. Yaro, L. O. Ayanwuyi, O. M. Aiyelero, S. M. Mallum, dan K. S. Gamaniel. 2010. Antinociceptive And Anti-Inflammatory Activities of the Aqueous Extract of the Root Bark of *Combretum sericeum* in Rodents. *African Journal of Biotechnology*. 9(51): 8872-8876.
- Skovenborg, E. 2009. Cider and Health - A Historic Overview. http://www.aim-digest.com/digest/pdigest/pdf/AIM_Jun_09.pdf. [Diakses pada tanggal 21 Oktober 2018].
- Smith, W. L., dan R. C. Murphy. 2015. The Eicosanoids: Cyclooxygenase, Lipoxygenase and Epoxygenase Pathways. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes: Sixth Edition*. 259-296.
- Soelarso, B., 1998, *Budidaya Apel*, Kanicius, Yogyakarta.
- Stankov, S. V. 2012. Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-inflammatory Strategies. *The Open Inflammation Journal*. 5: 1-9.
- Süleyman, H., B. Demircan, Y. Karagöz, N. Öztasan dan B. Süleyman. 2004. Anti-Inflammatory Effects of Selective COX-2 Inhibitors. *Polish Journal of Pharmacology*. 56, 775–780.
- Sultoni, R. M.. 2014. *Fermentasi Cuka Apel*. Jakarta: Intan Pariwara.
- Swami, S. B., N. J. Thakor, dan A. D. Divate. 2014. Fruit Wine Production: A Review. *Journal of Food Research and Technology*. 2(3): 93-100.
- Universitas Jember. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Jember University Press.
- Vendrame, S., dan D. K. Zacas. 2015. Anti-Inflammatory Effect of Anthocyanins Via Modulation of Nuclear Factor- κ B and Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Cascades. *Nutrition reviews*. 73(6): 348-358.
- Ventyaningsih, A. D. I., Y. Lizafni, dan Y. Rahmi. 2016. Kadar Quercetin Buah dan Jus Apel Lokal dan Impor pada Suhu Dingin. *Primordia*. 12(2): 117.
- Vyas, B. A. 2010. Phytopharmacological Action of *Pergularia daemia* with Special Reference to its Actions and Mechanism of Action as Diuretic and Anti-Inflammatory Agent. *Tesis*. Tarsadi: Pharmacy. Maliba Pharmacy College.
- Windari, T. 2017. Peranan Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Sebagai Agen Anti Tukak Lambung (Peptic ulcer) pada Tikus Wistar

(*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(1): 61-63.



LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : 1214/H25.1.11/KE/2018

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

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

EFEKTIVITAS CUKA APEL BAWANG DAYAK ANTOSIANIN® TERHADAP PERUBAHAN VOLUME EDEMA KAKI MENCIT YANG DIINDUKSI KARAGENIN

Nama Peneliti Utama : Izza Mumtazati.
Name of the principal investigator

NIM : 152010101085

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 26-12-2018
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R: *Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Mohon diperhatikan kalibrasui alat pletismometer yang digunakan.
3. Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK



Jember, 21 Desember 2018
Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.2 Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Kalimantan 1/37 Kampus Tegal Boto, Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446
Jember 68121.

REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 14 /H25.1.11/KBSI/2018

Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :

**EFEKTIVITAS CUKA APEL BAWANG DAYAK ANTOSIANIN®
TERHADAP PERUBAHAN VOLUME EDEMA KAKI MENCIT YANG
DIINDUKSI KARAGENIN**

Nama Penulis : Izza Mumtazati
NIM. : 152010101085
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "BEBAS PLAGIASI"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 3 Januari 2019
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah
Ketua,

Dr., dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002

Lampiran 3.3 Tabel Dosis Konversi

Lampiran tabel konversi dosis hewan percobaan dengan manusia (Laurence & Bacharach, 1964)

Dicari	Mencit	Tikus	Marmut	Kelinci	Kucing	Kera	Anjing	Manusia
Diketahui	20 g	200 g	400 g	1,5 kg	1,5 kg	4 kg	12 kg	70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Lampiran 3.4 Protokol Sonde

