

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Hasil Ekstraksi Ciplukan dan Skrining Fitokimia

Proses pembuatan ekstrak etanol ciplukan dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Universitas Padjajaran sedangkan proses skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Islam Bandung. Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak etanol ciplukan positif mengandung flavonoid, tanin dan quinon. Pada gambar 4.1 tampak cincin gelap pada larutan ekstrak etanol ciplukan yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid.



Gambar 4. 1 Cincin Flavonoid

##### 4.1.2 Pengukuran Volume Telapak Kaki Tikus

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Universitas Padjajaran pada bulan Juni 2019. Hasil penelitian telah dihitung rata-rata serta standar deviasinya dan ditampilkan dalam tabel 4.1.

**Tabel 4. 1 Hasil Pengukuran Volume Telapak Kaki Tikus**

Kelompok Tikus		Volume Telapak Kaki Tikus ( $\mu\text{L}$ )							
		PA	SIK	Jam Ke-					
				1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	Rata-Rata	56,0	80,0	108,0	114,0	122,0	134,0	128,0	132,0
	Standar Deviasi	13,4	12,3	16,4	18,2	13,0	8,9	13,0	16,4
Kontrol positif	Rata-Rata	82,0	96,0	124,0	122,0	116,0	132,0	114,0	104,0
	Standar Deviasi	8,4	8,9	11,4	13,0	13,4	8,4	11,4	5,5
Uji kesatu	Rata-Rata	70,0	96,0	124,0	124,0	122,0	128,0	120,0	104,0
	Standar Deviasi	10,0	13,4	16,7	15,2	14,8	19,2	12,3	8,9
Uji kedua	Rata-Rata	76,0	90,0	112,0	114,0	118,0	124,0	110,0	100,0
	Standar Deviasi	5,5	7,1	14,8	15,2	16,4	16,7	12,3	12,3
Uji ketiga	Rata-Rata	64,0	82,0	100,0	106,0	114,0	124,0	110,0	102,0
	Standar Deviasi	11,4	8,4	7,1	5,5	11,4	8,94	7,2	4,5

Keterangan:

PA : Pengukuran Awal

SIK : Setelah Induksi Karagenan

Kontrol positif : Natrium diklofenak 27 mg/200gr BB

Uji kesatu : Dosis 3,6 mg/200 grBB

Uji kedua : Dosis 5,4 mg/200 grBB

Uji ketiga : Dosis 7,2 mg/200 grBB

Pada jam ke-4 volume telapak kaki tikus dari semua kelompok berada pada titik puncak edema. Volume telapak kaki tikus kelompok kontrol positif, uji kesatu, uji kedua, dan uji ketiga mengalami penurunan pada jam ke-6. Selisih perubahan volume telapak kaki tikus pada pengukuran awal dengan volume telapak kaki tikus di setiap jam pengukuran ditampilkan dalam tabel 4.2.

