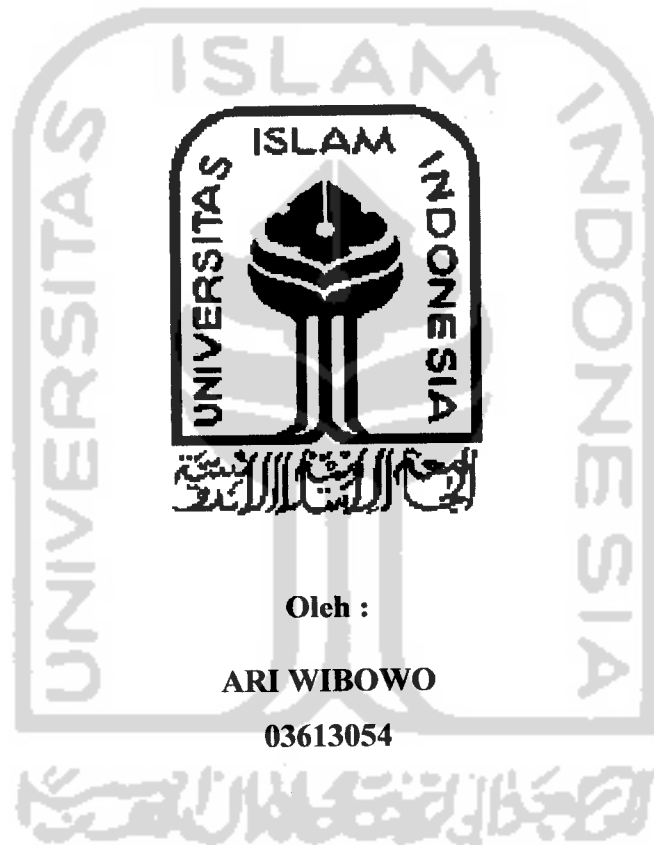


**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP
INDEKS ARTHRITIS DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
SEL SINOVIAL PADA MODEL ARTHRITIS RHEUMATOID
TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA (*Complete Freund's
Adjuvant*)**

SKRIPSI



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
APRIL 2007**

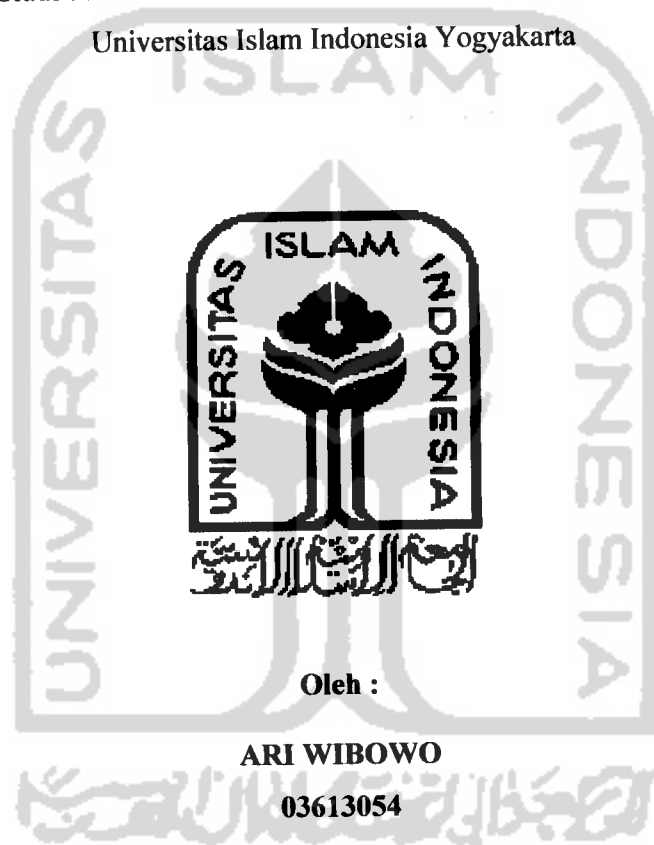
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP
INDEKS ARTHRITIS DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
SEL SINOVIAL PADA MODEL ARTHRITIS RHEUMATOID
TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA (*Complete Freund's
Adjuvant*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi persyaratan mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

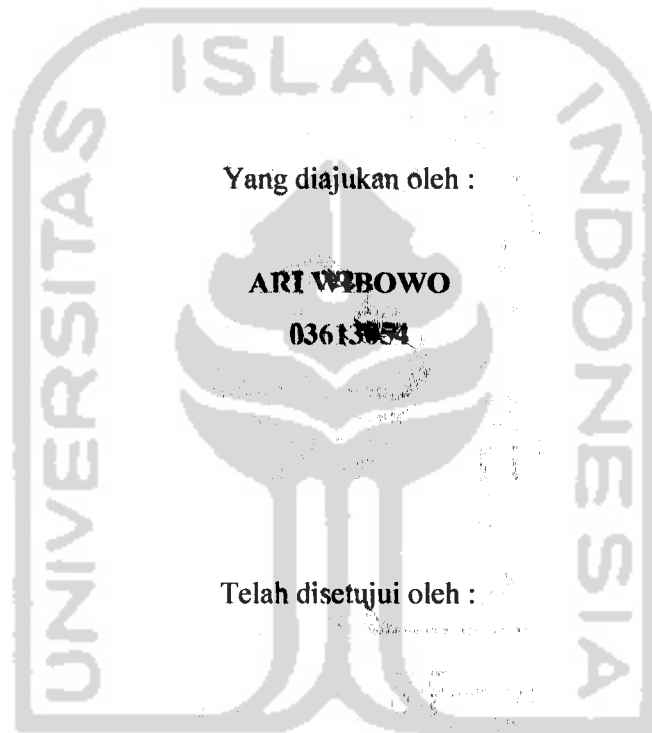
ARI WIBOWO

03613054

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
APRIL 2007**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP
INDEKS ARTHRITIS DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
SEL SINOVIAL PADA MODEL ARTHRITIS RHEUMATOID
TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA (*Complete Freund's
Adjuvant*)**



Yang diajukan oleh :

ARI WIBOWO

03613051

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Endang Darmawan'.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Zullies Ikawati'.

Endang Darmawan, M.Si., Apt.

Zullies Ikawati, Dr., Apt.

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP
INDEKS ARTHRITIS DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
SEL SINOVIAL PADA MODEL ARTHRITIS RHEUMATOID
TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA (*Complete Freund's
Adjuvant*)**

Oleh :

ARI WIBOWO

03613054

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

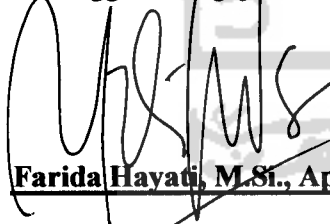
Tanggal : 11 April 2007

Ketua Penguji,



Endang Darmawan, M.Si., Apt.

Anggota Penguji,



Farida Hayati, M.Si., Apt.


Anggota Penguji,



Zullies Ikawati, Dr., Apt.

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



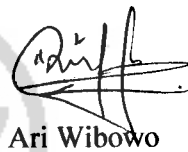
Endang Darmawan, M.Si., Apt.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, April 2007

Penulis,



Ari Wibowo



PERSEMBAHAN



Mahakuasa atas segala sesuatu, yang menjadikan mati dan hidup, untuk menguji siapa diantara kalian yang terbaik amalnya. Dan Dia maha perkasa lagi maha pengampun. Yang telah menciptakan tujuh lapis langit ..."

Al-Mulk : 01-03

"Bertasbih kepada ALLAH apa saja yang ada dilangit dan di bumi, dan Dialah Yang maha perkasa dan maha bijaksana"

Ash-shaff : 01

Ketahuilah, apapun yang menjadikanmu tergetar, itulah Yang Terbaik untukmu ! Dan karena itulah, Qalbu seorang pecinta-Nya lebih besar daripada Singgasana-Nya. - *Jalaludin Rumi*

Aku mengamati semua sahabat, dan tidak menemukan sahabat yang lebih baik daripada menjaga lidah. Saya memikirkan tentang semua pakaian, tetapi tidak menemukan pakaian yang lebih baik daripada takwa. Aku merenungkan tentang segala jenis amal baik, namun tidak mendapatkan yang lebih baik daripada memberi nasihat baik. Aku mencari segala bentuk rezki, tapi tidak menemukan rezki yang lebih baik daripada sabar. - *Khalifah 'Umar*

Ku persembahkan karya ini untuk Sang Rabbul 'Izatti, semoga terhitung sebagai amal ibadah ku Ya ALLAH...

Ayah dan Ibuku tercinta...

Terimakasih atas doa, nasehat, dukungan, kesabaran, dan perhatian selama ini

Kakakku tersayang...

Atas pengertian, keceriaan, kesabaran, kedewasaan, selama ini

**Seluruh Keluarga besar-ku
Terimakasih Atas semua dukungan yang diberikan**

**Sahabat-sahabatku.....
(thanks tuk doa dan masa2 yang indah)**

**Teman-teman Pharmacy'03 ayo semangat!! Chay!!
Selamat dan sukses untuk semua**

**semua orang yang telah dan akan sangat berarti dalam kehidupanku...
...Jazakumullah Bi Ahsanil Jazaa...**

Almamater tercinta Universitas Islam Indonesia

By: de' Vee-Cha



KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum wr. wb.

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP INDEKS ARTHRITIS DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL SINOVIAL PADA MODEL ARTHRITIS RHEUMATOID TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA (*Complete Freund's Adjuvant*).

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah memberikan bantuan, dorongan, serta pengarahan untuk penulis dalam penyusunan tugas akhir sebagai berikut :

1. Bapak Endang Darmawan, M.Si, Apt., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia dan sebagai dosen pembimbing utama atas waktu, saran dan sumbangan pemikiran dalam membimbing penulis dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Zulies Ikawati, Dr., Apt., selaku dosen pembimbing pendamping atas waktu, saran dan masukan yang telah diberikan dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Farida Hayati, M.Si, Apt., selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Prof. Drh. Kurniasih, MVSc., PhD., selaku dosen Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada atas bantuannya dalam pembacaan preparat hasil histopatologi.
5. Kedua orang tuaku tercinta yang telah membesarkan, mendidik, membimbing, menyayangi, dan mendoakan.
6. Kakak dan keluargaku yang selalu mendoakan.

7. Bapak Sumarno, selaku Laboran Laboratorium Farmakologi Universitas Islam Indonesia atas dukungan, bantuan dan bimbingan praktek penelitiannya.
8. Bapak Riyanto dan Mas Hartanto, selaku laboran Laboratorium Biologi dan Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia atas bantuan dan kerjasamanya.
9. Seluruh staf laboratorium Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, atas bantuan dan kerjasama yang baik.
10. Teman-teman peneliti arthritis, ary dan dimas, atas bantuan dan ilmunya.
11. Segenap civitas akademik Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang secara tidak langsung sudah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Berbagai pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak terlepas dari kekurangan, oleh karena itu dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dengan segala kekurangannya dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian. Amin

Wassalamua'alaikum wr.wb.

Yogyakarta, April 2007

Penulis,

Ari Wibowo

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Arthritis.....	4
2. Tulang.....	7
3. Inflamasi.....	10
4. CFA (<i>Complete Freund's Adjuvant</i>).....	13
5. Metotrexat.....	13
6. Temulawak.....	15
B. Landasan Teori	18
C. Hipotesis.....	18
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Bahan dan Alat	19
1. Bahan	19

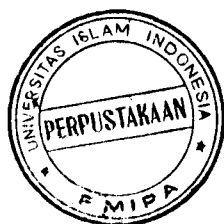
2. Alat	19
B. Cara Penelitian	19
1. Determinasi tanaman	19
2. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak	19
3. Pembuatan Larutan Na CMC 0,1 %	20
4. Pembuatan Larutan <i>Stock</i> Metotrexat 2,5 mg/KgBB/hari	20
5. Pembuatan <i>Stock</i> Ekstrak Temulawak Dosis 25 mg/kgBB	21
6. Pembuatan <i>Stock</i> Ekstrak Temulawak Dosis 50 mg/kgBB	21
C. Rancangan Penelitian	21
1. Induksi arthritis	22
2. Pengukuran Indeks Arthritis	22
3. Histopatologi Telapak Kaki	23
D. Analisis Hasil	26
E. Skema Kerja	27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak Terhadap Indeks Arthritis Tikus yang Terinduksi CFA (<i>Complete Freund's Adjuvant</i>)	30
B. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak Terhadap Perubahan Histopatologi sel sinovial Telapak Kaki Tikus yang Terinduksi CFA (<i>Complete Freund's Adjuvant</i>)	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Patogenesis arthritis reumatoid pada sendi tulang lutut.....	10
Gambar 2.	Jalur aktivasi sitokin pada proses inflamasi arthritis.....	12
Gambar 3.	Struktur metotrexat.....	13
Gambar 4.	Mekanisme pembentukan adenosin oleh metotrexat.....	15
Gambar 5.	Skema pembuatan seri dosis ekstrak etanol temulawak.....	27
Gambar 6.	Skema pembuatan larutan Na CMC 0,1%.....	27
Gambar 7.	Skema rancangan penelitian.....	28
Gambar 8.	Grafik perubahan indeks arthritis setiap kelompok dari hari ke-0 Sampai hari ke-50.....	31
Gambar 9.	Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok normal.....	36
Gambar 10.	Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok kontrol negatif.....	36
Gambar 11.	Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok kontrol positif.....	36
Gambar 12.	Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok perlakuan ekstrak 1.....	37
Gambar 13.	Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok perlakuan ekstrak 2.....	37

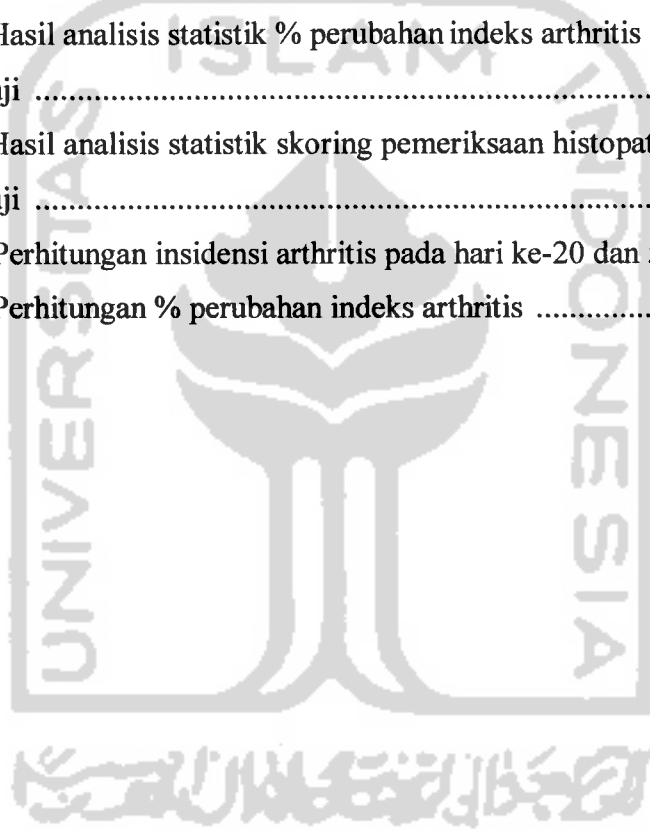
DAFTAR TABEL

Tabel I.	Skala nilai arthritis berdasarkan gejala yang timbul	23
Tabel II.	Cairan dalam <i>tissue processor</i> pada tahap dehidrasi jaringan	24
Tabel III.	Skala skoring hasil histopatologi	26
Tabel IV.	Persentase perubahan kadar leukosit tikus pada hari 0-20	32
Tabel V.	Persentase perubahan kadar neutrofil tikus pada hari 0-20	32
Tabel VI.	Persentase perubahan kadar leukosit tikus pada hari 20-51	33
Tabel VII.	Persentase perubahan kadar neutrofil pada tikus hari 20-51	33
Tabel VIII.	Persentase insidensi arthritis pada tiap kelompok uji	33
Tabel IX.	% perubahan perkembangan arthritis kelompok uji	34
Tabel X.	Matriks signifikansi % perubahan indeks arthritis ($p < 0,05$)	34
Tabel XI.	Hasil pemeriksaan histopatologi telapak kaki hewan uji	38
Tabel XII.	Skoring hasil pemeriksaan histopatologi	38
Tabel XIII.	Matriks signifikansi skoring hasil pemeriksaan histopatologi ($p < 0,05$)	38
Tabel XIV.	Persentase daya antiinflamasi	39
Tabel XV.	Indeks arthritis kelompok kontrol negatif	48
Tabel XVI.	Indeks arthritis kelompok kontrol positif	48
Tabel XVII.	Indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 25 mg/kg	49
Tabel XVIII.	Indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 50 mg/kg	49
Tabel XIX.	Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok kontrol negatif	50
Tabel XX.	Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok kontrol positif	50
Tabel XXI.	Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 25 mg/kg	51
Tabel XXII.	Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 50 mg/kg	51
Tabel XXIII.	Nilai indeks arthritis ($X \pm SE$) setiap kelompok uji	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat keterangan determinasi	45
Lampiran 2.	Surat keterangan asal usul hewan uji	46
Lampiran 3.	Surat keterangan hasil pemeriksaan histopatologi telapak kaki hewan uji	47
Lampiran 4.	Data indeks arthritis masing-masing kelompok uji	48
Lampiran 5.	Data nilai AUC_{0-50} indeks arthritis masing-masing kelompok uji	50
Lampiran 6.	Tabel Nilai indeks arthritis ($X \pm SE$) setiap kelompok uji	52
Lampiran 7.	Hasil analisis statistik % perubahan indeks arthritis kelompok uji	53
Lampiran 8.	Hasil analisis statistik skoring pemeriksaan histopatologi kelompok uji	55
Lampiran 9.	Perhitungan insidensi arthritis pada hari ke-20 dan 50	57
Lampiran 10.	Perhitungan % perubahan indeks arthritis	58



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEMULAWAK
(*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) TERHADAP INDEKS ARTHRITIS DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI SEL SINOVIAL PADA MODEL
ARTHRITIS RHEUMATOID TIKUS JANTAN YANG TERINDUKSI CFA
(*Complete Freund's Adjuvant*)**

INTISARI

Arthritis rheumatoid merupakan penyakit (autoimun) inflamasi kronis yang ditandai dengan kerusakan persendian dan hiperplasia sinovium. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) terhadap perubahan indeks arthritis dan sebagai antiarthritis rheumatoid dilihat dari pemeriksaan histopatologi sel sinovial telapak kaki tikus yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Penelitian dilakukan dengan rancangan acak pola searah. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan dengan berat 150- 200 gram dibagi menjadi 5 kelompok (N = 6), diberi makan serta minum *ad libitum*. Kelompok I sebagai kontrol normal, Kelompok II (kontrol negatif) diinduksi CFA pada hari ke-0, diamati sampai hari ke-50. Kelompok III (kontrol positif) diinduksi CFA pada hari ke-0, pada hari ke-21 diberi metotrexat per oral dosis 20 mg/70kgBB/minggu sampai hari ke-50. Kelompok IV dan V diinduksi CFA pada hari ke-0, pada hari ke-21 diberi ekstrak temulawak per oral dengan dosis masing-masing 25 dan 50 mg/kg BB sampai hari ke-50. Selama masa uji diamati perkembangan arthritis dan pada hari ke-50 tikus dimatikan, kemudian telapak kakinya dibuat preparat histopatologi untuk melihat infiltrasi seluler. Perubahan indeks arthritis dan hasil skoring histopatologi setiap kelompok dibandingkan dengan menggunakan analisis statistika *ANOVA* satu arah ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak temulawak dapat mengurangi perkembangan indeks arthritis dan menghambat infiltrasi sel radang pada model arthritis rheumatoid tikus yang terinduksi CFA.