Tujuan : untuk memasukkan obat atau cuka apel bawang dayak secara per oral

Alat dan bahan :

- a. Alat : Sduit sonde
- b. Bahan : Aquadest, Na CMC, natrium diklofenak dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®]

Metode :

- a. Menarik kulit pada bagian tengkuk mencit dengan jari tangan dan ibu jari tangan kiri lalu membalikkan tubuh mencit sehingga menghadap ke kita.
- b. Pemberian obat dilakukan menggunakan jarum suntik yang ujungnya telah dimodifikasi menjadi tumpul. Ketika obat akan dimasukkan secara per oral pastikan posisi kepala mengadiah atau posisi dagu sejajar dengan tubuh dan mulut terbuka sedikit. Tekan suntik secara perlahan untuk mengeluarkan obat, jika terjadi tahanan kemungkinan adalah jarum suntik salah jalur ke jalur pernapasan, sehingga jarum suntik salah jalur ke jalur pernapasan, sehingga jarum suntik perlu diangkat sedikit untuk masuk ke jalur pencernaan.

Lampiran 3.5 Protokol Injeksi Karagenin

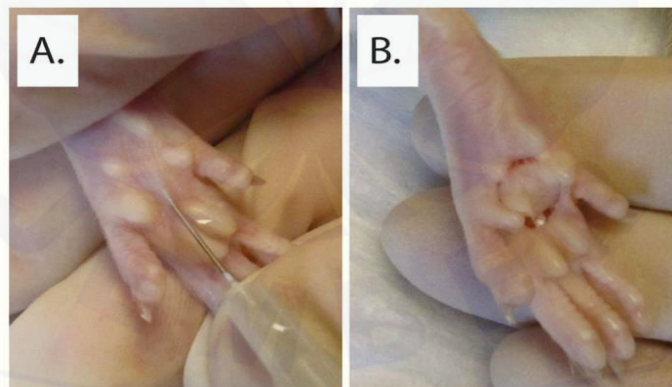
Tujuan : untuk menginduksi edema pada mencit secara subplantar

Alat dan bahan :

- a. Alat : Sduit ukuran 1 mL
- b. Bahan : Karagenin lambda 1%

Metode :

- a. Maleolus lateral kaki kiri bagian belakang hewan ditandai dengan spidol permanen untuk mempermudah pengukuran yang berulang.
- b. Pengukuran dilakukan dua kali yaitu sesaat setelah injeksi karagenin dan 3 jam setelah injeksi karagenin.
- c. Pemberian aquadest, natrium diklofenak dan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] diberikan 30 menit sebelum injeksi karagenin.
- d. Sebanyak 0,05 mL lambda karagenin 1% diinjeksikan subkutan (5°) pada daerah plantar kaki kiri belakang hewan uji menggunakan spuit berukuran 1 mL. Tempat injeksi terletak dekat dengan pusat plantar atau telapak kaki mencit.