**Tabel 4. 2 Hasil Selisih Pengukuran Awal Volume Telapak Kaki Tikus dengan Volume pada Setiap Jam Pengukuran**

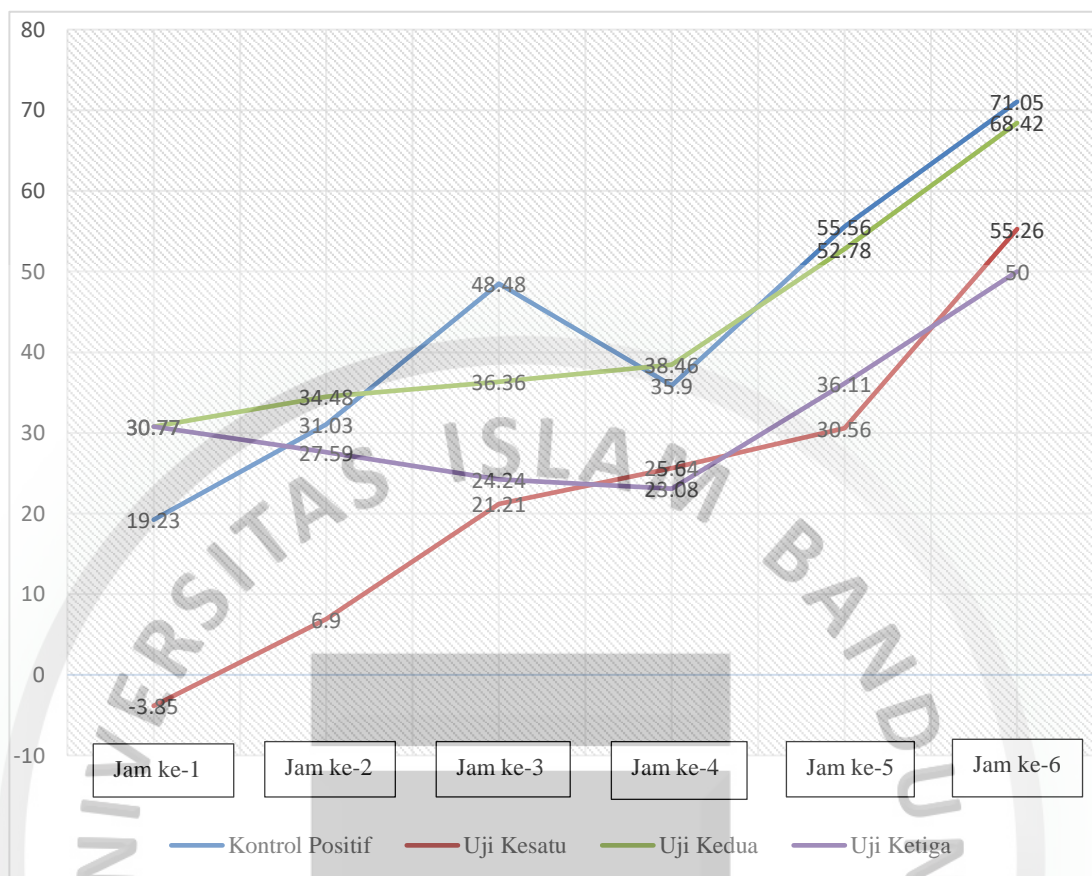
Kelompok Tikus	Selisih Volume Rata-Rata Telapak Kaki Tikus ( $\mu\text{L}$ )						
	Jam Ke-						
	SIK	1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	24	52	58	66	78	72	76
Kontrol positif	14	42	40	34	50	32	22
Uji kesatu	26	54	54	52	58	50	34
Uji kedua	14	36	38	42	48	34	24
Uji Ketiga	18	36	42	50	60	46	38

Keterangan:

- SIK : Setelah Induksi Karagenan  
 Kontrol positif : Natrium diklofenak 27 mg/200gr BB  
 Uji kesatu : Dosis 3,6 mg/200 grBB  
 Uji kedua : Dosis 5,4 mg/200 grBB  
 Uji ketiga : Dosis 7,2 mg/200 grBB

Perubahan volume rata-rata telapak kaki tikus pada pengukuran awal hingga jam ke-6 menunjukkan terdapat peningkatan paling tinggi pada kelompok tikus kontrol negatif dan paling rendah pada kelompok uji kedua. Volume telapak kaki tikus pada kelompok kontrol positif dan kelompok uji mengalami penurunan setelah puncak edema pada jam ke-4, sedangkan terjadi peningkatan volume pada kelompok kontrol negatif. Pada jam keenam, volume rata-rata yang mendekati kelompok tikus yang diberi natrium diklofenak adalah kelompok uji kedua dengan dosis 5,4 mg/200 grBB. Terdapat perbedaan volume edema sebanyak 2  $\mu\text{L}$  lebih tinggi pada kelompok uji kedua dibanding natrium diklofenak.

Berdasarkan tabel 4.1 dapat dihitung persentase penghambatan edema rata-rata pada telapak kaki tikus dengan hasil ditampilkan pada gambar 4.2.



**Gambar 4. 2 Grafik Persentase Rata-Rata Penghambatan Edema Telapak Kaki Tikus**

Berdasarkan gambar 4.2 pada jam pertama pengukuran, persentase penghambatan tertinggi yaitu dari kelompok uji kedua dan uji ketiga diikuti kelompok kontrol positif dan uji kesatu. Ketika terjadi puncak edema pada jam keempat, persentase penghambatan edema kontrol positif dan uji ketiga mengalami penurunan, setelah itu terjadi peningkatan tajam persentase penghambatan edema pada kelompok tikus kontrol positif, uji kedua dan uji ketiga, sedangkan kelompok uji kesatu mengalami peningkatan tajam setelah jam kelima. Pada jam keenam kelompok kontrol positif menunjukkan persentase penghambatan edema paling tinggi diikuti dengan kelompok uji kedua, uji kesatu, dan uji ketiga. Apabila dibandingkan dengan kontrol positif, persentase penghambatan edema rata-rata

kelompok uji kesatu lebih rendah 16%, uji kedua lebih rendah 3% dan uji ketiga lebih rendah 21%.