Kata kunci: arthritis rheumatoid, *Curcuma xanthorrhiza*, Roxb., indeks arthritis, histopatologi, infiltrasi seluler.

**EFFECT OF *Curcuma xanthorrhiza*, Roxb. ETANOLIC EXTRACT
TOWARD ARTHRITIC INDEX AND HISTOPATHOLOGY OF
SYNOVIAL CELL IN RAT RHEUMATOID ARTHRITIS MODELS
INDUCED BY CFA (Complete Freund's Adjuvant)**

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disease (autoimmune), which is signed by joint damage and hyperplasia of synovium. This research is aimed to find out the effect of *Curcuma xanthorrhiza* etanolic extract toward arthritic index and as antirheumatoid arthritis using histopathology examination of synovial cell on rat footpad's induced by CFA (Complete Freund's Adjuvant). This research used the completed random of unidirectional pattern method. There were 30 male Wistar rat with the weight of 150-200 gram, which were divided into 5 groups (N=6) and given food and drink *ad libitum* standard. Group I was a normal control group. Group II (negative control group) was induced with CFA (Complete Freund's Adjuvant) at day-0, and observed until day-50. Group III (positive control group) was given CFA at day-0, on the 21th day it was given methotrexate with a dosage of 20 mg/70 kg body weight/week orally until day-50. Group IV and V were given CFA at day-0 and on day-21 they were given *Curcuma xanthorrhiza* extract with dosage of 25 mg/kg and 50 mg/kg body weight until day-50 orally. The development of arthritis in rats was observed using arthritic index and the rats were killed at day-50, to observed cell infiltration using histopathology examination. The arthritic index and histopathology's scoring result for each group is compared using one way ANOVA statistic analyze ($p < 0.05$) and continued with the Tukey test ($p < 0.05$). The result of this research show that *Curcuma xanthorrhiza* extract had an effect to decrease of arthritic index and inhibited cellular infiltration in rat rheumatoid arthritis models.

Key words : rheumatoid arthritis, *curcuma xanthorrhiza* Roxb., arthritic index, histopathology, cellular infiltration.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Arthritis reumatoid (AR) adalah gangguan kronik yang dapat menyerang berbagai sistem organ. Penyakit ini adalah salah satu dari sekelompok penyakit jaringan penyambung difus yang diperantarai oleh imunitas dan tidak diketahui sebab-sebabnya. Arthritis reumatoid kira-kira 2¹/₂ kali lebih sering menyerang wanita daripada pria. Insidensi meningkat dengan bertambahnya usia, terutama pada wanita. Sekitar 1% orang dewasa menderita AR yang jelas, dan dilaporkan di Amerika Serikat setiap tahun timbul kira-kira 750 kasus baru per satu juta penduduk (Price dan Wilson, 1995). Prevalensi arthritis atau *Chronic Joint Symptom* (CJS) diantara orang dewasa berdasarkan jenis kelamin pada tahun 2001 yaitu sebesar 37,3% diderita oleh wanita dan 28,4% diderita oleh pria (Anonim, 2005a). Selain itu prevalensi arthritis atau CJS berdasarkan umur yaitu 65 tahun ke atas sebesar 58,8%, 45-65 tahun sebesar 42,1%, dan 18-44 tahun sebesar 19,0% (Anonim, 2005a).

Selama ini belum ada pengobatan yang dapat menyembuhkan AR. Terapi yang diberikan hanya bertujuan untuk mengurangi gejala, mengembalikan fungsi normal organ, dan memelihara remisi dengan terapi *Disease Modifying Antirheumatoid Drugs* (DMARDs). Terapi pada AR dibagi menjadi 3 golongan obat utama, yaitu *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs* (NSAIDs), kortikosteroid, dan DMARDs. NSAIDs memiliki efek samping berupa ulkus peptik, perforasi, dan dapat menimbulkan pendarahan gastrointestinal pada pemakaian jangka panjang. Kortikosteroid memiliki efek samping berupa penebalan muka (*moon face*), katarak, osteoporosis, hipertensi, dan hiperlipidemia. DMARDs seperti, metotreksat sendiri memiliki banyak efek samping diantaranya toksisitas hati (hepatik fibrosis), myelosuppression (depresi sumsum tulang belakang) serta pneumonitis (Cash dan Klippel, 1994; O'Dell, 2004). Efek samping berbahaya yang timbul pada penggunaan obat sintetis tersebut menyebabkan 60-90% pasien arthritis mencari pilihan pengobatan komplementer dan alternatif lain seperti, akupuntur dan ekstrak obat herbal (Ahmed, *et al.*, 2005).

Kurkuminoid yang terdiri dari 70-75% kurkumin, 15-20% demetoksikurkumin, dan kurang lebih 3% bidesmetoksikurkumin, merupakan pigmen polifenolik yang terdapat dalam rimpang tanaman marga *curcuma* suku *zingiberaceae*, termasuk temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) (Sidik, 1985 cit Dalimartha, 2004). Kurkuminoid diekstraksi dari rimpang menggunakan etanol (Anonim, 2002). Berdasarkan pengujian *in vitro* yang dilakukan oleh *National Cancer Institute*, kurkumin, demetoksikurkumin, dan bidesmetoksikurkumin dari rimpang *Curcuma longa*, Linn. memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiviral, antifungal (Wu, 2003), antikarsinogenik, dan hipokolesterolemik serta telah lolos uji klinik fase I sebagai kemopreventif (Duvoix, *et al.*, 2005). Selain itu, kurkuminoid khususnya kurkumin juga memiliki khasiat sebagai anti tumor, anti alergi, anti inflamasi, dan inhibitor Nitrit Oksida (NO) (Tohda, *et al.*, 2006).

Penyebab AR masih belum diketahui walaupun banyak hal mengenai patogenesisnya telah terungkap. Spesifik *Cluster of Differentiation* (CD)4+ sel T terlibat dalam induksi respon imun pada AR, akibat adanya antigen eksogen atau endogen. Tubuh merespon dengan mengeluarkan monosit, makrofag, dan sitokin ke dalam celah sinovial (Olsen dan Stein, 2004). Sitokin berupa *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α yang dihasilkan pada inflamasi lokal dan *interleukin* (IL)-1 merusak jaringan di sekitarnya dan merangsang produksi *matrix metalloproteinase* (MMP) dan osteoklast yang mengakibatkan kerusakan irreversible pada jaringan ikat dan tulang (Choy dan Panayi, 2001; Smith, 2006).

Kerusakan pada daerah sinovial merupakan salah satu indikasi progresivitas AR, ditandai dengan kerusakan pembuluh kapiler, edema, kongesti vascular, infiltrasi seluler (Hirohata dan Sakakibara, 2000), erosi kartilago dan tulang, dan inflamasi ekstra-artikular (Price dan Wilson, 1995). Hal ini tentu akan mempengaruhi kehidupan sosial penderita arthritis rheumatoid.

Berdasarkan latar belakang tersebut, akan dilakukan penelitian mengenai manfaat rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) dalam bentuk ekstrak untuk mencegah progresivitas penyakit AR yang dilihat dari perubahan indeks arthritis dan kemampuannya menghambat infiltrasi sel radang dilihat dari pemeriksaan histopatologi sel sinovial pada model arthritis rheumatoid yang akan

dicobakan pada tikus putih jantan yang diinduksi CFA (*Complete Freund's Adjuvant*).

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang diangkat pada penelitian ini adalah berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui:

1. Apakah ekstrak etanol rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) memiliki efek antiarthritis rheumatoid pada model arthritis rheumatoid tikus jantan yang terinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) dilihat dari perubahan indeks arthritis?
2. Apakah ada perubahan sel sinovial jaringan telapak kaki tikus yang terinduksi CFA dilihat dari hasil pemeriksaan histopatologi?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) sebagai antiarthritis rheumatoid berdasarkan perubahan indeks arthritis dan pengaruhnya terhadap perubahan histopatologi sel sinovial yang umum terjadi pada penyakit autoimun ini.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan memberikan kontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya tentang pengembangan bahan baku fitofarmaka dalam hal ini ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) sebagai obat antiarthritis rheumatoid.

BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Arthritis

Arthritis adalah nama gabungan untuk lebih dari 100 penyakit yang semuanya bercirikan rasa nyeri, bengkak, serta kekakuan otot dengan terganggunya fungsi alat-alat penggerak (sendi dan otot). Yang paling banyak ditemukan adalah atrose (*Arthritis deformans*), umumnya tanpa peradangan, kemudian rematik (*Arthritis reumatica*) dengan peradangan, spondylosis dengan radang tulang punggung, sindroma reiter (dengan radang ginjal dan selaput mata), dan encok. Penyakit lainnya yang ditemukan antara lain rema akut (arthritis septic) dan rema bagian lembut, yang menghinggapi tulang rawan di bagian lain tubuh (Tjay dan Rahardja, 2002).

Sakit radang sendi dapat berasal dari sumber yang berbeda. Ini meliputi radang selaput sinovial (jaringan dalam bentuk sambungan), urat daging, atau ikatan sendi, ketegangan otot, dan kelelahan. Suatu kombinasi dari faktor ini berperan untuk intensitas dari sakit (Anonim, 2005a).

Pada tahun 1999, penyakit arthritis di USA menduduki peringkat teratas yang paling banyak diderita oleh warganya, yaitu 17,5%. Angka ini jauh di atas penyakit berbahaya yang dianggap sebagai pembunuh nomor 1 di dunia yaitu penyakit jantung yang menduduki peringkat ke-3 dengan persentase 7,8% (Anonim, 2005a). Prevalensi arthritis atau *Chronic Joint Symptom* (CJS) diantara orang dewasa berdasarkan jenis kelamin pada tahun 2001 yaitu sebesar 37,3% diderita oleh wanita dan 28,4% diderita oleh pria (Anonim, 2005a). Selain itu prevalensi arthritis atau CJS berdasarkan umur yaitu 65 tahun ke atas sebesar 58,8%, 45-65 tahun sebesar 42,1%, dan 18-44 tahun sebesar 19,0% (Anonim, 2005a).

Gejala umum arthritis biasanya mulai timbul pada usia antara 25 dan 50 tahun, meskipun dapat terjadi pada segala usia, bahkan anak-anak (*rheumatoid arthritis juvenile*). Tanda awal pada penyakit arthritis rheumatoid adalah terjadi

reaksi peradangan pada membran sinovial dan peningkatan jumlah sel sinovial (Anonim, 2006).

Centre for Disease Control and prevention (CDC) suatu yayasan arthritis dan *Association of State and Territorial Health Officials*, dengan input lebih dari 90 organisasi, merekomendasikan tindakan dalam 3 area untuk individual dan kelompok yang menangani reduksi pengaruh arthritis, yaitu:

- (1) Riset terhadap pengawasan, epidemiologi, dan pencegahan
- (2) Komunikasi dan edukasi
- (3) Program, kebijakan dan sistem

The National Arthritis Action Plan (NAAP), suatu *Public Health Strategy* menekankan usaha secara luas untuk mencapai kelompok populasi itu. Pendekatan komplementer ini dengan model obat tradisional yang menekankan pada pengobatan individu yang menderita arthritis (Anonim, 2005a).

a. Arthritis Reumatoid (AR)

Arthritis reumatoid merupakan suatu penyakit inflamasi sistemik kronik. Walaupun manifestasi utamanya adalah poliartritis akan tetapi dapat menyerang berbagai sistem organ di seluruh tubuh. Poliartritis kronik bercirikan penyakit sendi bilateral simetris, erosi radiologis, dan uji faktor rheumatoid positif. Biasanya terjadi destruksi sendi progresif, walaupun episode peradangan sendi dapat mengalami masa remisi (Price dan Wilson, 1995; Moll, 1995; Moehadsjah *et al.*, 1996).

Arthritis reumatoid merupakan suatu penyakit yang telah lama dikenal dan tersebar di seluruh dunia serta melibatkan semua ras dan kelompok etnik (Moehadsjah *et al.*, 1996). Gambaran klinis yang ditemukan pada penderita arthritis reumatoid tidak harus timbul sekaligus pada saat yang bersamaan, karena penyakit ini memiliki gambaran klinis yang sangat bervariasi antara lain:

- (1) Gejala-gejala konstitusional, misalnya lelah, anoreksia, berat badan menurun dan demam.
- (2) Poliartritis simetris terutama pada sendi perifer, termasuk sendi-sendi di tangan, namun biasanya tidak melibatkan sendi-sendi interfalangs distal. Hampir semua sendi diartrodial dapat terserang.

- (3) Kekakuan di pagi hari selama lebih dari 1 jam, dapat bersifat umum tetapi terutama menyerang sendi-sendi.
- (4) Erosi di tepi tulang pada peradangan yang kronik.
- (5) Deformitas, kerusakan struktur penunjang sendi dengan perjalanan penyakit.
- (6) Nodula-nodula reumatoid pada sendi siku atau di sepanjang permukaan ekstensor dari lengan, merupakan massa subkutan yang ditemukan pada sekitar sepertiga orang dewasa penderita AR.
- (7) Manifestasi ekstra-artikular, AR dapat menyerang organ-organ lain di luar sendi seperti jantung (perikarditis), paru-paru (pleuritis), mata (skleritis), sistem saraf (neuropati perifer), dan pembuluh darah (anemia) (Price dan Wilson, 1995).

Arthritis reumatoid lazim dimulai pada kehidupan dewasa muda dan berhubungan dengan peningkatan *Human Lymphocyte Antigen* (HLA)-D4 dan HLA-DR4. Antibodi Ig (immunoglobulin) G, IgM dan IgA sirkulasi (faktor reumatoid) dihasilkan sebagai respon atas antigen yang tidak dikenal, dan sistem imun dicetuskan dengan menyebabkan peradangan dan destruksi jaringan. Sendi membran sinovial membengkak dan mengalami kongesti dengan limfosit, neutrofil, sel plasma dan makrofag. Tidak ada bukti yang menunjukkan bahwa bakteri atau virus merupakan antigen pencetus (Hayes dan Mackay, 1993).

Destruksi jaringan sendi dapat melalui dua cara, pertama dengan destruksi pencernaan oleh produksi protease, kolagenase, dan enzim hidrolitik lainnya. Enzim ini dapat memecah tulang rawan, ligamen, tendon, dan tulang pada sendi, serta dilepaskan bersama-sama radikal oksigen dan metabolit asam arakhidonat oleh leukosit polimorfonuklear dalam cairan sinovial. Proses ini diduga bagian respon autoimun terhadap antigen yang diproduksi secara lokal. Destruksi jaringan dapat juga terjadi melalui kerja panus reumatoid. Panus merupakan jaringan granulasi vaskular yang terbentuk dari sinovium yang meradang dan kemudian meluas ke sendi. Sepanjang pinggir panus didapatkan destruksi kolagen dan proteoglikan melalui produksi enzim oleh sel-sel di dalam panus tersebut (Price dan Wilson, 1995).

2. Tulang

Tulang adalah suatu bentuk khusus jaringan ikat, ditandai oleh adanya sel bercabang panjang-panjang dan berlekuk-kekuk (osteosit) yang mengisi rongga-rongga (lakuna) dan celah yang kecil (kanalikulis) di dalam matriks yang keras terdiri atas serabut kolagen pada jaringan amorf yang mengandung gugus fosfat kalsium (Rukmono, 1998).

Tulang-tulang di tubuh bersendi satu sama lain membentuk rangka dari tubuh manusia. Rangka manusia juga meliputi tulang rawan. Rangka merupakan sebagian dari sistem lokomotorik tubuh manusia yang juga meliputi otot-otot dan sendi-sendi dengan demikian otot merupakan pembawa tulang pada proses pergerakan (Bajpai, 1991).

Menurut Rukmono, (1998) unsur-unsur tulang meliputi unsur tetap dan unsur sementara. Unsur tetap meliputi osteosit dan matriks, sedangkan unsur sementara meliputi osteoblast dan osteoklast. Selain itu terdapat pula sumsum tulang yang berisi derivat sel retikuloendotel.

Tulang menunjukkan reaksi terhadap tiap kelainan fisik, kimiawi, gangguan gizi, metabolisme, gangguan endokrin, dan pada kelainan yang berhubungan dengan lingkungan dan keturunan. Juga komponen tulang dapat mengakibatkan tumor (abnormalitas proliferasi sel tulang) (Junqueira *et al.*, 1998; Rukmono, 1998).

a. Sendi

Sendi merupakan daerah pertemuan tulang-tulang yang ditutupi dan dikelilingi oleh jaringan ikat yang mempertahankan tulang-tulang bersama dan menentukan jenis dan derajat pergerakan di antara mereka (Junqueira, *et al.*, 1998). Sendi dapat digolongkan berdasarkan pada perbedaan mekanis di antara sendi-sendi, yaitu sinartrosis dan diartrosis (Geneser, 1994).

Unsur rangka pada sinartrosis relatif dapat bergerak satu terhadap lainnya melalui suatu jaringan yang dapat diubah bentuknya yang terletak diantaranya (sendi fibrosa dan sendi tulang rawan). Semua tulang berkembang dari jaringan penyambung yang telah ada lebih dahulu atau dari tulang rawan, karena itu kedua jenis jaringan ini akan selalu terdapat sebagai penghubung antara bagian-bagian rangka yang masih tumbuh. Sendi ini bersifat sementara, karena selama

pertumbuhan pinggir-pinggir tulang atau permukaan tulang secara bertahap akan saling mendekati dan kadang terjadi penyatuan tulang saat pertumbuhan berhenti, sehingga jaringan penghubungnya menghilang (Geneser, 1994).

Diartrosis adalah sendi yang umum menyatukan tulang panjang dan bersifat sangat mobil, seperti sendi siku dan lutut (Junqueira *et al.*, 1998). Permukaan sendi diartrosis (sendi sinovial) tidak bersambungan tetapi hanya berlekatan. Permukaan sendi ditutupi oleh selapis tulang rawan hialin (dengan sedikit pengecualian ditutupi oleh tulang rawan fibrosa pada sendi di antara klavikula dan sternum dan permukaan persendian sendi temporomandibular) yang disebut tulang rawan sendi. Kemungkinan adanya kontak meluncur yang hampir tidak bergesekan di antara permukaan-permukaan yang ditutupi tulang rawan, ditingkatkan dengan adanya cairan kental yaitu cairan sinovial, yang mengisi rongga sendi. Suatu sendi sinovial seluruhnya ditutupi oleh kapsula fibrosa dan pada seluruh permukaan dalamnya dibatasi oleh membran sinovial. Membran ini meluas melewati semua permukaan yang bukan sendi di dalam rongga sendi (Geneser, 1994).

b. Perkembangan sendi sinovial

Sendi sinovial berkembang pada daerah ujung-ujung model tulang rawan dalam rangka fetus yang saling mendekati satu dengan lainnya. Masenkim di antara ujung-ujung ini menjadi padat membentuk lempeng sendi primitif. Masenkim yang mengelilingi ujung-ujung tulang rawan yang berhadapan memadat membentuk bakal kapsula sendi. Kapsula sendi bersambung dengan perikondrium yang menutupi sisi-sisi batang model tulang rawan. Secara bertahap, jumlah substansi dasar dan cairan jaringan dalam lempeng tulang rawan primitif meningkat dan timbul rongga-rongga yang berisi cairan dalam diskus. Dengan bergabungnya celah-celah kecil ini, timbul sebuah rongga sinovial.

Rongga sinovial terus meluas dan secara bertahap meluas sepanjang sisi-sisi dari ujung-ujung model tulang rawan, dengan demikian memisahkan bakal tulang rawan ini dari kapsula sendi primitif. Kapsula tetap bersambungan dengan perikondrium dan nanti bersambungan dengan periosteum batang model tulang rawan tersebut. Masenkim di lapisan luar kapsula sendi diubah menjadi suatu

jaringan penyanggah fibrosa yang padat yaitu kapsula fibrosa, sedangkan lapisan dalam berkembang menjadi membran sinovial (Geneser, 1994).