Gambar Penginjeksian karagenin dan tempat ideal injeksi karagenin

Lampiran 3.6 Protokol Penggunaan Pletismometer

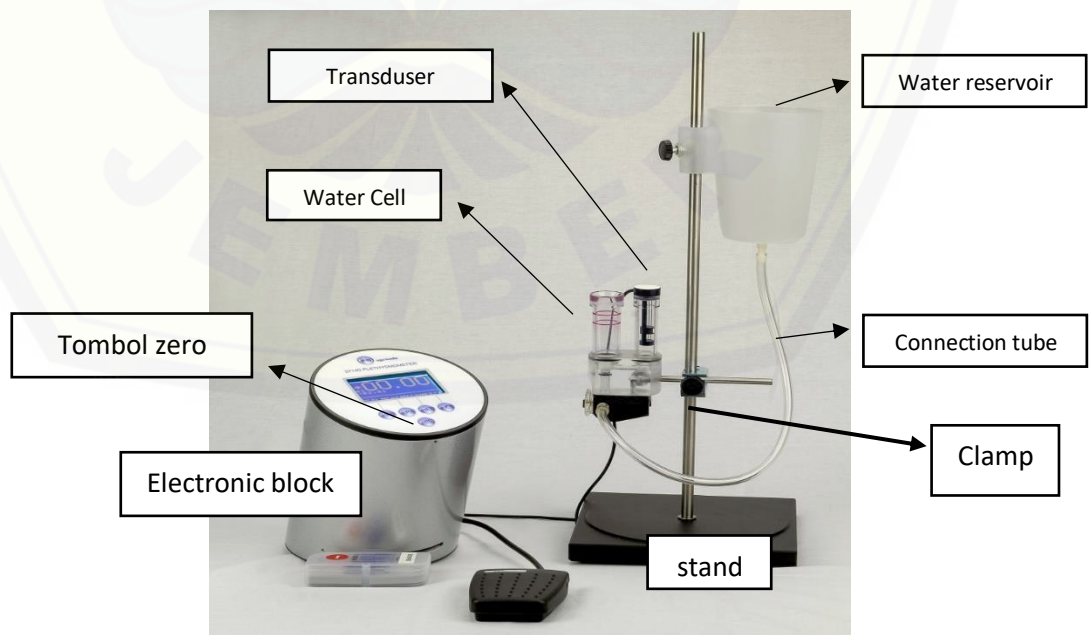
Tujuan : untuk mengukur volume edema

Alat dan bahan :

- a. Alat : Pletismometer
- b. Bahan : Telapak kaki hewan coba (Mencit)

Metode :

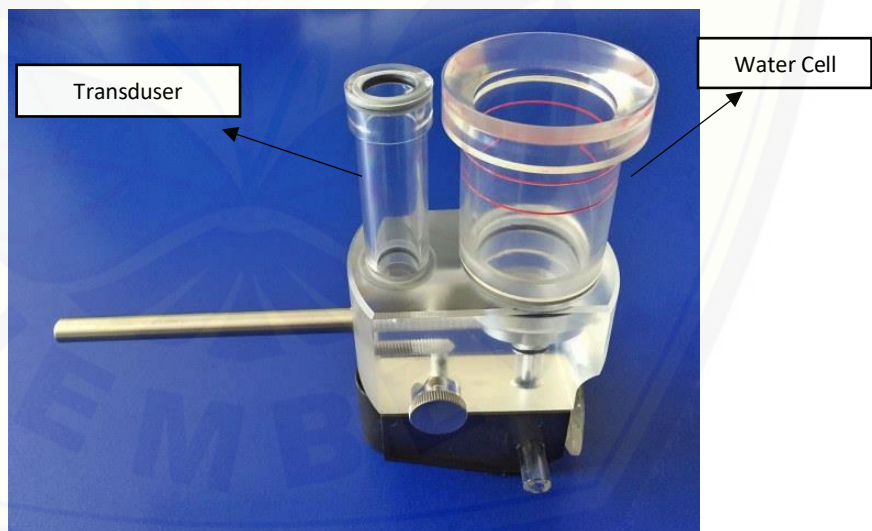
- a. Maleolus lateral kaki kiri bagian belakang hewan ditandai dengan spidol permanen untuk mempermudah pengukuran yang berulang.
- b. Menekan tombol *zero*
- c. Memasukkan kaki hewan coba ke dalam *water cell* dan mengamati posisi kaki dalam sel, hingga batas yang ada dalam sel segaris dengan maleolus lateral yang sudah ditandai sebelumnya.
- d. Menekan sakelar pedal supaya angka yang terlihat pada LCD pletismometer berhenti.
- e. Mencatat nilai yang terekam dalam LCD pletismometer.
- f. Menekan tombol “zero” setiap ingin mengukur volume kaki mencit yang baru