#### 4.1.3 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Volume Telapak Kaki Tikus

Data hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dengan dasar bahwa data terdistribusi normal serta homogen apabila nilai  $P > 0,05$  dan ditampilkan dalam tabel 4.3.

**Tabel 4. 3 Uji Normalitas Volume Telapak Kaki Tikus**

Kelompok	Nilai P pada Jam Ke-					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol negatif	0,006	0,254	0,421	0,000	0,021	0,490
Kontrol positif	0,814	0,421	0,201	0,314	0,814	0,006
Uji kesatu	0,314	0,492	0,777	0,928	0,146	0,046
Uji kedua	0,777	0,492	0,054	0,314	0,146	0,146
Uji ketiga	0,325	0,006	0,814	0,046	0,325	0,000

Pada setiap jam pengukuran terdapat data yang tidak normal kecuali pada pengukuran di jam ketiga seluruh data dari setiap kelompok terdistribusi normal.

Uji Homogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *Levene* yang ditampilkan dalam tabel 4.4.

**Tabel 4. 4 Uji Homogenitas Volume Telapak Kaki Tikus**

Acuan	Nilai P pada Jam Ke-					
	1	2	3	4	5	6
Berdasarkan rata-rata	0,183	0,225	0,987	0,242	0,769	0,044
Berdasarkan median	0,754	0,648	0,996	0,398	0,938	0,431
Berdasarkan median yang disesuaikan dengan df	0,754	0,650	0,996	0,402	0,937	0,442
Berdasarkan rata-rata yang dipangkas	0,182	0,252	0,991	0,237	0,779	0,044

Hasil uji statistik *Levene* menunjukkan bahwa seluruh data terdistribusi secara homogen kecuali pada pengukuran di jam keenam.

#### 4.1.4 Perbedaan Volume Telapak Kaki Tikus pada Setiap Kelompok

Data yang terdistribusi normal dan homogen hanya terdapat pada pengukuran di jam ke-3, sehingga selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova*. Pengukuran pada jam ke-1, ke-2, ke-4, ke-5, dan ke-6 menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Nilai P yang dihasilkan dari uji *One Way Anova* dan *Kruskal Wallis* ditampilkan dalam tabel 4.5.

**Tabel 4. 5 Perbedaan Volume Telapak Kaki Tikus pada Setiap Kelompok**

Pengukuran pada Jam Ke-	P*	P**
1		0,068
2		0,260
3	0,855	
4		0,651
5		0,100
6		0,022

Keterangan:

\* : Nilai P dari uji *One Way Anova*

\*\* : Nilai P dari uji *Kruskal Wallis*

Hasil uji *One Way Anova* pada jam ketiga dan uji *Kruskal Wallis* pada jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4, dan jam ke-5 dengan nilai  $P > 0,05$  menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna. Uji *Kruskal Wallis* pada jam ke-6 dengan nilai  $P < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna volume telapak kaki tikus.

Dilakukan uji *Man Whitney* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok yang ditampilkan pada tabel 4.6.

**Tabel 4.6 Perbedaan Volume Telapak Kaki Tikus Setiap Kelompok pada Pengukuran Jam ke-6**

Kelompok		P
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,013
	Uji kesatu	0,017
	Uji kedua	0,014
	Uji ketiga	0,000
Kontrol positif	Kontrol negatif	0,013
	Uji kesatu	0,082
	Uji kedua	0,073
	Uji ketiga	0,051
Uji kesatu	Kontrol negatif	0,017
	Kontrol positif	0,082
	Uji kedua	0,057
	Uji ketiga	0,049
Uji kedua	Kontrol negatif	0,014
	Kontrol positif	0,073
	Uji kesatu	0,057
	Uji ketiga	0,091
Uji ketiga	Kontrol negatif	0,000
	Kontrol positif	0,051
	Uji kesatu	0,049
	Uji kedua	0,091

Keterangan:

Uji *Man Whitney* dengan nilai P bermakna apabila  $\leq 0,05$

Hasil dari uji *Man Whitney* pada tabel 4.6 di jam ke-6 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, uji kesatu, uji kedua, dan uji ketiga menunjukkan ada perbedaan yang bermakna. Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok uji, serta perbandingan antarkelompok uji menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna.