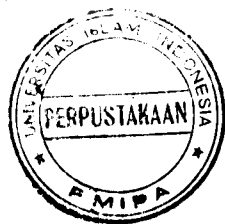
Terdapat 2 jenis sel pelapis membran sinovial, yaitu sel A dan sel B. Sel A bersifat fagositik, memiliki struktur serupa dengan sel-sel pada sistem fagosit mononukleus, memiliki kompleks golgi besar dan banyak lisosom, namun hanya sedikit retikulum endoplasma kasar. Jenis sel B menyerupai fibroblas (Junqueira *et al.*, 1998).

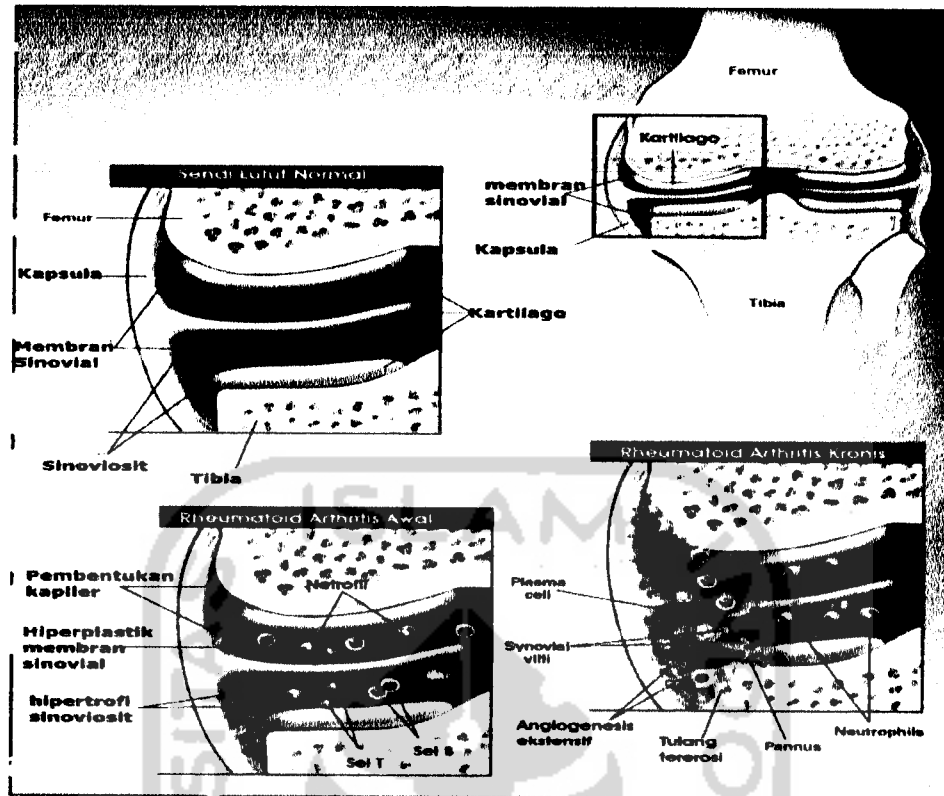
c. Cairan sinovial

Cairan sinovial yaitu liquor synovialis adalah suatu hasil dialisis plasma darah (seperti cairan jaringan) dengan kandungan asam hialuronat tinggi yang dihasilkan oleh sel B dari lapis sinovium. Cairan sinovial terdapat dalam rongga sendi, bursa dan selubung tendon, tetapi komposisinya hanya diselidiki lebih mendalam pada sendi. Cairan sinovial dalam sendi merupakan suatu cairan yang kental, sedikit kuning dan jernih, juga berisi suatu campuran sel-sel (Geneser, 1994; Junqueira *et al.*, 1998).

Kombinasi penyelidikan histokimiawi dengan mikroskop elektron menunjukkan bahwa asam hialuronat dibentuk oleh sinoviosit tertentu, sesuai dengan kenyataan bahwa sel ini adalah sejenis sel jaringan penyambung. Asam hialuronat berpolimerasi kuat dalam cairan sinovia, sehingga cairan ini sangat kental dan cocok sekali sebagai pelicin permukaan sendi (Geneser, 1994). Cairan sinovial juga berfungsi membawa makanan dan oksigen untuk tulang rawan sendi yang avaskular (Junqueira *et al.*, 1998).

Cairan sinovial mengandung sedikit sel, kurang lebih 60 per ml pada sendi yang dalam keadaan istirahat dan terdiri atas monosit, makrofag, limfosit, dan sinoviosit bebas (Geneser, 1994).





Gambar 1. Patogenesis arthritis reumatoid pada sendi tulang lutut (Choy dan Panayi, 2001).

Pada awal arthritis rheumatoid, membrane sinovial menjadi tebal karena *hyperplasia* dan *hypertrophy* sel pelapis membran sinovial. Jaringan pembuluh darah baru terbentuk di sinovium. Sel-T (dominan CD4+) dan sel-B memasuki membran sinovial. Kedua sel ini juga ditemukan di cairan sinovial bersamaan dengan neutrofil. Membran sinovial mulai menginvasi kartilago. Pada kasus arthritis reumatoid kronis, membran sinovial berubah menjadi jaringan inflamasi (panus). Jaringan ini menginvasi dan menghancurkan kartilago di sekitarnya dan tulang. Panus terdiri atas sel A dan sel B sinoviosit dan sel plasma (Choy dan Panayi, 2001).

3. Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap invasi bahan infeksi, tantangan antigen atau bahkan hanya akibat cedera fisik. Selama reaksi inflamasi terdapat tiga proses utama, yaitu:

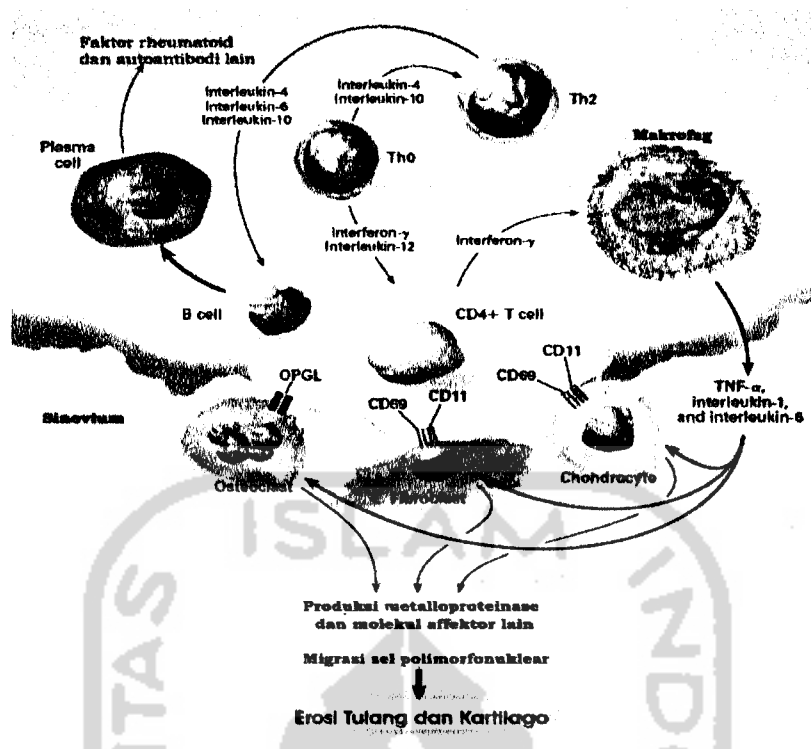
- (1) Aliran darah ke daerah itu meningkat,

- (2) Permeabilitas kapiler meningkat, dan
- (3) Migrasi leukosit ke jaringan radang, mula-mula neutrofil dan makrofag lalu limfosit keluar dari kapiler menuju jaringan sekitarnya. Selanjutnya bergerak ke tempat yang cedera dibawah pengaruh stimulus-stimulus kemotaktik (Moehadsjah *et al.*, 1996).

Inflamasi berdasarkan imunologis dibagi menjadi 3 kelas atas dasar respon imun pada fase awal, yaitu inflamasi berdasarkan *cell-mediated*, inflamasi berdasarkan *immune-complex-mediated*, dan inflamasi berdasarkan *Ig.E-mediated* (Moehadsjah, *et al.*, 1996).

Adaapun perubahan fase vaskular pada peradangan akut meliputi vasokonstriksi sementara sebagai respon terhadap cedera, diikuti dengan vasodilatasi dan peningkatan aliran darah ke daerah yang mengalami cedera (mengakibatkan kemerahan dan panas). Pelepasan histamin dari sel mast menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler, memungkinkan cairan yang kaya protein bocor ke luar, masuk ke dalam daerah cedera (mengakibatkan pembengkakan jaringan dan nyeri). Aliran limfatik meningkat sejalan dengan peningkatan aliran darah (Price dan Wilson, 2006).

Proinflamatori sitokin melibatkan terutama *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α yang dihasilkan pada inflamsi lokal. TNF- α adalah stimulator autokrin dan juga penyebab kuat peradangan sitokin yang lain, meliputi *interleukin* (IL)-1, IL-6, IL-8 dan faktor stimulasi koloni granulosit-monosit. IL-6 juga dianggap mediator utama inflamasi pada patogenesis arthritis rheumatoid (Choy dan Panayi, 2001).



Gambar 2. Jalur aktivasi sitokin pada proses inflamasi arthritis (Choy dan Panayi, 2001).

Aktivasi sel mast pada arthritis rheumatoid oleh komponen komplemen, autoantibodi dan sitokin menyebabkan pelepasan granul seperti histamin, heparin, dan proteinase. Tryptase dan chymase (sel mast proteinase) merupakan prekursor *matrix metalloproteinase* (MMP) yang dapat mendegradasi matriks kartilago (Wolley, 2003).

Stimulasi sitokin menyebabkan pelepasan monosit, makrofaq, fibroblast, dan sel-T. kebanyakan dari sitokin ini, termasuk TNF- α dan IL-1 dapat dideteksi pada cairan sinovial penderita arthritis rheumatoid. TNF- α dan IL-1 merupakan senyawa poten untuk menstimulasi sel mesenkimal seperti sinovial fibroblast, osteoklast, dan kondrosit, yang dapat menstimulasi pelepasan MMP. TNF- α dan IL-1 juga menghambat produksi MMP-inhibitor oleh sinovial fibroblast. Osteoklast bertanggung jawab terhadap degradasi tulang (Choy dan Panayi, 2001).

4. CFA (Complete Freund's Adjuvant)

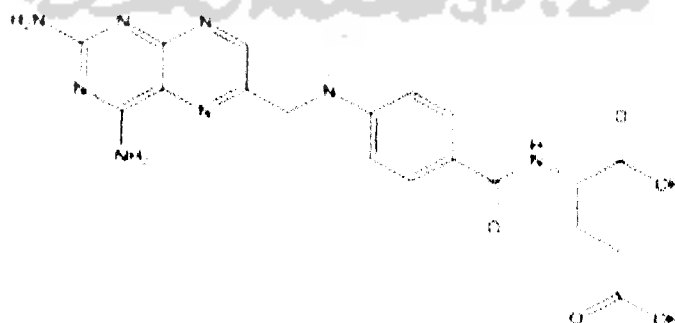
Complete Freund's Adjuvant (CFA) merupakan salah satu model penginduksi arthritis pada hewan uji tikus yang telah banyak digunakan sebagai model laboratorium untuk mempelajari penyakit arthritis pada manusia. CFA mengandung seratus miligram *Mycobacterium butyricum* (Difco, Detroit, US) yang dilarutkan dalam 20 ml minyak parafin. Larutan tersebut selanjutnya di sterilkan menggunakan autoklaf suhu 120⁰ C selama 20 menit (Nagakura *et al.*, 2003).

CFA dapat menyebabkan inflamasi berat dan atau nekrosis pada hewan laboratorium. Jalur pemberian CFA secara normal meliputi, intramuskular, subkutan, atau intradermal. Tempat penginjeksian CFA harus dalam keadaan bersih dan steril (Anonim, 1999b).

CFA merupakan emulsi tipe air dalam minyak yang mengandung mycobacteri yang dilemahkan atau komponen dinding sel mycobacteri, yang sangat efektif merangsang respon imunitas seluler dan humoral. Adjuvant yang ditambahkan dalam CFA menghasilkan pelepasan antigen secara *sustained release* dari fase minyak dan menstimulus respon imun lokal sehingga meningkatkan *adaptive immunity* pada tempat injeksi (Anonim, 2005b).

5. Metotrexat

Pemerian serbuk hablur, coklat jingga atau kuning. Kelarutan praktis tidak larut dalam air, dalam etanol, dalam kloroform dan dalam eter; sukar larut dalam asam klorida 6 N, mudah larut dalam larutan encer alkali hidroklorida dan karbonat (Anonim, 1995).



Gambar 3. Struktur metotrexat (Anonim, 1995).

Salah satu mekanisme kerja metotrexat adalah sebagai antagonis asam folat (antimetabolit), dengan menghambat secara bersaing dihidrofolat reduktase, suatu enzim yang mengkatalisis reduksi asam dihidrofolat menjadi asam tetrahidrofolat. Antagonis asam folat mengikat enzim tersebut secara kuat dan menyebabkan hambatan takterpulihkan yang bersifat semu. Penghambatan enzim dihidrofolat reduktase menyebabkan hambatan sintesis ADN, ARN dan protein (Diyah dan Hardjono, 2000; Lange *et al.*, 2004). Beberapa mekanisme aksi farmakologi metotrexat yang telah dilaporkan antara lain, memacu apoptosis sel sinovial sehingga mereduksi pembentukan pannus, menghambat proliferasi limfosit, menghambat produksi *interleukin-1* dan proliferasi sel endotelial, serta meningkatkan pelepasan adenosin (Lange *et al.*, 2004).

Pendekatan terbaru mengenai mekanisme kerja metotrexat dalam arthritis reumatoid adalah mengurangi radang pada sendi dengan mengurangi produksi sitokin. Metotrexat poliglutamat (metabolit metotrexat) menghambat *aminoimidazolecarboxamidoadenosinineribonucleotide* (AICAR) transformylase, enzim ini menghambat adenosine deaminase dan *Adenosin Mono Phosphat* (AMP) deaminase, yang mengakibatkan peningkatan konsentrasi adenosin dan adenin nukleotida interaseluler. Akumulasi AICAR juga mengakibatkan peningkatan konsentrasi adenosin ekstraseluler dengan adanya defosforilasi adenin nukleotid (mengubah AMP menjadi adenosin) yang dikatalisis oleh ecto-5'-nukleotidase. Adenosin merupakan senyawa endogen poten mediator antiinflamasi. Adenosin dapat menghambat produksi TNF- α dan IL-1, menginduksi apoptosis sel endotelial sehingga dapat meningkatkan ekstrasvasasi cairan inflamasi (Chan dan Cronstein, 2002).

- Bunga** : Majemuk, bentuk bulir, panjang 9-23 cm, lebar 6 cm, daun pelindung banyak, bentuk corong, panjang 3-8 cm, lebar 1,5-3,5 cm, kelopak berambut, panjang 8-13 mm, putih, mahkota bentuk tabung, putih atau putih kekuningan, benang sari kuning muda, kepala sari putih, panjang putik 3-7 mm, berbulu, kuning keputih-putihan.
- Buah** : Kotak, berbulu, panjang ± 2 cm, putih kekuningan.
- Akar** : Semu, lunak, membentuk rimpang, kuning muda (Anonim, 2000).

c. Nama daerah

Temulawak (Sumatera), koneng gede, temu raya, temu besar, aci koneng, koneng tegel, temulawak (Jawa), temolabak (Madura), tomomo (Bali) (Dalimartha, 2004).

d. Bagian Yang Digunakan

Bagian yang digunakan adalah rimpang. Rimpang temulawak dicuci dari kotoran yang melekat sampai bersih, lalu dikupas kulitnya dan diiris tipis-tipis dengan ketebalan 7-8 mm. Selanjutnya, dikeringkan dibawa sinar matahari langsung selama beberapa hari dengan cara diangin-anginkan pada tempat terlindung, tetapi tidak lembab atau keringkan dalam tanur pemanas pada temperatur 50-55° C selama 7 jam. Jika temperatur terlalu tinggi maka sebagian minyak atsiri akan menguap (Dalimartha, 2004).

e. Kandungan kimia

Temulawak terdiri atas fraksi pati, kurkuminoid, dan minyak atsiri (3-12%). Fraksi pati merupakan kandungan terbesar, jumlah bervariasi antara 48-54% tergantung dari ketinggian tempat tumbuh. Semakin tinggi tempat tumbuh maka kadar patinya semakin rendah dan kadar minyak atsirinya semakin tinggi. Pati temulawak terdiri dari abu, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, kurkuminoid, kalium, natrium, kalsium, magnesium, besi, mangan, dan cadmium (Sidik, 1985 *cit* Dalimartha, 2004).

Fraksi kurkuminoid mempunyai aroma yang khas, tidak toksik, terdiri dari kurkumin yang mempunyai aktivitas antiradang dan desmetoksikurkumin. Minyak atsiri berupa cairan berwarna kuning atau kuning jingga, berbau aromatic

tajam. Komposisinya tergantung pada umur rimpang, tempat tumbuh, teknik isolasi, teknik analisis, perbedaan klon varietas, dan sebagainya. Oei Ban Liang (1985) dengan metode kromatografi gas mendeteksi 31 komponen yang terkandung dalam temulawak. Beberapa di antaranya merupakan komponen khas minyak atsiri temulawak, yaitu isofuranogermakren, trisiklin, allo-aromadendren, germakren, dan xanthorrhizol. Selain itu, terdapat komponen lain yang bersifat *insect repellent* yaitu ar-turmeron (Su, 1982 *cit* Dalimartha, 2004).

f. Manfaat tanaman

Temulawak mempunyai khasiat laktagoga, kolagoga, antiinflamasi, tonikum, dan diuretik. Minyak atsiri temulawak, juga berkhasiat fungistatik pada beberapa jenis jamur dan bakteristatik pada mikroba *Staphylococcus* sp. dan *Salmonella* sp. Aktivitas kolagoga rimpang temulawak ditandai dengan meningkatnya produksi dan sekresi empedu yang bekerja kolekinetik dan koleretik. Kerja kolekinetik dilakukan oleh fraksi kurkuminoid, sedangkan kerja koleretik dilakukan oleh komponen dari fraksi minyak atsiri. Dengan meningkatnya pengeluaran cairan empedu maka partikel padat dalam kantong empedu berkurang. Keadaan ini akan mengurangi kolik empedu, perut kembung akibat gangguan metabolisme lemak, dan menurunkan kadar kolesterol darah yang tinggi. Aktivitas antitumor dilakukan terhadap mencit dengan sarcoma180 ascites (Itokawa, 1985 *cit* Dalimartha, 2004). Berdasarkan hasil penelitian, akurkumen mempunyai aktivitas antitumor yang tinggi, sifatnya tergantung pada besarnya dosis yang digunakan (Dalimartha, 2004). Kurkumin yang terkandung dalam temulawak juga dapat menghambat siklooksigenase-2 dan menurunkan kadar *interleukin-beta* pada proses peradangan, kurkumin juga dapat menghambat sekresi kolagenase, hyaluronidase dan elastase yang berperan dalam degradasi kartilago pada arthritis (Anonim, 2006).