Gambar Pletismometer Digital dan Bagiannya



Gambar *Electronic Block* Pletismometer



Gambar *Transduser* dan *Water Cell* Pletismometer

Lampiran 4.1 Hasil Pengukuran Volume Edema

Kelompok	Volume Edema (ml)				
	Awal	Sesaat Setelah Injeksi Karagenin	1 Jam Setelah Injeksi Karagenin	2 Jam Setelah Injeksi Karagenin	3 Jam Setelah Injeksi Karagenin
Kelompok Kontrol Negatif					
Mencit 1	00.17	00.23	00.28	00.32	00.36
Mencit 2	00.14	00.20	00.29	00.33	00.36
Mencit 3	00.12	00.17	00.31	00.37	00.40
Mencit 4	00.11	00.16	00.30	00.34	00.39
Mencit 5	00.17	00.23	00.29	00.33	00.36
Rata-rata	00.14	00.19	00.29	00.33	00.37
Kelompok Kontrol Positif					
Mencit 1	00.12	00.18	00.19	00.22	00.22
Mencit 2	00.14	00.19	00.21	00.24	00.24
Mencit 3	00.14	00.20	00.23	00.25	00.25
Mencit 4	00.18	00.23	00.25	00.27	00.25
Mencit 5	00.13	00.18	00.23	00.26	00.26
Rata-rata	00.14	00.19	00.22	00.25	00.24
Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin 0.069 M					
Mencit 1	00.15	00.22	00.29	00.30	00.31
Mencit 2	00.14	00.20	00.20	00.25	00.35
Mencit 3	00.14	00.19	00.23	00.25	00.28
Mencit 4	00.17	00.23	00.33	00.31	00.40
Mencit 5	00.12	00.18	00.25	00.27	00.40
Rata-rata	00.14	00.20	00.26	00.27	00.34
Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin 0.130 M					
Mencit 1	00.17	00.23	00.30	00.28	00.38
Mencit 2	00.16	00.21	00.25	00.30	00.37
Mencit 3	00.16	00.20	00.25	00.30	00.38
Mencit 4	00.21	00.26	00.25	00.30	00.28
Mencit 5	00.14	00.19	00.30	00.24	00.26
Rata-rata	00.17	00.21	00.27	00.28	00.33
Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin 0.230 M					
Mencit 1	00.15	00.17	00.22	00.26	00.28
Mencit 2	00.17	00.24	00.23	00.25	00.31
Mencit 3	00.17	00.24	00.26	00.28	00.35

Mencit 4	00.13	00.18	00.23	00.27	00.30
Mencit 5	00.22	00.28	00.24	00.30	00.29
Rata-rata	00.17	00.22	00.23	00.27	00.30



Lampiran 4.2 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas Volume Edema pada Jam Ketiga Setelah Injeksi Karagenin

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tigajam	1,00	,364	5	,029	,753	5	,032
	2,00	,254	5	,200*	,914	5	,492
	3,00	,234	5	,200*	,897	5	,394
	4,00	,329	5	,081	,775	5	,050
	5,00	,241	5	,200*	,903	5	,427

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

Uji Homogenitas Volume Edema pada Jam Ketiga Setelah Injeksi Karagenin

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
VOLUME	Based on Mean	6,433	4	20	,002
	Based on Median	1,534	4	20	,230
	Based on Median and with adjusted df	1,534	4	9,105	,271
	Based on trimmed mean	5,972	4	20	,002

Transformasi Data Volume Edema pada Jam Ketiga Setelah Injeksi Karagenin

Kelompok	Volume Edema (x)	Transformasi Data Volume Edema ((Log10(x)))
1	0,36	-0,44
1	0,36	-0,44
1	0,40	-0,40
1	0,39	-0,41
1	0,36	-0,44
2	0,22	-0,66
2	0,24	-0,62
2	0,25	-0,60
2	0,25	-0,60
2	0,26	-0,59
3	0,31	-0,51
3	0,35	-0,46
3	0,28	-0,55
3	0,40	-0,40
3	0,40	-0,40
4	0,38	-0,42
4	0,37	-0,43
4	0,38	-0,42
4	0,28	-0,55
4	0,26	-0,59
5	0,28	-0,55
5	0,31	-0,51
5	0,35	-0,46
5	0,30	-0,52
5	0,29	-0,54