#### 4.1.5 Perbedaan Persentase Penghambatan Edema Telapak Kaki Tikus

Hasil persentase penghambatan edema pada telapak kaki tikus diuji dengan menggunakan uji normalitas *Saphiro Wilk* dan hasilnya ditampilkan dalam tabel 4.7.

**Tabel 4. 7 Uji Normalitas Persentase Penghambatan Edema**

	<b>Kelompok</b>	<b>P</b>
Persentase penghambatan edema	Kontrol Positif	0.976
	Uji Kesatu	0.904
	Uji Kedua	0.161
	Uji Ketiga	0.237

Pada semua kelompok nilai  $P > 0,05$  yang berarti data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene* dan ditampilkan dalam tabel 4.8.

**Tabel 4. 8 Uji Homogenitas Penghambatan Edema**

	<b>Acuan</b>	<b>P</b>
Persentase penghambatan edema	Berdasarkan rata-rata	0.473
	Berdasarkan median	0.506
	Berdasarkan median yang disesuaikan dengan df	0.508
	Berdasarkan rata-rata yang dipangkas	0.464

Hasil uji *Levene* pada table 4.8 menunjukkan bahwa data terdistribusi homogen. Data persentase penghambatan edema terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan didapatkan nilai  $P = 0,107$  ( $P < 0,05$ ) yang berarti tidak ada perbedaan bermakna dari persentase penghambatan edema rata-rata pada kelompok kontrol positif dengan kelompok uji kesatu, uji kedua dan uji ketiga.

## 4.2 Pembahasan

Induksi inflamasi dilakukan dengan menginjeksikan karagenan pada telapak kaki tikus. Pada tabel 4.1 volume telapak kaki tikus seketika meningkat setelah diinduksi karagenan. Pengukuran volume edema dilakukan dengan mencelupkan telapak kaki tikus pada bagian tabung dari pletismometer. Puncak



edema terjadi pada jam ke-4 ketika karagenan memicu pengeluaran prostaglandin secara maksimal. Proses tersebut terdiri dari 3 fase, pada fase primer terjadi mediasi oleh histamin dan 5-hydroxytryptamine, diikuti dengan fase sekunder yang dimediasi oleh kinin memicu pengaktifan enzim siklooksigenase dan fase tersier adanya produksi prostaglandin secara lokal. Prostaglandin meningkatkan permeabilitas vaskular sehingga terjadi ekstrasvasasi cairan plasma ke jaringan yang mengakibatkan terbentuknya edema. Prekursor prostaglandin merupakan turunan dari asam arakidonat yang diaktifkan oleh enzim siklooksigenase.

Pada tabel 4.1 juga memperlihatkan penurunan volume edema telapak kaki tikus di jam ke-5 pada kelompok yang diberi natrium diklofenak dan bahan uji berupa ekstrak etanol ciplukan. Hal ini terjadi karena adanya penghambatan enzim siklooksigenase yang dilakukan baik oleh natrium diklofenak maupun ekstrak etanol ciplukan.

Hasil uji data volume telapak kaki tikus menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada jam ke-6. Nilai signifikansi dari uji non-parametrik *Kruskal Wallis* dengan taraf kepercayaan 95% pada jam ke-6 yaitu 0,02 ( $P < 0,05$ ) yang berarti terdapat perubahan volume edema yang signifikan antarkelompok. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol ciplukan dapat memberikan pengaruh antiinflamasi terdapat volume edema telapak kaki tikus yang diinduksi karagenan.

Pada hasil penghitungan persentase penghambatan edema, nilai P yang didapat adalah 0,107 yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dan kelompok uji. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol baik dosis 3,6 mg/200 grBB, 5,4 mg/200 grBB, maupun 7,2 mg/200 grBB memiliki efek yang sama dengan natrium diklofenak, yaitu sebagai

antiinflamasi. Berdasarkan gambar 4.2, ketiga kelompok uji yang diberi ekstrak etanol ciplukan menunjukkan persentase penghambatan edema yang meningkat dengan persentase penghambatan edema tertinggi yaitu kelompok uji kedua yang diberi ekstrak etanol ciplukan dengan dosis 5,4 mg/200 grBB tikus.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Anes dan Emmanuel yang menunjukkan adanya efek antiinflamasi pada ekstrak methanol ciplukan dengan dosis 400 mg/kg. Persentase penghambatan edema yang dihasilkan pada penelitian Anes dan Emmanuel sebanyak 62,7%. Pada penelitian ini ekstrak etanol ciplukan memberikan pengaruh terhadap penghambatan edema dengan persentase tertinggi sebanyak 68,4% yaitu pada kelompok yang diberi dosis 300 mg/kg atau 5,4 mg/200 grBB. Penelitian ini menunjukkan pada dosis yang lebih rendah dapat memberikan persentase penghambatan edema yang lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Anes dan Emmanuel. Hal ini dapat diakibatkan karena perbedaan pelarut yang digunakan sehingga pengikatan flavonoid pada penelitian ini lebih optimal.<sup>6</sup>