B. Landasan Teori

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) merupakan salah satu obat herbal yang banyak digunakan oleh masyarakat karena dipercaya memiliki aktivitas sebagai laktagoga, kolagoga, antitumor, antiinflamasi, tonikum, dan diuretik. Salah satu kandungan temulawak yang dipercaya sebagai antiinflamasi adalah senyawa kurkuminoid. Kurkumin dapat menekan proliferasi sel endotelial pada pembuluh manusia (*in vitro*) dan menghambat *fibroblast growth factor-2* yang menginduksi respon angiogenik (*in vivo*) (Aggarwal, *et al.*, 2005). Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Dr. Ernest Brahn, bahwa adanya pemberian inhibitor angiogenesis (yang dapat mengurangi kadar *vascular endothelial growth factor* (VEGF)) dapat mengurangi keparahan arthritis tikus pada model *collagen-induced arthritis* (Koch, 1998). Penelitian lain menyebutkan kurkumin dapat merangsang ekspresi CD4+ T-helper dan sel B dalam kasus kanker. Kurkumin juga dapat membentuk kompleks dengan logam besi dan tembaga yang dibutuhkan enzim metalloproteinase dalam proses angiogenesis (Mitchell, 2002).

Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai manfaat temulawak dalam bentuk ekstrak etanol apakah dapat mengurangi inflamasi dan menghambat proses angiogenesis dilihat dari perubahan indeks arthritis dan gambaran histopatologi sel sinovial telapak kaki pada model laboratorium arthritis rheumatoid tikus jantan.

C. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan di atas dapat diduga bahwa ekstrak etanol temulawak dapat mempengaruhi perkembangan arthritis rheumatoid dilihat dari perubahan indeks arthritis dan gambaran histopatologi sel sinovial telapak kaki tikus.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Subjek uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar, umur satu bulan, berat badan 150–200 gram, dan diberi pakan BR2-F serta minum *ad-libitum*. Bahan lain yang digunakan antara lain: rimpang kering temulawak 10 kg dari tanaman temulawak Perbukitan Menoreh Utara berumur ± 10 bulan, dipupuk dengan pupuk kandang, dikeringkan selama 2 hari menggunakan panas matahari, etanol 50 %, *Natrium Carboxymethylcellulose* (Na CMC) 0,1 %, formaldehida 10%, *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 4 ml (Difco-Detroit, US), Aquadest (Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia), pewarna hematoxyline-eosin (HE) dan Metotrexat 20 mg/kg BB/minggu (Kimia Farma).

2. Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: seperangkat alat destilasi, seperangkat alat maserasi, mikroskop sinar, kayu pengaduk, kain flanel, timbangan, mortir, stemper, spuit injection, spuit oral, alat-alat gelas, papan fiksasi, sarung tangan, alat bedah, alat scalpel, kamera, calculator, dan objek glass.

B. Cara Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII dengan berdasarkan buku *Flora of Java*.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak

Rimpang kering temulawak yang digunakan berasal dari perbukitan Menoreh utara berumur ± 10 bulan, dipupuk dengan pupuk kandang dengan bobot basah 80 kg, dikeringkan selama 2 hari menggunakan panas matahari, hingga diperoleh bobot kering ± 10 kg. Simplisia rimpang temulawak didestilasi selama 8 jam untuk menyari kandungan minyak atsirinya. Kemudian sisa ampas diangin-anginkan lalu dimaserasi dengan pelarut etanol 50% selama 24 jam. Sari yang

diperoleh diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh diukur kadar kurkuminnya, kadar air, cemaran mikroba, dan sisa pelarut. Dibuat dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB ekstrak temulawak dengan pelarut *Natrium Carboxymethylcellulose* (Na CMC) 0,1%.

3. Pembuatan Larutan Na CMC 0,1 %

Timbang 0,5 g Na CMC lalu digerus halus dalam mortir. Tambahkan aquadest yang telah dipanaskan secukupnya, aduk hingga Na CMC larut. Pindahkan larutan Na CMC ke dalam labu takar, kemudian tambahkan aquadest hangat hingga diperoleh volume 500 ml dan gojog hingga larutan homogen.

4. Pembuatan Larutan *Stock* Metotrexat

Dosis lazim = 20 mg/70kgBB/minggu (Olsen dan Stein, 2004) setara dengan 2,5 mg/70kgBB 1x sehari

a. Konversi ke dosis tikus

Asumsi berat tikus jantan normal = 200 g

Dosis tikus = 2,5 mg x 0,018 = 0,045 mg/200 g

Volume pemejanaan maksimum pada tikus 200 g = 10 ml

Volume pemejanaan = $\frac{1}{2}$ x 10 ml = 5 ml (diberikan 1 ml agar aman)

Dosis tikus = 0,045 mg/200 g / 1mL

Stock untuk 8 tikus = 0,045 mg/ 1 mL x 8 = 0,36 mg/8 mL

Stock untuk 8 tikus, 7 hari = 0,36 mg/8 ml x 7 = 2,52 mg/56 mL

b. Pembuatan larutan *stock* untuk 1 minggu

Bobot rata-rata 1 tablet = 0,125 g = 125 mg

Kandungan zat aktif = 2,5 mg

Stock 1 minggu dengan labu takar 200 mL diperlukan zat aktif

= 2,52 mg/56 mL = x mg/ 200 mL

$$x = 9 \text{ mg}$$

Bobot serbuk yang ditimbang = 9 mg/2,5 mg x 0,125 g = 0,45 g

Cara penimbangan : gerus halus 4 tablet metotrexat (@125 mg) lalu timbang serbuk sebanyak 450 mg (0,45 g).

Cara pembuatan :

0,45 g serbuk metotrexat + lar.Na CMC 0,1 % ad 200 mL

Volume pemejanaan = 1 mL / 200 g x BB tikus (g)

5. Pembuatan *Stock* Ekstrak Temulawak 25 mg/kgBB

Perhitungan : Asumsi bobot tikus normal = 200 g

Volume pemejanaan = 1ml untuk BB 200 g

Dosis = 25 mg/kg BB = 25 mg/1000 g BB= 5 mg/200g/1ml ekstrak

Larutan *stock*/minggu untuk 2x pemejanaan=

8 ekor x 2 x 7hari x 1 ml = 112 ml → dibuat 200 ml

Penimbangan → 5 mg/1ml = a / 200 ml

a = 1000mg = 1 g

Pembuatan → 1 g ekstrak kental temulawak + lar. Na CMC 0,1 % ad 200 ml

Volume pemejanaan = 1 mL / 200 g x BB tikus (g)

6. Pembuatan *Stock* Ekstrak Temulawak 50 mg/kgBB

Perhitungan : Asumsi bobot tikus normal = 200 g

Volume pemejanaan = 1ml untuk BB 200 g

Dosis = 50 mg/kgBB= 50 mg/1000 gBB= 10 mg/200g/1ml ekstrak

Larutan *stock*/minggu utk 2x pemejanaan=

8 ekor x 2 x 7hari x 1 ml = 112 ml → dibuat 200 ml

Penimbangan → 10 mg/1ml = a / 200 ml

a = 2000mg = 2 g

Pembuatan → 2 g ekstrak kental temulawak + lar. Na CMC 0,1 % ad 200 ml

Volume pemejanaan = 1 mL / 200 g x BB tikus (g)

C. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan, berat 150–200 g dibagi menjadi 5 kelompok (N=6) diberi makan dan minum standar *ad libitum*.

a. Kelompok I (kelompok kontrol normal) : tanpa perlakuan.

- b. Kelompok II (kontrol negatif) : diinduksi CFA pada hari ke-0 dan diamati sampai hari ke-50 (tidak diberi obat maupun ekstrak).
- c. Kelompok III (kontrol positif) : diinduksi CFA pada hari ke-0, pada hari ke-21 sampai hari ke-50 diberi metotrexat 20 mg/kgBB secara per oral 1x sehari.
- d. Kelompok IV (kelompok perlakuan 1) : diinduksi CFA pada hari ke-0, pada hari ke-21 sampai hari ke-50 diberi ekstrak temulawak 25 mg/kgBB p.o 2x sehari.
- e. Kelompok V (kelompok perlakuan 2) : diinduksi CFA pada hari ke-0, pada hari ke-21 sampai hari ke-50 diberi ekstrak temulawak 50 mg/kgBB p.o 2x sehari.

Parameter indeks arthritis diukur setiap dua hari sekali menggunakan tabel pembandingan indeks arthritis. Pada hari ke-50 tikus dimatikan dan dibuat preparat histopatologi telapak kaki yang telah terinduksi CFA.

1. Induksi Arthritis pada Tikus

Arthritis pada tikus diinduksi dengan menggunakan injeksi CFA pada hari ke-0. Sebelum CFA disuntikkan, telapak kaki kanan tikus dibersihkan dengan alkohol (Anonim, 1999b). Masing-masing telapak kaki kanan tikus diinjeksi dengan larutan CFA sebanyak 0,1 ml (Nagakura *et al.*, 2003).

2. Pengukuran Indeks Arthritis

Tingkat arthritis tikus uji dilihat dengan membandingkan gejala yang nampak pada telapak kaki kanan tikus bekas induksi CFA dengan tabel skala nilai arthritis berikut:

Tabel I. Skala nilai arthritis berdasarkan gejala yang timbul (Smit, 2000)

No	Gejala	Nilai
1.	Kemerahan dan bengkak pada salah satu jari kaki	0,25
2.	Kemerahan dan bengkak pada minimal dua jari kaki	0,50
3.	Bengkak pada telapak kaki	0,75
4.	Kemerahan dan bengkak pada jari-jari kaki dan bengkak telapak kaki	1,00
5.	Kemerahan dan bengkak pada jari-jari dan telapak kaki	1,25
6.	Kemerahan dan bengkak pada jari-jari dan sedikit bengkak pada telapak kaki dan sendi	1,50
7.	Kemerahan dan bengkak pada jari-jari dan bengkak sekali pada telapak kaki dan sendi	1,75
8.	Kemerahan dan bengkak pada jari-jari, telapak kaki, dan sendi	2,00

3. Histopatologi Telapak Kaki (Sel Sinovial)

Setelah mendapat perlakuan sampai hari ke-50 tikus dimatikan dengan cara dislokasi servik. Pergelangan kaki diambil dan diawetkan dalam 10% formaldehid, kemudian jaringan didehidrasi, didekalsifikasi, dan diwarnai dengan HE lalu diamati dengan mikroskop (Nagakura, *et al.*, 2003). Adapun tahapan dalam pembuatan preparat histopatologi (Anonim, 1999a) adalah sebagai berikut:

1. Dekalsifikasi

Dekalsifikasi merupakan proses yang bertujuan melunakkan jaringan tulang, sehingga memudahkan pada tahap pemotongan jaringan. Larutan yang digunakan yaitu campuran kristal natrium sitrat, asam format dan aqua destilata. Jaringan direndam selama 1 minggu.

2. *Trimming*

Trimming adalah tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi dengan melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong. Pisau yang digunakan untuk *trimming* adalah pisau skalpel no. 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ.

3. Dehidrasi

Dehidrasi jaringan yang dilakukan setelah trimming menggunakan *tissue processor* dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan, dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau iso propil alkohol. Cairan dehidran ini kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (*clearing agent*) seperti xylene atau toluene. Reagen pembersih ini akan diganti dengan parafin dengan cara penetrasi ke dalam jaringan, proses ini disebut *impregnasi*. Parafin yang digunakan adalah yang mempunyai titik cair 56-58°C. Cairan dalam *tissue processor* sebaiknya diganti tiap 1-2 minggu sekali tergantung banyak sedikitnya jaringan yang telah didehidrasi.

Tabel II. Cairan dalam *tissue processor* pada tahap dehidrasi jaringan (Anonim, 1999a).

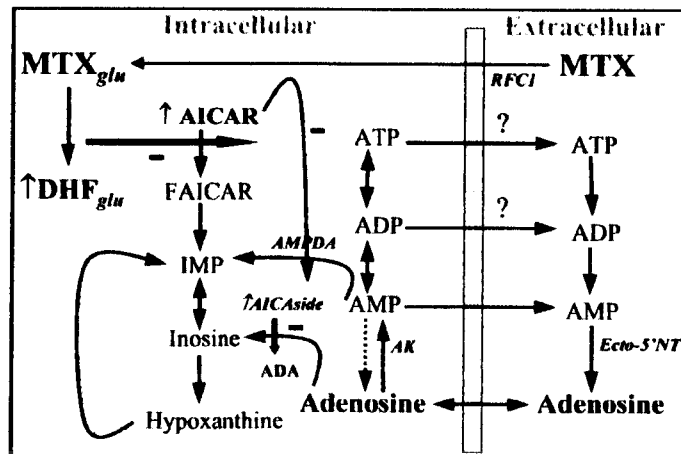
Proses	Cairan	Waktu
<i>Dehidrasi</i>	Alkohol 80 %	2 jam
	Alkohol 95 %	2 jam
	Alkohol 95 %	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
<i>Clearing</i>	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
<i>Impregnasi</i>	Parafin	2 jam
	Parafin	2 jam
	Parafin	2 jam

4. Embedding

Setelah melalui proses dehidrasi, maka jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair, kemudian dilekatkan pada balok kayu ukuran 3x3 cm atau pada *embedding cassette*. Jaringan yang sudah dilekatkan pada balok kayu atau *cassette* disebut blok. Fungsi dari balok kayu atau *cassette* adalah untuk pemegang pada saat blok dipotong pada mikrotom.

5. Cutting

Cutting adalah pemotongan jaringan yang sudah didehidrasi dengan menggunakan mikrotom. Pisau yang tajam akan menghasilkan preparat



Gambar 4. Mekanisme pembentukan adenosin oleh metotrexat (Chan dan Cronstein, 2002).

Pada pemberian secara oral, absorpsi metotrexat tergantung dosis. Pada dosis rendah, absorpsi obat lebih cepat dibanding dosis tinggi. Kadar plasma tertinggi dicapai dalam 1-2 jam, dan $\pm 50\%$ obat terikat oleh protein plasma. Metabolit metotrexat (metotrexat poliglutamat) dapat bertahan selama satu minggu (Diyah dan Hardjono, 2000; Chan dan Cronstein, 2002).

6. Temulawak

a. Klasifikasi tanaman

- Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Monocotyledonae
 Bangsa : Zingiberales
 Suku : Zingiberaceae
 Marga : Curcuma
 Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Anonim, 2000).

b. Deskripsi tanaman

- Habitus : Semak, tinggi $\pm 1,5$ m.
 Batang : Semu, lunak, membentuk rimpang, kuning muda.
 Daun : Tunggal, bulat telur, ujung meruncing, tepi rata, pangkal runcing, permukaan licin, panjang 40-60 cm, lebar 15-20 cm, tangkai panjang 15-25 cm, pertulangan menyirip, hijau.

histologi yang baik, yang secara mikroskopis ditandai dengan tidak adanya artefak berupa goresan vertikal maupun horisontal.

6. *Staining/perwarnaan*

Pewarnaan preparat menggunakan teknik pewarnaan Harris hematoxyline-eosin. Adapun prosedurnya sebagai berikut (Anonim, 1999a):

(a) Xylol (I)	5 menit
(b) Xylol (II)	5 menit
(c) Xylol (III)	5 menit
(d) Alkohol absolut (I)	5 menit
(e) Alkohol absolut (II)	5 menit
(f) Aquades	1 menit
(g) Harris-Hematoxyline	20 menit
(h) Aquades	1 menit
(i) Acid alkohol	2-3 celupan
(j) Aquades	1 menit
(k) Aquades	15 menit
(l) Eosin	2 menit
(m) Alkohol 96 % (I)	3 menit
(n) Alkohol 96 % (II)	3 menit
(o) Alkohol absolut (III)	3 menit
(p) Alkohol absolut (IV)	3 menit
(q) Xylol (IV)	5 menit
(r) Xylol (V)	5 menit
(s) Di- <i>mounting</i> dengan entellan	-

7. *Mounting*

Setelah jaringan pada slide diwarnai, dilakukan *mounting* dengan cara meneteskan bahan *mounting* (entellan) sesuai kebutuhan dan ditutup dengan *coverglass* cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

8. Pembacaan slide dengan mikroskop

Slide diperiksa di bawah mikroskop sinar.

D. Analisis Hasil

Data indeks arthritis yang diperoleh sampai hari ke-20 dan 50 dibandingkan untuk melihat insidensi kejadian arthritis tiap kelompok dan persen perubahan perkembangan arthritis. Persen insidensi oleh Zhang, *et al.*, (1999) dan persen perubahan arthritis dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ insidensi} = \left[\frac{\sum \text{tikus dengan IA} \geq 1}{\sum \text{tikus}} \right] \times 100\%$$

$$\% \text{ perubahan} = \left[\frac{\text{Nilai AUC}_{20-50} - \text{Nilai AUC}_{0-20}}{\text{Nilai AUC}_{0-20}} \right] \times 100\%$$

Sedangkan hasil preparat histopatologi antarkelompok uji dibandingkan secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil pengamatan secara kualitatif berupa ada tidaknya infiltrasi sel radang dan jaringan ikat, diskor untuk melihat perbedaan antara kelompok perlakuan. Skoring dilakukan berdasarkan tabel skor berikut:

Tabel III. Skala skoring hasil histopatologi (Omoto, *et al.*, 2005)

Keterangan	Nilai
Tidak ada sel radang	0
R <	1
R	2
R </> + J	3

Keterangan :