Rata Rata Volume Edema Setelah Transformasi Data

Volume Edema Jam Ketiga Setelah Injeksi Karagenin	Rerata Geometrik	IK95% (Interval Kepercayaan 95%)
Kelompok Kontrol Positif	0,37	0,35-0,40
Kelompok Kontrol Negatif	0,24	0,22-0,26
Kelompok Perlakuan 1	0,34	0,28-0,42
Kelompok Perlakuan 2	0,33	0,26-0,41
Kelompok Perlakuan 3	0,30	0,27-0,34

Uji Normalitas Data Setelah Dilakukan Transformasi

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
logtigaj am	1,00	,364	5	,029	,751	5	,030
	2,00	,258	5	,200*	,902	5	,423
	3,00	,228	5	,200*	,901	5	,414
	4,00	,334	5	,071	,777	5	,052
	5,00	,226	5	,200*	,921	5	,539

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

tigajam	
Kruskal-Wallis H	14,686
df	4
Asymp. Sig.	,005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Negatif dengan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,230 M

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	1,00	5	8,00	40,00
	5,00	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,643
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Negatif dengan Kontrol Positif

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	1,00	5	8,00	40,00
	2,00	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,652
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

- a. Grouping Variable: kelompok
- b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Negatif dengan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,069 M

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	1,00	5	6,20	31,00
	3,00	5	4,80	24,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	24,000
Z	-,750
Asymp. Sig. (2-tailed)	,454
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,548 ^b

- a. Grouping Variable: kelompok
- b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Negatif dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® Konsentrasi 0,130 M

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	1,00	5	6,20	31,00
	4,00	5	4,80	24,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	24,000
Z	-,742
Asymp. Sig. (2-tailed)	,458
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,548 ^b

- a. Grouping Variable: kelompok
- b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Positif dengan Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® Konsentrasi 0,069 M

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	2,00	5	3,00	15,00
	3,00	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,627
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

- a. Grouping Variable: kelompok
- b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Positif dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® Konsentrasi 0,130 M

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	2,00	5	3,10	15,50
	4,00	5	7,90	39,50
	Total	10		

Test Statistics^a

	tigajam
Mann-Whitney U	,500
Wilcoxon W	15,500
Z	-2,530
Asymp. Sig. (2-tailed)	,011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® Konsentrasi 0,069 M dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin® Konsentrasi 0,130 M

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	3,00	5	6,10	30,50
	4,00	5	4,90	24,50
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	9,500
Wilcoxon W	24,500
Z	-,632
Asymp. Sig. (2-tailed)	,527
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,548 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Kontrol Positif dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,230 M

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	2,00	5	3,00	15,00
	5,00	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics^a

tigajam	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,619
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,069 M dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,230 M

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	3,00	5	6,70	33,50
	5,00	5	4,30	21,50
	Total	10		

Test Statistics^a

	tigajam
Mann-Whitney U	6,500
Wilcoxon W	21,500
Z	-1,269
Asymp. Sig. (2-tailed)	,205
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,222 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney Antara Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,130 M dengan Kelompok Cuka Apel Bawang Dayak Antosianin[®] Konsentrasi 0,230 M