Penelitian mengenai ekstrak air dari *Physalis angulata* (ciplukan) menunjukkan efek antiinflamasi dan immunosupresan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Ekstrak air ciplukan menghambat produksi *nitric oxide* yang mencegahnya untuk berdifusi ke dalam *vascular smooth muscle*, mengaktifkan guanilat siklase yang akan mendilatasi pembuluh darah dan meningkatkan volume eksudat.<sup>21</sup> Meskipun terdapat perbedaan pelarut yang digunakan untuk mengikat flavonoid, namun ekstrak ciplukan tetap menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi.

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat di dalam ciplukan dan terbentuk melalui metabolisme asam lemak. Flavonoid memiliki

banyak manfaat seperti dapat membunuh bakteri dan dapat menghambat xantine oxidase, lipooksigenase, aldose reduktase serta enzim siklooksigenase. Peran flavonoid dalam menghambat enzim siklooksigenase dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi. Flavonoid akan memutus rantai inflamasi pada penghambatan enzim siklooksigenase sehingga prostaglandin tidak akan terbentuk. Prostaglandin merupakan suatu zat kimia yang dapat menginduksi terbentuknya tanda-tanda inflamasi seperti eritema, edema, panas dan nyeri. Apabila prostaglandin tidak terbentuk maka tidak akan menimbulkan inflamasi. Flavonoid dari ciplukan bersifat selektif COX-2, dapat mencegah peningkatan permeabilitas vaskular sehingga edema dapat dihambat serta dapat mengurangi efek ulserasi pada saluran pencernaan dan perdarahan.

Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok *phenolic* yang berperan sebagai antiinflamasi. Struktur modifikasi dari flavonoid contohnya quercetin dan turunannya berpotensi untuk menghambat sintesis dari mediator-mediator inflamasi seperti interleukin 1-B, interleukin 6, interleukin 8, TNF- $\alpha$  dan prostaglandin.<sup>22</sup>

Pada penelitian bio molekular, *marker* yang digunakan dalam pengujian antiinflamasi adalah NF- $\kappa$ B. Terdapat penelitian yang menunjukkan kandungan *physalin E* (jenis *seco-steroid* yang dapat membentuk flavonoid melalui metabolisme asam lemak pada tanaman *physalis* (ciplukan)) dapat menghambat faktor transkripsi NF- $\kappa$ B yang berperan penting dalam proses inflamasi. Ikatan NF- $\kappa$ B dengan TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  dapat menginduksi transkripsi gen pro-inflamasi, sehingga penghambatan NF- $\kappa$ B dapat mencegah terjadinya inflamasi. Penelitian

tersebut semakin mendukung bahwa volume edema yang berkurang pada kelompok uji berasal dari kandungan flavonoid ekstrak ciplukan.<sup>23</sup>

Ciplukan (*Physalis angulata*) memiliki zat aktif *Physalin* 9 dan 10 yang berperan sebagai antiproliferatif dan *Physalin* 1, 3, 4, 9, 10, 13, 14, 16 yang berperan sebagai antiinflamasi yang bekerja dengan menghambat produksi *nitrit oxide*. *Nitrit oxide* dapat memediasi kerusakan DNA dan membran sel sehingga dapat memicu aktivasi *nuclear pro-inflammatory cytokine* yang dapat mengaktifasi dan melakukan rekrutmen sel-sel inflamasi. Apabila produksi NO dihambat maka proses inflamasi dapat dihentikan.<sup>24</sup>

#### 4.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini meliputi:

1. Belum banyak penelitian serupa yang menggunakan ekstrak etanol sebagai zat pelarut sehingga tidak banyak referensi yang didapatkan.
2. Pada penelitian ini tidak dilakukan uji biomolekular untuk melihat inhibisi *marker* dari inflamasi, karena keterbatasan waktu dan biaya.