R: infiltrasi sel radang

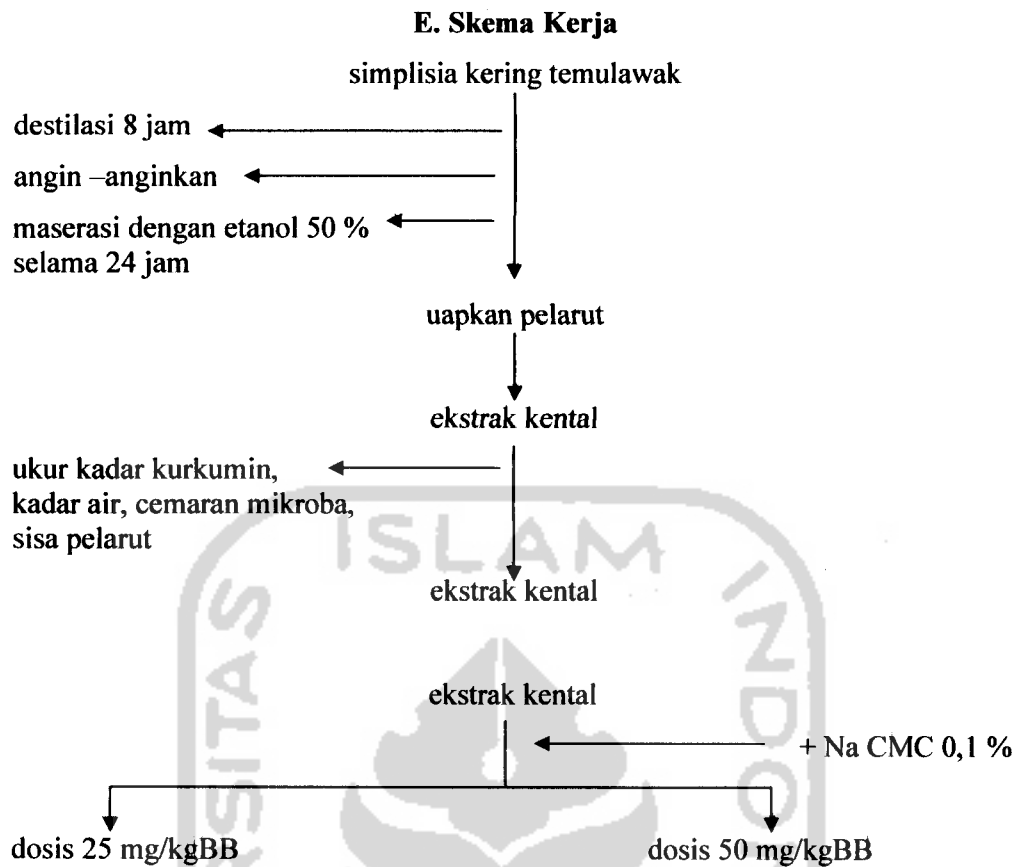
J: jaringan ikat

+ : dan

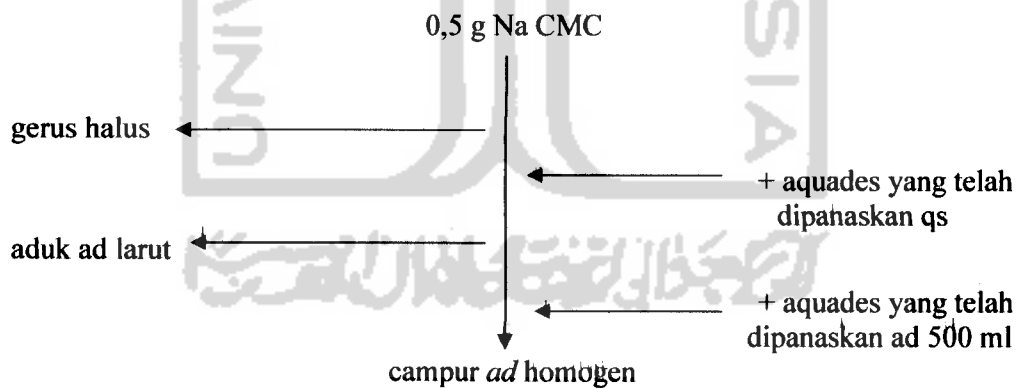
<: jumlah sedikit

>: jumlah banyak

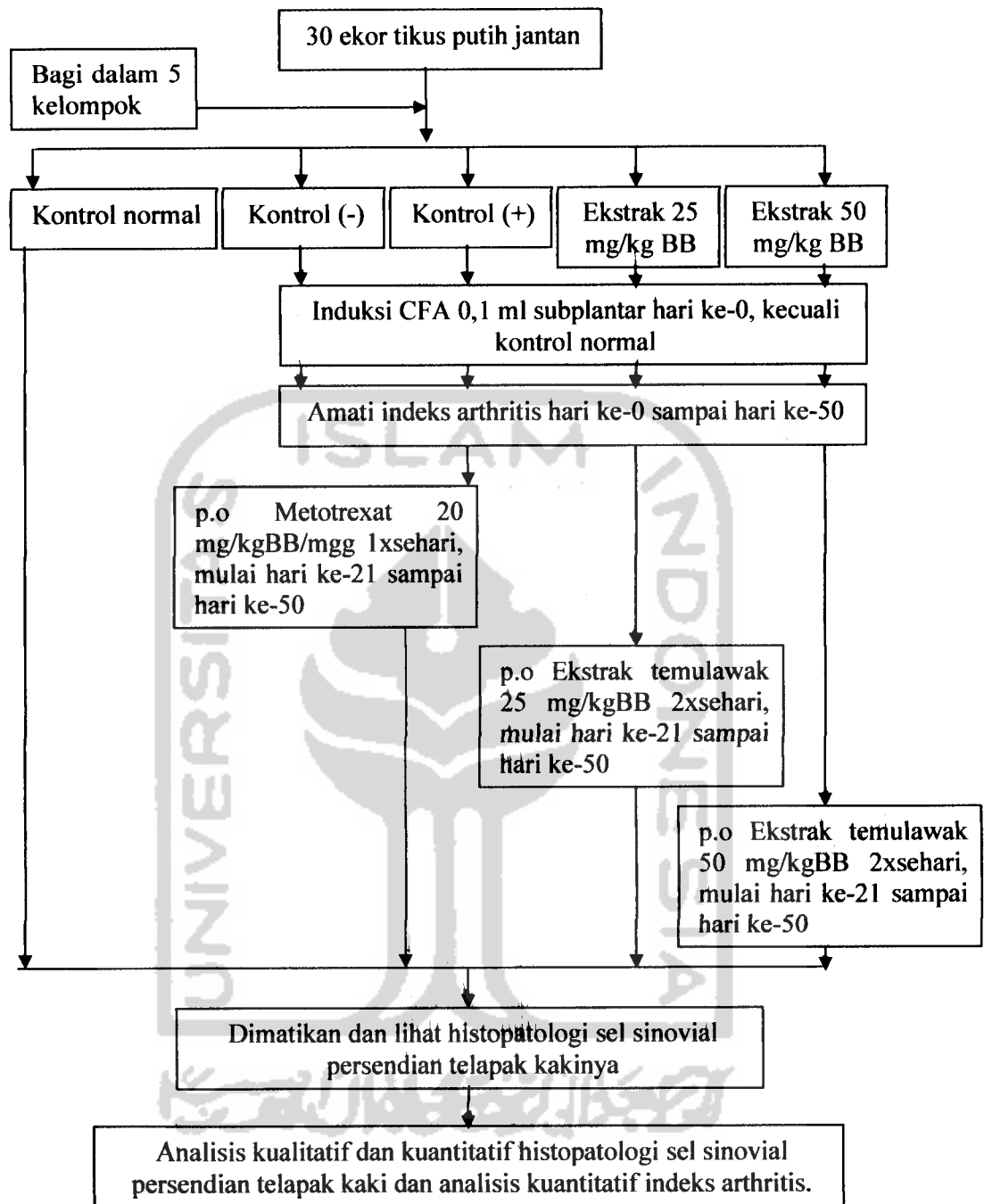
Perubahan indeks arthritis dan hasil skoring histopatologi antarkelompok uji dibandingkan dengan menggunakan analisis statistika *ANOVA* satu arah ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($p < 0,05$).



Gambar 5. Skema pembuatan seri dosis ekstrak etanol temulawak.



Gambar 6. Skema pembuatan larutan Na CMC 0,1%.



Gambar 7. Skema rancangan penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Arthritis rheumatoid (AR) merupakan penyakit (autoimun) inflamasi kronis yang ditandai dengan kerusakan persendian yang bersifat progresif. Penelitian sebelumnya mengidentifikasi adanya kerusakan pembuluh kapiler, edema, kongesti vascular, dan infiltrasi seluler sebagai perubahan patologi awal pada synovium dalam waktu kurang dari 6 minggu (Hirohata dan Sakakibara, 2000). Penelitian ini dirancang untuk mengetahui aktifitas temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb) dalam bentuk ekstrak sebagai anti-AR pada model AR tikus yang diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA).

CFA adalah salah satu penginduksi arthritis yang telah banyak digunakan sebagai model laboratorium untuk mempelajari patofisiologi penyakit ini. CFA berisi *Mycobacterium butyricum* yang dilemahkan, agar arthritis yang terjadi hanya bersifat lokal di daerah yang diinduksi (Nagakura *et al.*, 2003).

Metotrexat digunakan sebagai pembanding obat yang beredar di pasaran karena penggunaannya paling sering dan merupakan pilihan utama pada terapi arthritis, dengan dosis 20 mg/Kg BB per minggu (Olsen dan Stein, 2004). Metotrexat termasuk *Disease Modifying Antirheumatoid Drugs* (DMARDs) yang bekerja mengurangi radang (inflamasi) pada sendi dengan menekan produksi sitokin *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α dan *Interleukin* (IL)-1 (Chan dan Cronstein, 2002). TNF- α dan IL-1 merupakan senyawa poten untuk menstimulasi sel mesenkimal seperti sinovial fibroblast, osteoklast, dan kondrosit yang berperan dalam progresivitas arthritis (Choy dan Panayi, 2001). Metotrexat diberikan secara peroral dan disuspensikan ke dalam larutan Na CMC 0,1 % (Anonim, 1986), karena kelarutan metotrexat praktis tidak larut dalam air (Anonim, 1995).

Ekstrak temulawak diperoleh setelah simplisia rimpang kering temulawak didestilasi selama 8 jam untuk mengurangi kadar minyak atsirinya, lalu dimaserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol 50 % (Anonim 2002). Digunakan pelarut yang bersifat semipolar karena peneliti ingin menyari kandungan temulawak, kurkumin, yang bersifat lipofil. Kandungan inilah yang dicurigai memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi (Wu, 2003; Tohda, *et al.*, 2006). Ekstrak temulawak

juga disuspensikan ke dalam larutan Na CMC 0,1 %, untuk menyamakan larutan pembawa dengan kontrol positif.

Penelitian berjalan selama 50 hari, hari ke-0 sampai hari ke-20 adalah masa induksi arthritis, hari ke-20 sampai hari ke-50 adalah masa pemberian perlakuan (ekstrak temulawak dan metotrexat). Pengelompokan hewan uji menggunakan rancangan acak pola searah, setiap hewan uji mendapat peluang yang sama untuk dimasukkan dalam kelompok tertentu dan hanya mendapatkan satu kali perlakuan. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol normal (tikus diperlakukan secara normal sampai hari ke-50), kontrol negatif (tikus diinduksi CFA pada hari ke-0 dan dibiarkan sampai hari ke-50), kontrol positif (tikus diinduksi CFA pada hari ke-0 dan diberi metotrexat 20 mg/kg BB peroral sampai hari ke-50), perlakuan ekstrak 1 (tikus diinduksi CFA pada hari ke-0 dan diberi ekstrak temulawak 25 mg/kg BB po), dan perlakuan ekstrak 2 (tikus diinduksi CFA pada hari ke-0 dan diberi ekstrak temulawak 50 mg/kg BB po).

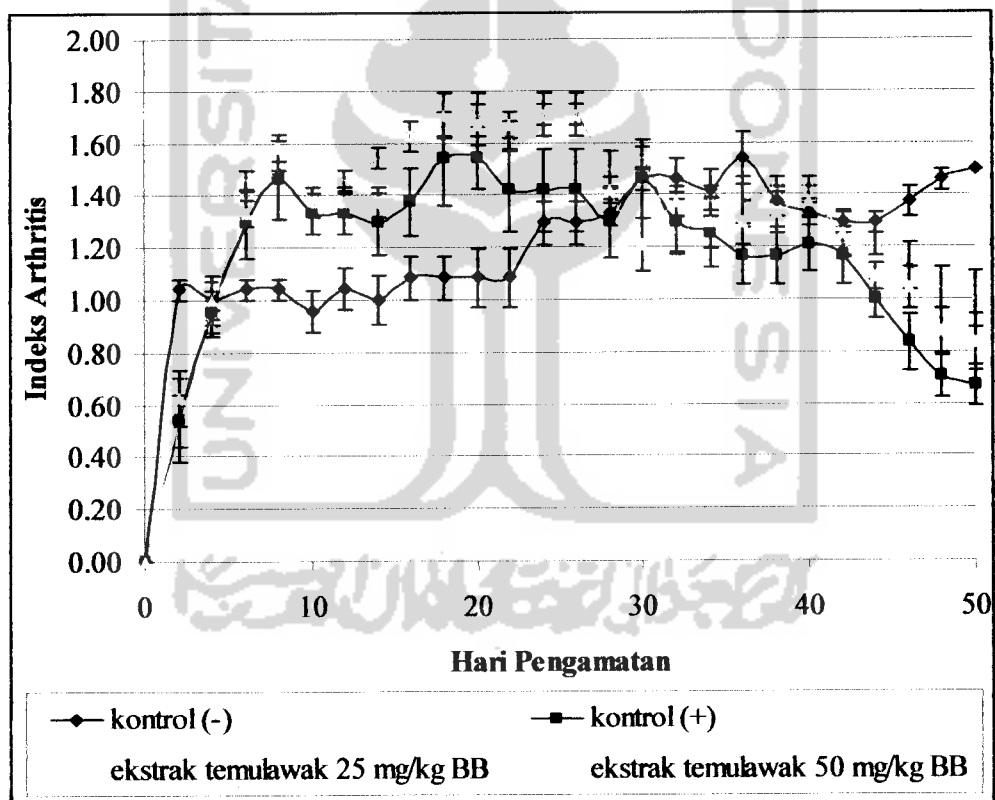
Parameter yang ingin dilihat pada penelitian ini adalah berhasil tidaknya induksi arthritis pada tikus, dilihat dari indeks arthritis dan aktifitas temulawak menghambat progresivitas AR, berdasarkan kemampuannya menghambat perkembangan indeks arthritis dan menghambat terjadinya infiltrasi sel radang pada sel sinovial telapak kaki tikus yang diinduksi CFA secara histopatologi.

A. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak Terhadap Indeks Arthritis Tikus yang Terinduksi CFA (*Complete Freund's Adjuvant*).

Complete Freund's Adjuvant (CFA) merupakan agen penginduksi terjadinya arthritis. CFA diberikan secara subplantar pada telapak kaki tikus. CFA mengandung *Mycobacterium butyricum* yang dilemahkan, bakteri ini diharapkan dapat merangsang terjadinya inflamasi pada telapak kaki tikus. Adanya antigen berupa bakteri merangsang tubuh mengekspresikan pertahanan tubuh berupa sel mast dan sitokin sebagai mediator inflamasi. Aktivasi sel mast pada arthritis rheumatoid dapat menyebabkan pelepasan sel mast proteinase (tryptase dan chymase) merupakan prekursor matrix metalloproteinase (MMP) yang dapat mendegradasi matriks kartilago (Wolley, 2003).

Setiap kelompok yang telah diinduksi dengan CFA, diamati perkembangan tingkat keparahan arthritisnya setiap dua hari sekali, berdasarkan derajat kemerahan dan bengkak pada jari kaki, telapak kaki, dan pergelangan kaki, dengan skor maksimum sama dengan dua. Penilaian tingkat keparahan arthritis pada hewan uji dilakukan oleh satu orang pengamat secara *independent*, kemudian hasil pengamatan diinterpretasikan sebagai indeks arthritis (IA) berdasarkan gejala yang timbul. Hewan uji dapat dikatakan positif terkena arthritis ketika $IA \geq 1$. Ada dua titik akhir yang dilihat untuk mengevaluasi parameter ini, yaitu insidensi arthritis (hanya termasuk tikus dengan $IA \geq 1$) dan keparahan arthritis (termasuk semua tikus) (Smit, 2000).

Dari hasil pengamatan diperoleh gambaran perubahan indeks arthritis pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan ekstrak temulawak selama dilakukan penelitian yang tersaji pada grafik di bawah ini:



Gambar 8. Grafik perubahan indeks arthritis setiap kelompok dari hari ke-0 sampai hari ke-50. Masing-masing kelompok diinduksi dengan CFA 0,1 ml secara subplantar pada hari ke-0. Kelompok kontrol positif dan perlakuan mulai dipejankan dengan metotrexat dan ekstrak temulawak pada hari ke-21 secara peroral.

Berdasarkan grafik, semua kelompok perlakuan berhasil diinduksi dengan CFA karena telah mengalami arthritis pada hari ke-20, dengan masing-masing indeks arthritis ($X \pm SE$), kelompok kontrol negatif ($1,08 \pm 0,11$), kontrol positif ($1,54 \pm 0,19$), ekstrak temulawak 25 mg/kg BB ($1,67 \pm 0,08$), dan ekstrak temulawak 50 mg/kg BB ($1,71 \pm 0,08$). Penelitian lain mengenai induksi arthritis yang dilakukan Caceres *et al.* (2000), tikus telah mengalami arthritis pada hari ke-16. Nilai indeks arthritis pada kontrol negatif lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang lain, kemungkinan disebabkan progresifitas penyakit pada kelompok ini berjalan lebih lambat, karena penyakit ini melibatkan sistem imun, dan setiap individu hewan uji memiliki sistem imun yang berbeda. Hal ini didukung oleh data kadar leukosit dan neutrofil pada kontrol negatif pada hari ke-20 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lain.

Tabel IV. Persentase perubahan kadar leukosit tikus pada hari 0-20 (Pradana, 2007)

Kelompok	N	% perubahan leukosit (Hari 0-20; $X \pm SE$)
Kontrol negatif	6	-13,12 \pm 13,00
Kontrol positif	6	22,07 \pm 18,62
Ekstrak 25 mg	6	17,76 \pm 19,92
Ekstrak 50 mg	6	25,16 \pm 25,52

Tanda (-) : menunjukkan penurunan nilai

Tabel V. Persentase perubahan kadar neutrofil tikus pada hari 0-20 (Pradana, 2007)

Kelompok	N	% perubahan kadar neutrofil (Hari 0-20; $X \pm SE$)
Kontrol negatif	6	-21,81 \pm 16,99
Kontrol positif	6	116,71 \pm 77,36
Ekstrak 25 mg	6	100,70 \pm 52,84
Ekstrak 50 mg	6	70,49 \pm 45,54

Tanda (-) : menunjukkan penurunan nilai

Pengujian kelompok kontrol positif dan perlakuan diteruskan dengan pemberian metotrexat dan ekstrak temulawak, kemudian diamati perubahan indeks arthritisnya sampai dengan hari ke-50. Pada akhir masa uji, masing-masing kelompok uji menunjukkan nilai IA ($X \pm SE$) sebagai berikut; kelompok kontrol negatif ($1,50 \pm 0,00$), kontrol positif ($0,67 \pm 0,08$), ekstrak temulawak 25 mg/kg BB ($0,83 \pm 0,11$), dan ekstrak temulawak 50 mg/kg BB ($1,00 \pm 0,11$). Hanya kontrol negatif dan ekstrak temulawak 50 mg/kg BB yang menunjukkan nilai IA \geq 1, sedangkan kontrol positif dan ekstrak temulawak 25 mg/kg BB menunjukkan

nilai $IA \leq 1$, berarti obat metotrexat dan ekstrak temulawak dosis 25 mg/kg yang digunakan berhasil mengurangi tingkat keparahan arthritis pada hewan uji. Perubahan kadar leukosit dan neutrofil pada hari ke-50 dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel VI. Persentase perubahan kadar leukosit tikus pada hari 20-51 (Pradana, 2007)

Kelompok	N	% perubahan leukosit (Hari 20-51; $X \pm SE$)
Kontrol negatif	6	35,61 \pm 10,18
Kontrol positif	6	-11,32 \pm 15,28
Ekstrak 25 mg	6	-31,59 \pm 11,94
Ekstrak 50 mg	6	-13,49 \pm 11,49

Tanda (-) : menunjukkan penurunan nilai.

Tabel VII. Persentase perubahan kadar neutrofil pada tikus hari 20-51 (Pradana, 2007)

Kelompok	N	% perubahan kadar neutrofil (Hari 20-51; $X \pm SE$)
Kontrol negatif	6	-4,67 \pm 15,58
Kontrol positif	6	34,47 \pm 7,68
Ekstrak 25 mg	6	-11,82 \pm 38,32
Ekstrak 50 mg	6	-23,66 \pm 10,14

Tanda (-) : menunjukkan penurunan nilai

Kejadian arthritis pada tiap kelompok uji yang digunakan untuk melihat keberhasilan induksi arthritis dan menilai efektifitas ekstrak temulawak, dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel VIII. Persentase insidensi arthritis pada tiap kelompok uji

Hari ke-	Persen Insidensi			
	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Ekstrak Temulawak 25 mg/kg BB	Ekstrak Temulawak 50 mg/kg BB
20	83,33 %	100 %	100 %	100 %
50	100 %	16,67 %	66,67%	83,33 %

Semua hewan uji pada kelompok kontrol positif dan perlakuan telah mengalami arthritis pada hari ke-20, kecuali kontrol negatif hanya 83,33 % dari populasi hewan uji yang mengalami arthritis. Pada hari ke-50, terjadi penurunan kejadian arthritis pada kelompok kontrol positif, perlakuan ekstrak temulawak dosis 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB, masing-masing sebesar 83,33 %, 33,33 % dan 16,67 %. Hal ini membuktikan ekstrak temulawak dapat mengurangi kejadian arthritis pada hewan uji.