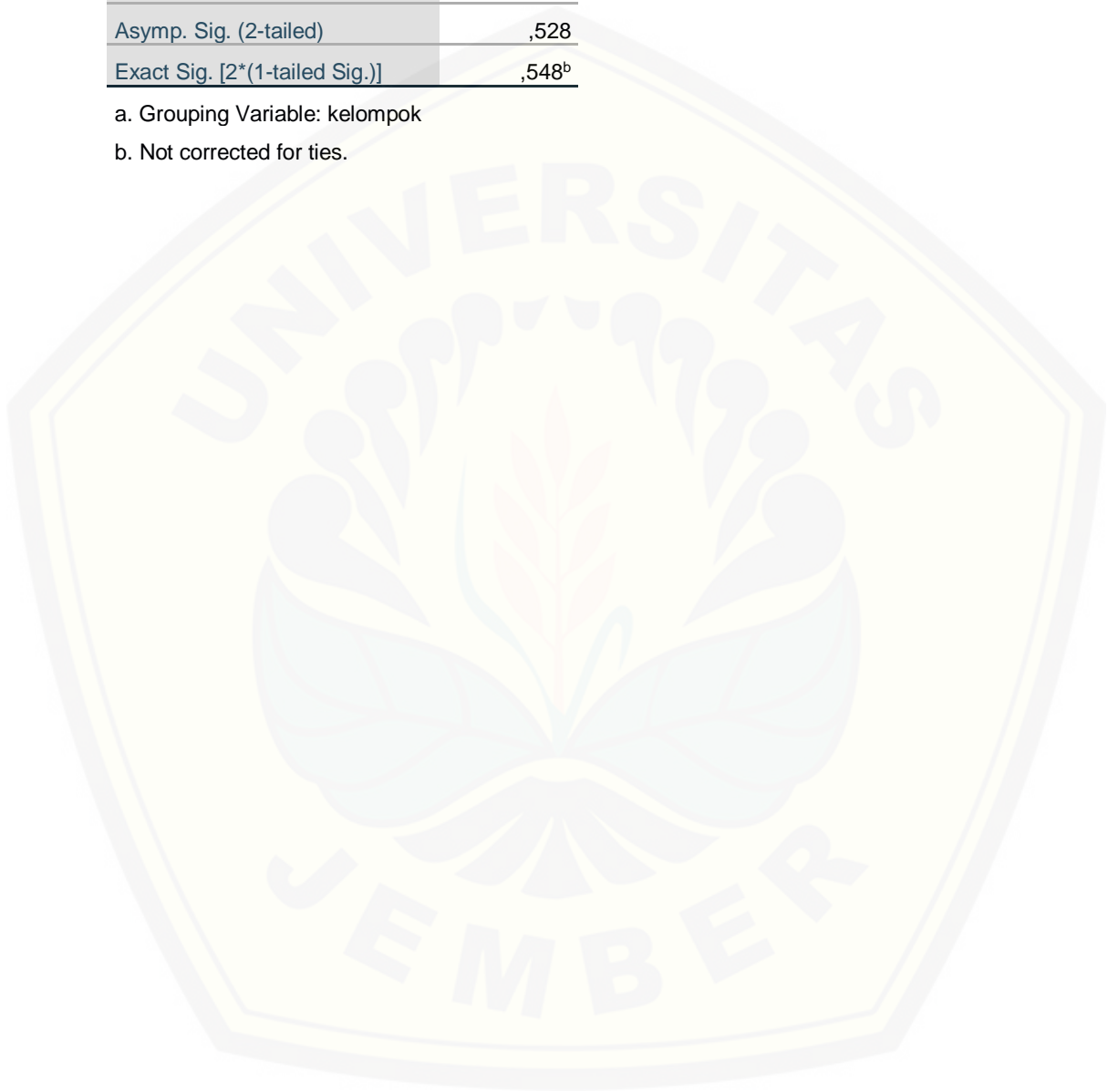
Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tigajam	4,00	5	6,10	30,50
	5,00	5	4,90	24,50
	Total	10		

Test Statistics^a

	tigajam
Mann-Whitney U	9,500
Wilcoxon W	24,500
Z	-,631
Asymp. Sig. (2-tailed)	,528
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,548 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.



Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian



Cuka Apel Bawang Dayak
Antosianin®



Adaptasi Hewan Coba



Volume Kaki Mencit yang
dichelupkan dalam Tabung
Pletismometer



Pemberian Perlakuan secara
Peroral (sonde)



Penginjeksian Karagenin Subplantar



Pletismometer Digital



LCD Pletismometer