Tingkat keparahan arthritis pada kelompok uji dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel IX. % perubahan perkembangan arthritis kelompok uji

Kelompok	% Perubahan indeks arthritis ($X \pm SE$)
Kontrol negatif	108,19 \pm 9,18
Kontrol positif	50,68 \pm 3,78
Ekstrak temulawak 25 mg/kg BB	54,81 \pm 3,36
Ekstrak temulawak 50 mg/kg BB	61,11 \pm 4,12

Tabel X. Matriks signifikansi % perubahan indeks arthritis ($p < 0,05$)

Kelompok	Kontrol negatif	Kontrol positif	Ekstrak temulawak 25 mg/kg	Ekstrak temulawak 50 mg/kg
Kontrol negatif	-	0,000*	0,000*	0,000*
Kontrol positif	0,000*	-	0,953	0,567
Ekstrak 25 mg	0,000*	0,953	-	0,858
Ekstrak 50 mg	0,000*	0,567	0,858	-

Tanda * : menunjukkan berbeda bermakna pada level 0,05.

Persen perubahan perkembangan arthritis setiap kelompok uji dihitung dengan membandingkan nilai AUC hari ke-0-20 (masa induksi arthritis) dengan nilai AUC hari ke-20-50 (masa pemberian perlakuan). Terjadi perubahan tingkat keparahan arthritis ($X \pm SE$) pada kelompok kontrol positif, perlakuan ekstrak temulawak dosis 25 mg/kg dan 50 mg/kg, masing-masing sebesar 50,68 % \pm 3,78; 54,81 % \pm 3,36; dan 61,11 % \pm 4,12. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif terjadi perubahan tingkat keparahan arthritis terbesar, yaitu 108,19 % \pm 9,18. Semakin besar perubahan yang terjadi, semakin tinggi pula tingkat keparahan arthritis pada kelompok tersebut. Persen perubahan indeks arthritis kelompok kontrol positif dan perlakuan ekstrak berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Ekstrak temulawak 25 mg/kg lebih efektif mengurangi keparahan arthritis dibandingkan ekstrak temulawak 50 mg/kg.

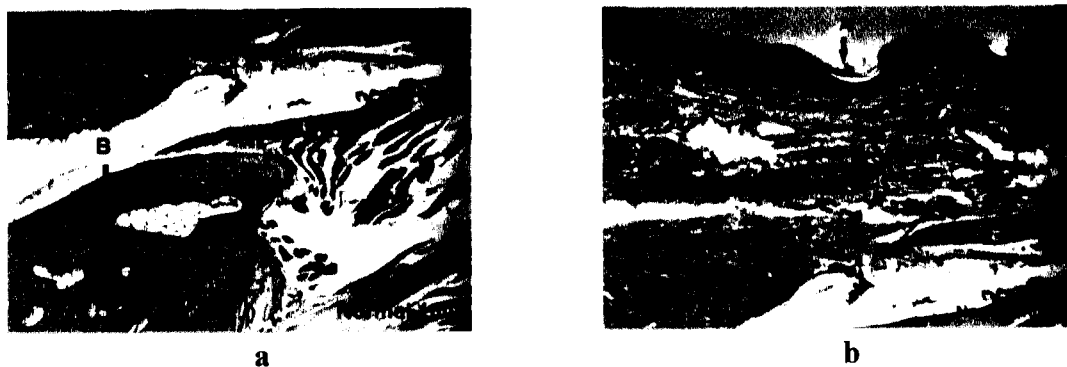
Gejala kemerahan dan bengkak pada jari, telapak, dan pergelangan kaki hewan uji yang diinduksi CFA merupakan salah satu ciri terjadinya proses inflamasi di daerah tersebut, ditandai dengan meningkatnya aliran darah yang membawa agen pertahanan tubuh terhadap benda asing (bakteri). Angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru akan mendukung terjadinya infiltrasi seluler sebagai perubahan patologi awal pada synovium (jaringan yang mengalami

peradangan/inflamasi) (Hirohata dan Sakakibara, 2000). Angiogenesis juga memegang peranan penting pada tahap inisiasi dan pemeliharaan panus, jaringan sinovium yang meradang, yang dapat menginvasi kartilago pada persendian. Sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi juga dapat menginduksi dilatasi lokal pembuluh kapiler yang akan mengakibatkan peningkatan aliran darah, sehingga kulit tampak memerah (Parham, 2005).

Adanya faktor pertumbuhan (*growth factors*) menyebabkan proliferasi sel endotelial yang memegang peranan penting dalam proses angiogenesis. Kurkumin yang terkandung dalam ekstrak temulawak dapat menekan proliferasi sel endotelial pada pembuluh manusia (*in vitro*) dan menghambat *fibroblast growth factor-2* yang menginduksi respon angiogenik (*in vivo*) (Aggarwal, *et al.*, 2005). Terhambatnya proses angiogenesis di daerah peradangan dapat mengurangi infiltrasi seluler sehingga dapat mengurangi inflamasi dan mencegah kerusakan kartilago.

B. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Temulawak Terhadap Perubahan Histopatologi sel sinovial Telapak Kaki Tikus yang Terinduksi CFA (*Complete Freund's Adjuvant*).

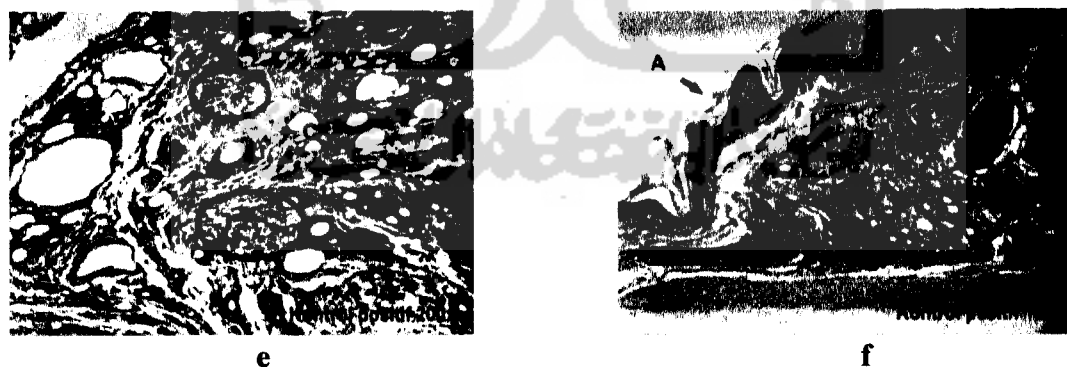
Pemeriksaan hasil histopatologi jaringan dapat membantu penilaian efektif tidaknya senyawa yang diujikan, yaitu kemampuan ekstrak temulawak mengurangi keparahan arthritis pada telapak kaki tikus yang diinduksi dengan CFA. Penilaian hasil pembacaan histopatologi dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Penilaian secara kualitatif dengan pengamatan kerusakan jaringan preparat dengan melihat banyak sedikitnya infiltrasi sel radang dan terbentuknya jaringan ikat. Infiltrasi sel radang terjadi karena banyaknya mediator inflamasi (proinflamatori sitokin) dan agen pertahanan tubuh (monosit, neutrofil, limfosit) yang diekspresikan ke daerah peradangan. Terbentuknya jaringan ikat sebagai indikator membaiknya jaringan. Preparat histopatologi dibuat dengan melakukan potongan secara membujur pada organ telapak kaki tikus, menggunakan pewarnaan Hematoxyline-Eosin. Hasil preparat histopatologi secara mikroskopi dapat diamati pada gambar berikut ini:



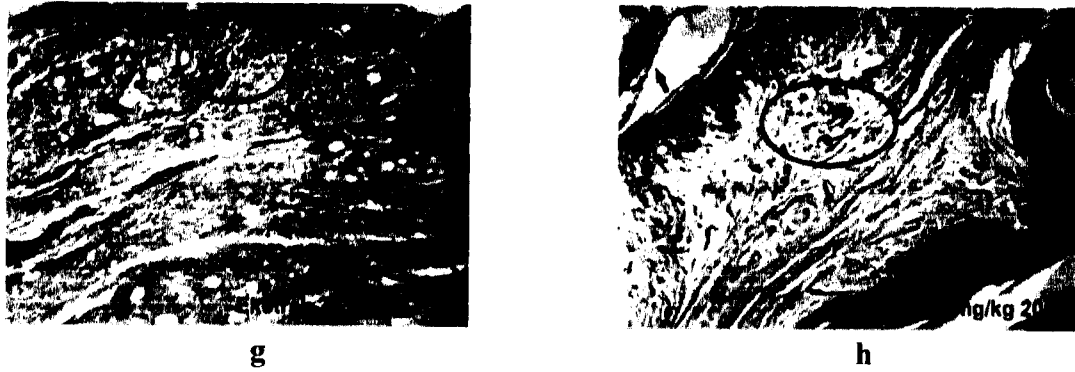
Gambar 9 (a dan b). Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok normal. Pengamatan tidak menunjukkan adanya infiltrasi sel radang dan jaringan ikat, karena pada kelompok ini tidak diinduksi CFA (A. lapisan kulit, B. Jaringan tulang, dengan perbesaran 100x).



Gambar 10 (c dan d). Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok kontrol negatif. Pengamatan menunjukkan sel radang (C) dalam jumlah yang banyak dan mulai terlihat adanya panus (E), jaringan sinovium yang meradang, yang dapat menginvasi kartilago pada persendian (A. lapisan kulit, B. Jaringan tulang, dengan perbesaran 200x).



Gambar 11 (e dan f). Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok kontrol positif. Hewan uji dipejankan obat metotrexat 2,5 mg/kg BB/hari selama 30 hari setelah induksi CFA, menunjukkan penurunan jumlah sel radang (C) pada sel sinovial dan mulai terbentuk jaringan ikat (D) sebagai mekanisme pemulihan jaringan yang mengalami peradangan (A. Lapisan kulit, dengan perbesaran 100 dan 200x).



Gambar 12 (g dan h). Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok perlakuan ekstrak 1. Hewan uji dipejankan ekstrak temulawak 25 mg/kg BB selama 30 hari setelah diinduksi CFA, menunjukkan penurunan jumlah sel radang (C) pada sel sinovial dibandingkan kelompok kontrol negatif, dan juga mulai terbentuk jaringan ikat (D) seperti pada kelompok kontrol positif (B. Jaringan tulang, dengan perbesaran 200x).



Gambar 13 (i dan j). Hasil pemeriksaan mikroskopi histopatologi sel sinovial kelompok perlakuan ekstrak 2. Hewan uji dipejankan ekstrak temulawak 50 mg/kg BB selama 30 hari setelah diinduksi CFA, juga menunjukkan penurunan jumlah sel radang (C), namun tidak lebih baik dibandingkan kontrol positif dan perlakuan ekstrak 1 (A. Lapisan kulit, B. Jaringan tulang, dengan perbesaran 200x).

Berdasarkan analisis kualitatif, pada kelompok normal tidak terlihat adanya sel radang, karena hewan uji tidak diinduksi dengan CFA sehingga tidak terjadi peradangan pada jaringan telapak kakinya. Berbeda dengan kontrol negatif, terlihat sel radang dalam jumlah yang banyak dibandingkan dengan kelompok uji lain. Terlihat pula mulai terbentuknya panus yang mulai menginvasi kartilago. Kelompok ekstrak 25 mg/kg lebih baik mengurangi radang dibandingkan kelompok ekstrak 50 mg/kg, karena sel radang yang terlihat lebih sedikit dan mulai terbentuk jaringan ikat. Terbentuknya jaringan ikat/jaringan parut merupakan proses perbaikan tubuh setelah reaksi peradangan berhenti. Pembentukan jaringan parut melibatkan proliferasi jaringan ikat (jaringan granulasi) mulai dari daerah-daerah yang berbatasan dengan jaringan nekrotik

meluas ke dalam daerah yang telah jaringannya dihancurkan oleh reaksi peradangan (Price dan Wilson, 2006). Sedangkan pada kontrol positif jumlah sel radang terlihat berkurang lebih baik dibandingkan kelompok perlakuan ekstrak 25 mg/kg dan 50 mg/kg. Sehingga kontrol positif lebih baik mengurangi radang dibandingkan keduanya.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menskoring hasil pemeriksaan histopatologi telapak kaki hewan uji. Adapun hasil pemeriksaan histopatologi sebagai berikut:

Tabel XI. Hasil pemeriksaan histopatologi telapak kaki hewan uji

Kode	Kontrol positif	Kontrol negatif	Normal	Ekstrak temulawak 25 mg/kg BB	Ekstrak temulawak 50 mg/kg BB
1.	R	R + J	-	R >	R
2.	R + J	R + J	-	R + J	R + J
3.	R	R	-	R <	R <
4.	R <	R	-	R + J	R >
5.	R	R	-	R <	R > + J

Keterangan :

R: infiltrasi sel radang <: jumlah sedikit
 J: jaringan ikat >: jumlah banyak
 +: dan

Tabel XII. Skoring hasil pemeriksaan histopatologi

Kode	Kontrol positif	Kontrol negatif	Normal	Ekstrak temulawak 25mg/kgBB	Ekstrak temulawak 50mg/kgBB
1.	2	3	0	3	2
2.	3	3	0	3	3
3.	2	2	0	1	1
4.	1	2	0	3	3
5.	2	2	0	1	3
Total	10	12	0	11	12

Tabel XIII. Matriks signifikasi skoring hasil pemeriksaan histopatologi (p < 0,05)

Kelompok	Kontrol positif	Kontrol negatif	Normal	Ekstrak temulawak 25 mg/kg	Ekstrak temulawak 50 mg/kg
Kontrol +	-	0,913	0,003*	0,993	0,913
Kontrol -	0,913	-	0,001*	0,993	1,000
Normal	0,003*	0,001*	-	0,001*	0,001*
Ekstrak 25	0,993	0,993	0,001*	-	0,993
Ekstrak 50	0,913	1,000	0,001*	0,993	-

Tanda * : menunjukkan berbeda bermakna pada level 0,05.

Adapun kriteria skoring yang digunakan adalah berdasarkan Omoto *et al.* (2005) yaitu, bila tidak terjadi infiltrasi sel radang diberi nilai 0, bila terjadi infiltrasi sel radang dalam jumlah yang sedikit diberi nilai 1, bila terjadi infiltrasi sel radang diberi nilai 2, dan bila terjadi infiltrasi sel radang (sedikit/banyak) dan timbul jaringan ikat diberi nilai 3. Skor setiap kelompok dijumlahkan dan dihasilkan urutan jumlah skor terbesar secara berurutan adalah kontrol negatif, perlakuan ekstrak temulawak 50 mg/kg, perlakuan ekstrak temulawak 25 mg/kg, kontrol positif dan kelompok normal. Ekstrak temulawak 25 mg/kg lebih baik mengurangi peradangan dibandingkan ekstrak temulawak 50 mg/kg, namun tidak lebih baik dibandingkan kontrol positif. Hal ini didukung oleh daya antiinflamasi ekstrak temulawak 25 mg/kg lebih besar dibandingkan ekstrak temulawak 50 mg/kg.

Tabel XIV. Persentase daya antiinflamasi (Damaratining, 2007)

Kelompok uji	Kontrol positif	Ekstrak temulawak 25 mg/kg	Ekstrak temulawak 50 mg/kg
% Daya Antiinflamasi	6,58 %	4,69 %	2,40 %

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, ekstrak temulawak yang mengandung senyawa kurkumin, khususnya, dapat mengurangi keparahan penyakit arthritis pada tikus yang diinduksi CFA. Pada hari ke-50, tikus yang terkena arthritis menunjukkan penurunan gejala peradangan secara visual oleh penurunan indeks arthritis, kecuali kontrol negatif. Hasil pemeriksaan histopatologi jaringan telapak kaki tikus juga mendukung efektifitas ekstrak temulawak dalam mengurangi keparahan arthritis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa :

1. Ekstrak temulawak dosis 25 mg/kg BB dapat mengurangi perkembangan indeks arthritis lebih baik dibandingkan ekstrak temulawak dosis 50 mg/kg BB.
2. Dari hasil pemeriksaan histopatologi, ekstrak temulawak dapat mengurangi inflamasi pada sendi sinovial, hal ini terlihat dari pengurangan jumlah sel radang.

B. Saran

1. Pengamatan terhadap indeks arthritis sebaiknya dilakukan oleh lebih dari satu orang pengamat secara *independent*.
2. Perlunya pertimbangan memakai skala indeks arthritis lain dengan range skala penilaian yang lebih besar, sehingga memudahkan pengamat dalam pemberian nilai terhadap gejala arthritis.
3. Perlunya parameter lain sebagai penegas terjadinya arthritis pada hewan uji, seperti biopsi cairan sinovial hewan uji dan pengukuran proinflamatori sitokin (TNF- α , IL-6) dalam darah.
4. Perlunya pemeriksaan histopatologi yang lebih lengkap mengenai jenis sel radang yang terlibat dalam progresivitas arthritis, perubahan ketebalan membran sinovial akibat peradangan, hingga perubahan kartilago sendi sinovial.
5. Pertimbangan menggunakan *immunostaining* untuk melihat VEGF (*vascular endothelial growth factor*) yang terlibat dalam kejadian arthritis pada hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B. B., Kumar, A., Aggarwal, M. S., and Shishodia, S., 2005, *Curcumin Derived from Turmeric (Curcuma longa): a Spice for All Seasons*, available at <http://www.agrawal.org/PDF/Curcumin-Season-Bw1.pdf> (diakses 25 Januari 2007).
- Ahmed, S., Anuntiyo, J., Charles, J., Malemud, C. J., and Haqqi, T. M., 2005, Biological Basis for the Use of Botanicals in Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis : A Review, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2 (3): 301-308.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 541.
- Anonim, 1999a, *Manual Standar Metode Diagnosa Laboratorium Kesehatan Hewan*, Direktorat Bina Kesehatan Hewan-Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta, 427-429.
- Anonim, 1999b, *IACUC Guidelines For The Use Of Complete Freund's Adjuvant in Laboratory Animals*, available at <http://www.upenn.edu/regulatoryaffairs/animal/guides/3useOfCompleteFreundAdjuvant.pdf> (diakses 21 Maret 2007).
- Anonim, 2000, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid 1, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 85.
- Anonim, 2002, *Curcuminoids*, available at <http://www.curcuminoids.htm> (diakses 1 Agustus 2006).
- Anonim, 2005a, *Arthritis One of Three U.S. Adults Are Affected by Arthritis or Chronic Joint Symptoms*, available at <http://www.allaboutarthritis.com/html> (diakses 11 Mei 2005).
- Anonim, 2005b, *Guidelines for the Research Use of Adjuvants*, available at <http://www.oacu.od.nih.gov/ARAC/friends.pdf> (diakses 21 Maret 2007).
- Anonim, 2006, *Rheumatoid Arthritis*, available at http://www.lef.org/protocols/immune_connective_joint/rheumatoid_arthritis_01.htm (diakses 21 Maret 2007).
- Bajpai, R. N., 1991, *Osteologi Tubuh Manusia*, diterjemahkan oleh Ridwan Harrianto, Binarupa Aksara, Jakarta, 8-9.
- Cáceres, I de, Villanúa, M. A., Soto, L., Martín, A. I., Calderón, A. L., 2000, IGF-I and IGF-I-binding proteins in rats with adjuvant-induced arthritis given recombinant human growth hormone, *J Endocrino*, 165: 537-544.

- Cash, J. M., and Klippel, J. H., 1994, Second-Line Drug Therapy for Rheumatoid Arthritis, *N Engl J Med*, 330 (19): 1368-1375.
- Chan, E. S. L., and Cronstein, B. N., 2002, Molecular Action of Methotrexate in Inflammatory Diseases, *Arthritis Res*, 4 (4): 266-273.
- Choy, E. H., and Panayi, G. S., 2001, Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis, *N Engl J Med*, 344: 907-916.
- Dalimartha, S., 2004, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 2, Penerbit Trubus Agriwidya, Jakarta, hal. 182-185.
- Damaratining, A., 2007, Efek Analgetik dan Antiinflamasi Ekstrak Etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb) Pada Model *Rheumatoid Arthritis* Tikus Wistar Jantan yang Terinduksi CFA (*Complete Freund'n Adjuvant*), skripsi, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Diyah, N. W., dan Hardjono, S., 2000, Hubungan Struktur-Aktivitas Obat Antikanker, Dalam Siswandono, Soekardjo, B., *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Airlangga University Press, Surabaya, 173.
- Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., and Schnekenburger, M., 2005, Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin, *Cancer Lett*, 223 (2) :181-190.
- Geneser, F., 1994, *Buku Teks Histologi*, Jilid I, diterjemahkan oleh Gunawijaya, F. A., Kartawiguna, E., Arkeman, H., Binarupa Aksara, Jakarta, 254, 256-258, 263-264.
- Hayes, P., dan Mackay, T., 1993, *Diagnosis dan Terapi Penyakit*, Penerbit EGC, Jakarta.
- Hirohata, S., dan Sakakibara, J., 2000, Synovial Histopathology in Early Rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum*, 1: S38
- Junqueira, L. Carlos, Carneiro, Jose, Kelley, and Robert, O., 1998, *Histologi Dasar*, Edisi VIII, diterjemahkan oleh Tambayong, J., Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta, 152-154.
- Koch, A., E., 1998, Angiogenesis Implications for Rheumatoid Arthritis, *Arthritis Rheum*, 41: 951-962.
- Lange, F., Bajtner, E., Rintisch, C., Nandakumar, K. S., Sack, U., and Holmdahl, R., 2004, Methotrexate ameliorates T cell dependent autoimmune arthritis and encephalomyelitis but not antibody induced or fibroblast induced arthritis, *Ann Rheum Dis*, 64: 599-605.

- Mitchell, T., 2002, *A Report On Curcumin's Anti-Cancer Effects*, available at http://www.lef.org/magazine/mag_all.html (diakses 25 Januari 2007).
- Mochadsjah, O. K., Wongso, S., Nasution, A. R., Adnan, H. M., Isbagio, H., Tambunan, H. A. S., Albar, Z., Daud, R., Setiyohadi, B., Kasjmir, Y. I., Pramudyo, R., Soenarto., Santoso, G. H., Effendi, Z., Kalim, H., Putra, T. R., dan Tehupeior, E., 1996, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid 1, Edisi III, Penerbit Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Moll, J. M. H., 1995, *Atlas Bantu Reumatologi*, diterjemahkan oleh Carolene Wijaya, Penerbit Hipokrates, Jakarta.
- Nagakura, Y., Okada, M., Kohara, A., Kiso, T., Toya, T., Iwai, A., Wanibuchi, F., and Yamaguchi, T., 2003, Allodynia and Hyperalgesia in Adjuvant-Induced Arthritis Rats: Time Course of Progression and Efficacy of Analgesics, *J Pharmacol Exp Ther*, 306: 490-497.
- O'Dell, J. R., 2004, Therapeutic Strategies for Rheumatoid Arthritis, *N Engl J Med*, 350 (25): 2591-2602.
- Olsen, N. J., and Stein, C. M., 2004, New Drugs For Rheumatoid Arthritis, *N Engl J Med*, 350 (21): 2167-2179.
- Omoto, A., Kawahito, Y., Prudovsky, I., Tubouchi, Y., Kimura, M., Ishino, H., Wada, M., Yoshida, M., Kohno, M., Yoshimura, R., Yoshikawa, T., and Sano, H., 2005, Copper Chelation with Tetrathiomolybdate Suppresses Adjuvant-Induced Arthritis and Inflammation-Associated Cachexia in Rats, *Arthritis Res Ther*, 7: R1174-R1182.
- Parham, P., 2005, *The immune system*, Edisi II, Penerbit Garland Science, Tylor & Francis Group, New York-London, 8.
- Pradana, D. A., 2007, Efek *Curcuma xanthorrhiza*, Roxb Terhadap Tekanan Darah dan Gambaran Hematologi Darah pada Kasus Arthritis Rheumatoid Tikus Wistar Jantan, *skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Price, S. A., and Wilson, L. M., 1995, *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses penyakit*, Jilid 2, Edisi IV, diterjemahkan oleh Peter Anugerah, Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta, 1223-1227.
- Price, S. A., and Wilson, L. M., 2006, *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses penyakit*, Jilid 1, Edisi VI, diterjemahkan oleh Brahm U. Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, Dewi Asih Mahanani, Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta, 72-73.
- Rukmono, 1998, *Patologi*, Bagian Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran UI, Jakarta.

- Smit, H. F., 2000, *Picrorhiza scrophularii* Flora From Traditional Use To Immunomodulatory Activity, available at <http://indianmedicine.ub.rug.nl/archives/pdf/0001smit.pdf> (diakses tanggal 20 Januari 2007).
- Smith, H. R., 2006, *Rheumatoid Arthritis*, available at <http://www.emedicine.com/medtopic2024.htm>(diakses 24 Agustus 2006).
- Tjay, T. H., dan Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Penerbit PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Tohda, C., Nakayama, N., Hatanaka, F., and Komatsu, K., 2006, Comparison of Anti-inflammatory Activities of Six *Curcuma* Rhizomes: A Possible Curcuminoid-independent Pathway Mediated by *Curcuma phaeocaulis* Extract, *Evid Based Complement Alternat Med*, 3 (2): 255-260.
- Wolley, D. E., 2003 , The Mast Cell in Inflammatory Arthritis, *N Engl J Med*, 348 (17): 1709-1711.
- Wu, N. C., 2003, Safety and Anti-Inflammantory Activity of Curcumin: A Component of Tumeric (*Curcuma longa*), *J Alter Complement Med*, 9 (1): 161-168.
- Zhang, L., Mia, M. Y., Zheng, C. L., Hossain, M. A., Yamasaki, F., Tokunaga, O., Kohashi, O., 1999, The Preventive Effects of Incomplete Freund's Adjuvant and Other Vehicles on The Development of Adjuvant-Induced Arthritis In Lewis Rats, *Immunology*, 98: 267-272.

Lampiran 1

Surat keterangan determinasi

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI**

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

SURAT KETERANGAN
Nomor:85/ UII/Jur Far/ det/IV/2006

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi
Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Ari Wibowo
NIM : 03613054
Pada Tanggal : 21 April 2006

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok
Budlarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Curcuma xanthorrhiza*, Roxb (temulawak)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 22 April 2006
Bagian Biologi Farmasi
Kepala



Asih Triastuti, S.F., Apt
NIP. 03.469/MP

Lampiran 2

Surat keterangan asal usul hewan uji

**PENGEMBANGAN HEWAN PERCOBAAN MANDIRI (PHPM)
KENTINGAN RT. 04 RW. 09 SINDUMARTANI NGEMLAK
SLEMAN YOGYAKARTA 55584
TELP : 0274 7842853**

**SURAT KETERANGAN
Nomor : 22/Ktg/Slm/Rt.04/2007**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : **Sumarna**

Selaku koordinator Pengembangan Hewan Percobaan Mandiri (PHPM) menerangkan bahwa yang digunakan penelitian :

Peneliti : **Ari Wibowo**

Institusi : **F. MIPA UII Jl. Kaliurang Km. 14,5 Yogyakarta**

NIM/NIP : **03613054**

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi :

Tikus Galur : **Wistar**

Umur : **1,5-2 bulan**

Keterangan : **sehat**

Jenis kelamin : **Jantan**

Jumlah : **30 ekor**

Asal Usul Hewan : **Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP)
UGM Yogyakarta**

Yang pengelolaannya telah bersertifikasi dan disesuaikan dengan standar baku penelitian.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebaik-baiknya.

Yogyakarta, 15 April 2007
Koordinator,



Lampiran 3

Surat keterangan hasil pemeriksaan histopatologi telapak kaki hewan uji



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
LABORATORIUM PATOLOGI
 FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
 UNIVERSITAS GADJAH MADA

Jl. Agro, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 9061103, 9061107, 560862

Hal : hasil histopatologi

Kepada

Yth. Sdr. Ari Wibowo

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA

UJI - Yogyakarta

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil pemeriksaan histopatologi sendi mencit sbb.:

Kode	Kontrol +	Kontrol -	Normal	25 mg.	50 mg.
1.	R	R + J	-	R + J	R
2.	R + J	R + J	-	R + J	R + J
3.	R	R	-	R >	R <
4.	R <	R	-	R + J	R >
5.	R + J	R <	-	R <	
6.		R	-	R	R > + J
7.	R	R <	-	R + J	R <
8.		R <	-	R <	R > + J

Keterangan :

R : infiltrasi sel radang

< : jumlah sedikit

J : jaringan ikat

> : jumlah banyak

Demikian hasilnya, diucapkan terima kasih atas kerja samanya.

Yogyakarta, 22 Agustus 2006
 Pathologist

Drh. Kumasih, MVSc., PhD.
 NIP. 130 610 224

Lampiran 4

Tabel XV. Indeks artritis kelompok kontrol negatif

Hari Ke-	Indeks Arthritis						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	1,25	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,04	0,10	0,04
4	1,25	1,00	0,75	1,00	1,00	1,00	1,00	0,16	0,07
6	1,25	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,04	0,10	0,04
8	1,25	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,04	0,10	0,04
10	1,00	0,75	0,75	1,00	1,25	1,00	0,96	0,19	0,08
12	1,25	1,00	0,75	1,00	1,25	1,00	1,04	0,19	0,08
14	1,25	0,75	0,75	1,00	1,25	1,00	1,00	0,22	0,09
16	1,25	0,75	1,00	1,25	1,25	1,00	1,08	0,20	0,08
18	1,25	0,75	1,00	1,25	1,25	1,00	1,08	0,20	0,08
20	1,00	1,00	0,75	1,50	1,25	1,00	1,08	0,26	0,11
22	1,00	1,00	0,75	1,50	1,25	1,00	1,08	0,26	0,11
24	1,25	1,25	1,00	1,50	1,50	1,25	1,29	0,19	0,08
26	1,25	1,25	1,00	1,50	1,50	1,25	1,29	0,19	0,08
28	1,25	1,25	1,25	1,50	1,50	1,25	1,33	0,13	0,05
30	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,46	0,10	0,04
32	1,50	1,25	1,25	1,75	1,50	1,50	1,46	0,19	0,08
34	1,25	1,25	1,25	1,75	1,50	1,50	1,42	0,20	0,08
36	1,25	1,25	1,50	1,75	1,75	1,75	1,54	0,25	0,10
38	1,25	1,25	1,25	1,50	1,50	1,50	1,38	0,14	0,06
40	1,25	1,25	1,25	1,50	1,50	1,25	1,33	0,13	0,05
42	1,25	1,25	1,25	1,50	1,25	1,25	1,29	0,10	0,04
44	1,25	1,25	1,25	1,50	1,25	1,25	1,29	0,10	0,04
46	1,25	1,50	1,25	1,50	1,25	1,50	1,38	0,14	0,06
48	1,50	1,50	1,25	1,50	1,50	1,50	1,46	0,10	0,04
50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	0,00	0,00

Tabel XVI. Indeks artritis kelompok kontrol positif

Hari Ke-	Indeks Arthritis						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,25	0,25	0,25	1,25	0,50	0,75	0,54	0,40	0,16
4	0,75	1,00	1,00	1,25	1,00	0,75	0,96	0,19	0,08
6	0,75	1,25	1,25	1,75	1,25	1,50	1,29	0,33	0,13
8	0,75	1,75	1,50	1,75	1,50	1,50	1,46	0,37	0,15
10	1,00	1,50	1,25	1,50	1,25	1,50	1,33	0,20	0,08
12	1,00	1,50	1,25	1,50	1,25	1,50	1,33	0,20	0,08
14	0,75	1,50	1,25	1,50	1,25	1,50	1,29	0,29	0,12
16	0,75	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,38	0,31	0,13
18	0,75	1,75	1,50	2,00	1,75	1,50	1,54	0,43	0,18
20	1,00	1,75	1,50	1,75	1,75	1,50	1,54	0,29	0,12
22	0,75	1,75	1,50	1,75	1,50	1,25	1,42	0,38	0,16
24	0,75	1,75	1,50	1,75	1,50	1,25	1,42	0,38	0,16
26	0,75	1,75	1,50	1,75	1,50	1,25	1,42	0,38	0,16
28	0,75	1,50	1,25	1,75	1,25	1,25	1,29	0,33	0,13
30	1,00	1,75	1,50	2,00	1,25	1,25	1,46	0,37	0,15
32	1,00	1,25	1,25	1,75	1,00	1,50	1,29	0,29	0,12
34	0,75	1,25	1,25	1,75	1,25	1,25	1,25	0,32	0,13
36	0,75	1,25	1,00	1,50	1,25	1,25	1,17	0,26	0,11
38	0,75	1,00	1,25	1,50	1,25	1,25	1,17	0,26	0,11
40	0,75	1,25	1,25	1,50	1,25	1,25	1,21	0,25	0,10
42	0,75	1,25	1,25	1,50	1,25	1,00	1,17	0,26	0,11
44	0,75	1,00	1,00	1,25	1,00	1,00	1,00	0,16	0,07
46	0,50	1,00	0,75	1,25	0,75	0,75	0,83	0,26	0,11
48	0,50	0,75	0,75	1,00	0,75	0,50	0,71	0,19	0,08
50	0,50	0,75	0,75	1,00	0,50	0,50	0,67	0,20	0,08

Tabel XVII. Indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 25 mg/kg

Hari Ke-	Indeks Arthritis						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,75	0,50	0,50	0,75	0,25	1,00	0,63	0,26	0,11
4	1,25	0,75	1,00	0,75	1,00	1,25	1,00	0,22	0,09
6	1,50	1,25	1,25	1,50	1,25	1,25	1,33	0,13	0,05
8	1,75	1,50	1,50	1,75	1,50	1,50	1,58	0,13	0,05
10	1,50	1,25	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
12	1,50	1,25	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
14	1,50	1,50	1,50	1,25	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
16	1,75	1,50	1,75	1,75	1,50	1,50	1,63	0,14	0,06
18	1,75	1,75	2,00	1,75	1,50	1,50	1,71	0,19	0,08
20	1,75	1,50	2,00	1,75	1,50	1,50	1,67	0,20	0,08
22	1,75	1,50	1,75	1,75	1,50	1,75	1,67	0,13	0,05
24	1,75	1,75	1,75	1,75	1,50	1,75	1,71	0,10	0,04
26	1,75	1,75	1,75	1,75	1,50	1,75	1,71	0,10	0,04
28	1,50	1,25	1,50	1,50	1,25	1,50	1,42	0,13	0,05
30	1,25	1,25	1,25	1,50	0,75	1,25	1,21	0,25	0,10
32	1,50	1,25	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
34	1,50	1,25	1,50	1,50	1,00	1,00	1,29	0,25	0,10
36	1,25	1,25	1,50	1,50	1,25	1,00	1,29	0,19	0,08
38	1,25	1,50	1,50	1,50	1,25	1,00	1,33	0,20	0,08
40	1,25	1,50	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
42	1,25	1,25	1,50	1,50	1,00	1,00	1,25	0,22	0,09
44	1,00	1,00	1,25	1,25	1,00	1,00	1,08	0,13	0,05
46	1,00	0,75	1,25	1,25	1,00	1,00	1,04	0,19	0,08
48	1,00	0,50	1,00	1,00	0,75	1,00	0,88	0,21	0,09
50	1,00	0,50	1,00	1,00	0,50	1,00	0,83	0,26	0,11

Tabel XVIII. Indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 50 mg/kg

Hari Ke-	Indeks Arthritis						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,75	0,25	0,75	0,75	0,25	0,50	0,54	0,25	0,10
4	0,75	0,75	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	0,13	0,05
6	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,46	0,10	0,04
8	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	0,00	0,00
10	1,25	1,50	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
12	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,50	1,46	0,10	0,04
14	1,50	1,75	1,50	1,50	1,50	1,50	1,54	0,10	0,04
16	1,50	1,75	1,75	1,50	1,75	1,50	1,63	0,14	0,06
18	1,50	1,75	1,75	1,50	1,75	1,75	1,67	0,13	0,05
20	1,50	1,75	1,75	1,50	1,75	2,00	1,71	0,19	0,08
22	1,50	1,75	1,75	1,50	1,50	1,75	1,63	0,14	0,06
24	1,75	2,00	1,75	1,50	1,50	1,75	1,71	0,19	0,08
26	1,75	2,00	1,75	1,50	1,50	1,75	1,71	0,19	0,08
28	1,50	1,75	1,25	1,50	1,50	1,50	1,50	0,16	0,07
30	1,50	1,75	1,50	1,50	1,50	1,50	1,54	0,10	0,04
32	1,00	1,50	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	0,16	0,07
34	1,25	1,50	1,50	1,50	1,25	1,25	1,38	0,14	0,06
36	1,00	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,38	0,21	0,09
38	1,25	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,42	0,13	0,05
40	1,25	1,50	1,50	1,50	1,50	1,25	1,42	0,13	0,05
42	1,00	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,21	0,10	0,04
44	1,00	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,21	0,10	0,04
46	0,75	1,25	1,25	1,25	1,25	1,00	1,13	0,21	0,09
48	0,75	1,25	1,00	1,25	1,00	1,00	1,04	0,19	0,08
50	0,50	1,25	1,00	1,25	1,00	1,00	1,00	0,27	0,11

Lampiran 5

Tabel XIX. Nilai AUC₀₋₅₀ indeks artritis kelompok kontrol negatif

Hari	AUC0-50						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0-2	1,25	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00			
2-4	2,50	2,00	1,75	2,00	2,00	2,00			
4-6	2,50	2,00	1,75	2,00	2,00	2,00			
6-8	2,50	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00			
8-10	2,25	1,75	1,75	2,00	2,25	2,00			
10-12	2,25	1,75	1,50	2,00	2,50	2,00			
12-14	2,50	1,75	1,50	2,00	2,50	2,00			
14-16	2,50	1,50	1,75	2,25	2,50	2,00			
16-18	2,50	1,50	2,00	2,50	2,50	200			
18-20	2,25	1,75	1,75	2,75	2,50	2,00			
20-22	2,00	2,00	1,50	3,00	2,50	2,00			
22-24	2,25	2,25	1,75	3,00	2,75	2,25			
24-26	2,50	2,50	2,00	3,00	3,00	2,50			
26-28	2,50	2,50	2,25	3,00	3,00	2,50			
28-30	2,75	2,75	2,75	3,00	3,00	2,50			
30-32	3,00	2,75	2,75	3,25	3,00	2,75			
32-34	2,75	2,50	2,50	3,50	3,00	3,00			
34-36	2,50	2,50	2,75	3,50	3,25	3,25			
36-38	2,50	2,50	2,75	3,25	3,25	3,25			
38-40	2,50	2,50	2,50	3,00	3,00	2,75			
40-42	2,50	2,50	2,50	3,00	2,75	2,50			
42-44	2,50	2,50	2,50	3,00	2,50	2,50			
44-46	2,50	2,75	2,50	3,00	2,50	2,75			
46-48	2,75	3,00	2,50	3,00	2,75	3,00			
48-50	3,00	3,00	2,75	3,00	3,00	3,00			
AUC ₀₋₅₀	61,50	55,50	53,00	67,00	65,00	59,50	60,25	5,39	2,20

Tabel XX. Nilai AUC₀₋₅₀ indeks artritis kelompok kontrol positif

Hari	AUC0-50						X	SD	SE
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6			
0-2	0,25	0,25	0,25	1,25	0,50	0,75			
2-4	1,00	1,25	1,25	2,50	1,50	1,50			
4-6	1,50	2,25	2,25	3,00	2,25	2,25			
6-8	1,50	3,00	2,75	3,50	2,75	3,00			
8-10	1,75	3,25	2,75	3,25	2,75	3,00			
10-12	2,00	3,00	2,50	3,00	2,50	3,00			
12-14	1,75	3,00	2,50	3,00	2,50	3,00			
14-16	1,50	3,00	2,75	3,00	2,75	3,00			
16-18	1,50	3,25	3,00	3,50	3,25	3,00			
18-20	1,75	3,50	3,00	3,75	3,50	3,00			
20-22	1,75	3,50	3,00	3,50	3,25	2,75			
22-24	1,50	3,50	3,00	3,50	3,00	2,50			
24-26	1,50	3,50	3,00	3,50	3,00	2,50			
26-28	1,50	3,25	2,75	3,50	2,75	2,50			
28-30	1,75	3,25	2,75	3,75	2,50	2,50			
30-32	2,00	3,00	2,75	3,75	2,25	2,75			
32-34	1,75	2,50	2,50	3,50	2,25	2,75			
34-36	1,50	2,50	2,25	3,25	2,50	2,50			
36-38	1,50	2,25	2,25	3,00	2,50	2,50			
38-40	1,50	2,25	2,50	3,00	2,50	2,50			
40-42	1,50	2,50	2,50	3,00	2,50	2,25			
42-44	1,50	2,25	2,25	2,75	2,25	2,00			
44-46	1,25	2,00	1,75	2,50	1,75	1,75			
46-48	1,00	1,75	1,50	2,25	1,50	1,25			
48-50	1,00	1,50	1,50	2,00	1,25	1,00			
AUC ₀₋₅₀	37,00	65,25	59,25	76,50	60,00	59,50	59,58	12,87	5,25

Tabel XXI. Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 25 mg/kg

Hari	AUC_{0-50}						X	SD	SE			
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6						
0-2	0,75	0,50	0,50	0,75	0,25	1,00						
2-4	2,00	1,25	1,50	1,50	1,25	2,25						
4-6	2,75	2,00	2,25	2,25	2,25	2,50						
6-8	3,25	2,75	2,75	3,25	2,75	2,75						
8-10	3,25	2,75	3,00	3,25	2,75	2,75						
10-12	3,00	2,50	3,00	3,00	2,50	2,50						
12-14	3,00	2,75	3,00	2,75	2,50	2,50						
14-16	3,25	3,00	3,25	3,00	2,75	2,75						
16-18	3,50	3,25	3,75	3,50	3,00	3,00						
18-20	3,50	3,25	4,00	3,50	3,00	3,00						
20-22	3,50	3,00	3,75	3,50	3,00	3,25						
22-24	3,50	3,25	3,50	3,50	3,00	3,50						
24-26	3,50	3,50	3,50	3,50	3,00	3,50						
26-28	3,25	3,00	3,25	3,25	2,75	3,25						
28-30	2,75	2,50	2,75	3,00	2,00	2,75						
30-32	2,75	2,50	2,75	3,00	2,00	2,50						
32-34	3,00	2,50	3,00	3,00	2,25	2,25						
34-36	2,75	2,50	3,00	3,00	2,25	2,00						
36-38	2,50	2,75	3,00	3,00	2,50	2,00						
38-40	2,50	3,00	3,00	3,00	2,50	2,25						
40-42	2,50	2,75	3,00	3,00	2,25	2,25						
42-44	2,25	2,25	2,75	2,75	2,00	2,00						
44-46	2,00	1,75	2,50	2,50	2,00	2,00						
46-48	2,00	1,25	2,25	2,25	1,75	2,00						
48-50	2,00	1,00	2,00	2,00	1,25	2,00						
AUC_{0-50}	69,00	61,50	71,00	71,00	57,50	62,50				65,42	5,69	2,32

Tabel XXII. Nilai AUC_{0-50} indeks arthritis kelompok ekstrak temulawak 50 mg/kg

Hari	AUC_{0-50}						X	SD	SE			
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5	Tikus 6						
0-2	0,75	0,25	0,75	0,75	0,25	0,50						
2-4	1,50	1,00	1,75	1,75	1,25	1,50						
4-6	2,25	2,25	2,50	2,50	2,50	2,25						
6-8	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	2,75						
8-10	2,75	3,00	3,00	3,00	2,75	2,75						
10-12	2,75	3,00	3,00	3,00	2,50	2,75						
12-14	3,00	3,25	3,00	3,00	2,75	3,00						
14-16	3,00	3,50	3,25	3,00	3,25	3,00						
16-18	3,00	3,50	3,50	3,00	3,50	3,25						
18-20	3,00	3,50	3,50	3,00	3,50	3,75						
20-22	3,00	3,50	3,50	3,00	3,25	3,75						
22-24	3,25	3,75	3,50	3,00	3,00	3,50						
24-26	3,50	4,00	3,50	3,00	3,00	3,50						
26-28	3,25	3,75	3,00	3,00	3,00	3,25						
28-30	3,00	3,50	2,75	3,00	3,00	3,00						
30-32	2,50	3,25	2,75	2,75	2,75	2,75						
32-34	2,25	3,00	2,75	2,75	2,50	2,50						
34-36	2,25	3,00	3,00	3,00	2,75	2,50						
36-38	2,25	3,00	3,00	3,00	3,00	2,50						
38-40	2,50	3,00	3,00	3,00	3,00	2,50						
40-42	2,25	2,75	2,75	2,75	2,75	2,50						
42-44	2,00	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50						
44-46	1,75	2,50	2,50	2,50	2,50	2,25						
46-48	1,50	2,50	2,25	2,50	2,25	2,00						
48-50	1,25	2,50	2,00	2,50	2,00	2,00						
AUC_{0-50}	61,50	72,75	70,00	68,25	66,50	66,50				67,58	3,80	1,55

Lampiran 6

Tabel XXIII. Nilai indeks arthritis ($X \pm SE$) setiap kelompok uji

Hari	Nilai Indeks Arthritis ($X \pm SE$)			
	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Ekstrak Temulawak 25 mg/kgBB	Ekstrak Temulawak 50 mg/kgBB
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2	1,04 ± 0,04	0,54 ± 0,16	0,63 ± 0,11	0,54 ± 0,10
4	1,00 ± 0,07	0,96 ± 0,08	1,00 ± 0,09	0,92 ± 0,05
6	1,04 ± 0,04	1,29 ± 0,13	1,33 ± 0,05	1,46 ± 0,04
8	1,04 ± 0,04	1,46 ± 0,15	1,58 ± 0,05	1,50 ± 0,00
10	0,96 ± 0,08	1,33 ± 0,08	1,38 ± 0,06	1,38 ± 0,06
12	1,04 ± 0,08	1,33 ± 0,08	1,38 ± 0,06	1,46 ± 0,04
14	1,00 ± 0,09	1,29 ± 0,19	1,38 ± 0,06	1,54 ± 0,04
16	1,08 ± 0,08	1,38 ± 0,13	1,63 ± 0,06	1,63 ± 0,06
18	1,08 ± 0,08	1,54 ± 0,18	1,71 ± 0,08	1,67 ± 0,05
20	1,08 ± 0,11	1,54 ± 0,19	1,67 ± 0,08	1,71 ± 0,08
22	1,08 ± 0,11	1,42 ± 0,16	1,67 ± 0,05	1,63 ± 0,06
24	1,29 ± 0,08	1,42 ± 0,16	1,71 ± 0,04	1,71 ± 0,08
26	1,29 ± 0,08	1,42 ± 0,16	1,71 ± 0,04	1,71 ± 0,08
28	1,33 ± 0,05	1,29 ± 0,13	1,42 ± 0,05	1,50 ± 0,07
30	1,46 ± 0,04	1,46 ± 0,15	1,21 ± 0,10	1,54 ± 0,04
32	1,46 ± 0,08	1,29 ± 0,19	1,38 ± 0,06	1,25 ± 0,07
34	1,42 ± 0,08	1,25 ± 0,13	1,29 ± 0,10	1,38 ± 0,06
36	1,54 ± 0,10	1,17 ± 0,11	1,29 ± 0,08	1,38 ± 0,09
38	1,38 ± 0,06	1,17 ± 0,11	1,33 ± 0,08	1,42 ± 0,05
40	1,33 ± 0,05	1,21 ± 0,10	1,38 ± 0,06	1,42 ± 0,05
42	1,29 ± 0,04	1,17 ± 0,11	1,25 ± 0,09	1,21 ± 0,04
44	1,29 ± 0,04	1,00 ± 0,07	1,08 ± 0,05	1,21 ± 0,04
46	1,38 ± 0,06	0,83 ± 0,11	1,04 ± 0,08	1,13 ± 0,09
48	1,46 ± 0,04	0,71 ± 0,08	0,88 ± 0,09	1,04 ± 0,08
50	1,50 ± 0,00	0,67 ± 0,08	0,83 ± 0,11	1,00 ± 0,11

Lampiran 7

Hasil analisis statistik % perubahan indeks arthritis kelompok uji
NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
%perubahan	24	68.6975	26.87366	33.33	126.83
kelompok perlakuan	24	2.5000	1.14208	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		%perubahan	kelompok perlakuan
N		24	24
Normal Parameters(a,b)	Mean	68.6975	2.5000
	Std. Deviation	26.87366	1.14208
Most Extreme Differences	Absolute	.269	.169
	Positive	.269	.169
	Negative	-.140	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		1.320	.829
Asymp. Sig. (2-tailed)		.061	.498

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Oneway

Descriptives

%perubahan indeks arthritis kelompok uji

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol -	6	108.1867	22.47629	9.17591	84.5993	131.7741	67.39	126.83
kontrol +	6	50.6783	9.26245	3.78138	40.9580	60.3987	33.33	57.61
ekstrak 25 mg	6	54.8133	8.23230	3.36082	46.1741	63.4526	44.25	65.42
ekstrak 50 mg	6	61.1117	10.10262	4.12438	50.5096	71.7137	46.00	77.14
Total	24	68.6975	26.87366	5.48556	57.3498	80.0452	33.33	126.83

Test of Homogeneity of Variances

%perubahan indeks arthritis kelompok uji

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.278	3	20	.111

ANOVA

%perubahan indeks arthritis kelompok uji

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12806.398	3	4268.799	22.443	.000
Within Groups	3804.051	20	190.203		
Total	16610.448	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: %perubahan indeks arthritis kelompok uji
Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol -	kontrol +	57.5083(*)	7.96246	.000	35.2219	79.7948
	ekstrak 25 mg	53.3733(*)	7.96246	.000	31.0869	75.6598
	ekstrak 50 mg	47.0750(*)	7.96246	.000	24.7886	69.3614
kontrol +	kontrol -	-57.5083(*)	7.96246	.000	-79.7948	-35.2219
	ekstrak 25 mg	-4.1350	7.96246	.953	-26.4214	18.1514
	ekstrak 50 mg	-10.4333	7.96246	.567	-32.7198	11.8531
ekstrak 25 mg	kontrol -	-53.3733(*)	7.96246	.000	-75.6598	-31.0869
	kontrol +	4.1350	7.96246	.953	-18.1514	26.4214
	ekstrak 50 mg	-6.2983	7.96246	.858	-28.5848	15.9881
ekstrak 50 mg	kontrol -	-47.0750(*)	7.96246	.000	-69.3614	-24.7886
	kontrol +	10.4333	7.96246	.567	-11.8531	32.7198
	ekstrak 25 mg	6.2983	7.96246	.858	-15.9881	28.5848

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

Homogeneous Subsets

%perubahan indeks arthritis kelompok uji

Tukey HSD

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol +	6	50.6783	
ekstrak 25 mg	6	54.8133	
ekstrak 50 mg	6	61.1117	
kontrol -	6		108.1867
Sig.		.567	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Lampiran 8

Hasil analisis statistik skoring pemeriksaan histopatologi kelompok uji

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
skoring	25	1.8000	1.15470	.00	3.00
kelompok perlakuan	25	3.0000	1.44338	1.00	5.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		skoring	kelompok perlakuan
N		25	25
Normal Parameters(a,b)	Mean	1.8000	3.0000
	Std. Deviation	1.15470	1.44338
Most Extreme Differences	Absolute	.211	.156
	Positive	.149	.156
	Negative	-.211	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		1.053	.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.217	.579

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Skoring hasil pemeriksaan histopatologi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	5	2.0000	.70711	.31623	1.1220	2.8780	1.00	3.00
kontrol -	5	2.4000	.54772	.24495	1.7199	3.0801	2.00	3.00
normal	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
ekstrak 25 mg	5	2.2000	1.09545	.48990	.8398	3.5602	1.00	3.00
ekstrak 50 mg	5	2.4000	.89443	.40000	1.2894	3.5106	1.00	3.00
Total	25	1.8000	1.15470	.23094	1.3234	2.2766	.00	3.00

Test of Homogeneity of Variances

Skoring hasil pemeriksaan histopatologi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.344	4	20	.002

ANOVA

Skoring hasil pemeriksaan histopatologi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.800	4	5.200	9.286	.000
Within Groups	11.200	20	.560		
Total	32.000	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Skoring hasil pemeriksaan histopatologi
Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	-.4000	.47329	.913	-1.8163	1.0163
	normal	2.0000(*)	.47329	.003	.5837	3.4163
	ekstrak 25 mg	-.2000	.47329	.993	-1.6163	1.2163
	ekstrak 50 mg	-.4000	.47329	.913	-1.8163	1.0163
kontrol -	kontrol +	.4000	.47329	.913	-1.0163	1.8163
	normal	2.4000(*)	.47329	.001	.9837	3.8163
	ekstrak 25 mg	.2000	.47329	.993	-1.2163	1.6163
normal	ekstrak 50 mg	.0000	.47329	1.000	-1.4163	1.4163
	kontrol +	-2.0000(*)	.47329	.003	-3.4163	-.5837
	kontrol -	-2.4000(*)	.47329	.001	-3.8163	-.9837
ekstrak 25 mg	ekstrak 25 mg	-2.2000(*)	.47329	.001	-3.6163	-.7837
	ekstrak 50 mg	-2.4000(*)	.47329	.001	-3.8163	-.9837
	kontrol +	.2000	.47329	.993	-1.2163	1.6163
ekstrak 50 mg	kontrol -	-.2000	.47329	.993	-1.6163	1.2163
	normal	2.2000(*)	.47329	.001	.7837	3.6163
	ekstrak 50 mg	-.2000	.47329	.993	-1.6163	1.2163
kontrol +	kontrol -	.4000	.47329	.913	-1.0163	1.8163
	normal	.0000	.47329	1.000	-1.4163	1.4163
	ekstrak 25 mg	2.4000(*)	.47329	.001	.9837	3.8163
kontrol -	ekstrak 25 mg	.2000	.47329	.993	-1.2163	1.6163
	ekstrak 50 mg	-.2000	.47329	.993	-1.6163	1.2163
	normal	2.2000(*)	.47329	.001	.7837	3.6163

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

Homogeneous Subsets

Skoring hasil pemeriksaan histopatologi
Tukey HSD

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
normal	5	.0000	
kontrol +	5		2.0000
ekstrak 25 mg	5		2.2000
kontrol -	5		2.4000
ekstrak 50 mg	5		2.4000
Sig.		1.000	.913

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 9

Perhitungan insidensi arthritis pada hari ke-20 dan 50

$$\% \text{ insidensi} = \left[\frac{\sum \text{tikus dengan IA} \geq 1}{\sum \text{tikus}} \right] \times 100\%$$

Hari ke-20:

- $\text{kontrol}(-) = \left[\frac{5}{6} \right] \times 100\% = 83,33\%$

- $\text{kontrol}(+) = \left[\frac{6}{6} \right] \times 100\% = 100\%$

- $\text{ekstrak}25 = \left[\frac{6}{6} \right] \times 100\% = 100\%$

- $\text{ekstrak}50 = \left[\frac{6}{6} \right] \times 100\% = 100\%$

Hari ke-50:

- $\text{kontrol}(-) = \left[\frac{6}{6} \right] \times 100\% = 100\%$

- $\text{kontrol}(+) = \left[\frac{1}{6} \right] \times 100\% = 16,67\%$

- $\text{ekstrak}25 = \left[\frac{4}{6} \right] \times 100\% = 66,67\%$

- $\text{ekstrak}50 = \left[\frac{5}{6} \right] \times 100\% = 83,33\%$

Lampiran 10

Perhitungan % perubahan indeks arthritis

$$\text{Persen perubahan} = \left[\frac{\text{NilaiAUC}_{20-50} - \text{NilaiAUC}_{0-20}}{\text{NilaiAUC}_{0-20}} \right] \times 100\%$$

- Kontrol negatif

$$\text{tikus1} = \left[\frac{38,50 - 23,00}{23,00} \right] \times 100\% = 67,39\%$$

$$\text{tikus2} = \left[\frac{38,50 - 17,00}{17,00} \right] \times 100\% = 126,47\%$$

$$\text{tikus3} = \left[\frac{36,25 - 16,75}{16,75} \right] \times 100\% = 116,42\%$$

$$\text{tikus4} = \left[\frac{46,50 - 20,50}{20,50} \right] \times 100\% = 126,83\%$$

$$\text{tikus5} = \left[\frac{43,25 - 21,75}{21,75} \right] \times 100\% = 98,85\%$$

$$\text{tikus6} = \left[\frac{40,50 - 19,00}{19,00} \right] \times 100\% = 113,16\%$$

- Kontrol positif

$$\text{tikus1} = \left[\frac{22,50 - 14,50}{14,50} \right] \times 100\% = 55,17\%$$

$$\text{tikus2} = \left[\frac{39,50 - 25,75}{25,75} \right] \times 100\% = 53,40\%$$

$$\text{tikus3} = \left[\frac{36,25 - 23,00}{23,00} \right] \times 100\% = 57,61\%$$

$$\text{tikus4} = \left[\frac{46,75 - 29,75}{29,75} \right] \times 100\% = 57,14\%$$

$$\text{tikus5} = \left[\frac{35,75 - 24,25}{24,25} \right] \times 100\% = 47,42\%$$

$$\text{tikus6} = \left[\frac{34,00 - 25,50}{25,50} \right] \times 100\% = 33,33\%$$

- Ekstrak 25

$$\text{tikus1} = \left[\frac{40,75 - 28,25}{28,25} \right] \times 100\% = 44,25\%$$

$$\text{tikus2} = \left[\frac{37,50 - 24,00}{24,00} \right] \times 100\% = 56,25\%$$

$$\text{tikus3} = \left[\frac{44,00 - 27,00}{27,00} \right] \times 100\% = 62,96\%$$

$$tikus4 = \left[\frac{44,25 - 26,75}{26,75} \right] \times 100\% = 65,42\%$$

$$tikus5 = \left[\frac{34,50 - 23,00}{23,00} \right] \times 100\% = 50,00\%$$

$$tikus6 = \left[\frac{37,50 - 25,00}{25,00} \right] \times 100\% = 50,00\%$$

- Ekstrak 50

$$tikus1 = \left[\frac{36,50 - 25,00}{25,00} \right] \times 100\% = 46,00\%$$

$$tikus2 = \left[\frac{46,50 - 26,25}{26,25} \right] \times 100\% = 77,14\%$$

$$tikus3 = \left[\frac{42,75 - 27,25}{27,25} \right] \times 100\% = 56,88\%$$

$$tikus4 = \left[\frac{42,25 - 26,00}{26,00} \right] \times 100\% = 62,50\%$$

$$tikus5 = \left[\frac{41,25 - 25,25}{25,25} \right] \times 100\% = 63,37\%$$

$$tikus6 = \left[\frac{41,00 - 25,50}{25,50} \right] \times 100\% = 60,78\%$$

