UNIVERSITAS GUNADARMA

FAKULTAS ILMU KESEHATAN DAN FARMASI

KARYA TULIS ILMIAH

EFEK ANTIINFLAMASI SENYAWA FLAVONOID TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT PADA TIKUS JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI KARAGENAN

Nama : **INDAH KARTIKA SARI**

NPM : **20721025**

JURUSAN : **FARMASI**

DOSEN PEMBIMBING : **HOTLINA NAINGGOLAN, Ssi, M.Biomed**

Diajukan Guna Melengkapi Sebagian Syarat Dalam Mencapai Gelar Setara Sarjana Muda

Jakarta

2024

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama	:	Indah Kartika Sari
NPM	:	20721025
Program Studi	:	Farmasi
Fakultas	:	Ilmu Kesehatan dan Farmasi
Judul Karya Ilmiah	:	Efek Antiinflamasi Senyawa Flavonoid Terhadap Jumlah Leukosit Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley yang diinduksi Karagenan
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Dengan ini menyatakan bahwa hasil Karya Tulis Ilmiah yang telah saya buat ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya. Apabila ternyata dikemudian hari Karya Tulis Ilmiah merupakan hasil plagiat atau penjiplakan terhadap karya orang lain, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sekaligus bersedia menerima sanksi berdasarkan aturan tata tertib di Universitas Gunadarma. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Jakarta, 30 Oktober 2024



(Indah Kartika Sari)

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Karya Ilmiah	:	Efek Antiinflamasi Senyawa Flavonoid Terhadap Jumlah Leukosit Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley yang diinduksi Karagenan
Nama	:	Indah Kartika Sari
NPM	:	20721025
Tanggal Sidang	:	23 Agustus 2024
Tanggal Lulus	:	23 Agustus 2024

Menyetujui

Pembimbing

Hotlina Nainggolan, S.Si., M.Biomed

Kasubag. Sidang PI

apt. Dina Melia Oktavilantika, M. SC

Ketua Program Studi Farmasi

Prof. Dr. apt. Sugeng Riyanto, M.S.

Indah Kartika Sari. 20721025

EFEK ANTIINFLAMASI SENYAWA FLAVONOID TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT PADA TIKUS JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI KARAGENAN

Penulisan Ilmiah Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi, Universitas Gunadarma, 2024

ABSTRAK

Inflamasi adalah respon tubuh terhadap infeksi atau kerusakan jaringan. Inflamasi menyebabkan pelepasan mediator inflamasi, salah satu tanda terjadinya inflamasi yaitu terjadi peningkatan leukosit. Leukosit adalah komponen utama dalam sistem kekebalan tubuh dan berperan dalam peradangan. Leukosit berperan dalam melawan infeksi, melindungi tubuh dengan memfagosit organisme asing penyebab infeksi, dan menghasilkan atau mengangkut antibodi. Sebagian besar obat yang digunakan untuk meredakan beberapa gejala terkait inflamasi yaitu obat golongan NSAID dan kortikosteroid, namun bila digunakan dalam jangka panjang, obat ini mempunyai efek sekunder. Salah satu alternatif lain yang digunakan adalah menggunakan tanaman obat yang memiliki efek antiinflamasi. Aktifitas antiinflamasi dikaitkan dengan senyawa flavanoidnya. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi terhadap jumlah leukosit pada tikus dan untuk mengetahui dosis optimalnya. Jenis penelitian ini yaitu penelitian eksperimental.

Kata Kunci: Antiinflamasi, senyawa flavonoid, jumlah leukosit, tikus

(xiv + 51 + 3 lampiran)

Daftar pustaka (2003-2023)

Indah Kartika Sari.20721025

ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF FLAVONOID COMPOUNDS ON LEUKOCYTE COUNTS IN CARAGENAN-INDUCED SPRAGUE DAWLEY MALE RATS

Pharmaceutical Study Scientific Papers, Faculty Of Health Sciences and Pharmacy, Gunadarma University, 2024

ABSTRACT

Inflammation is the body's response to infection or tissue damage. Inflammation leads to the release of inflammatory mediators, and one of the signs of inflammation is an increase in leukocytes. Leukocytes are the main components of the immune system and play a role in inflammation. Leukocytes work to fight infection, protect the body by phagocytizing foreign organisms that cause infection, and produce or transport antibodies. Most drugs used to relieve symptoms related to inflammation are from the NSAID and corticosteroid groups. However, long-term use of these drugs can have secondary effects. Another alternative that can be used is medicinal plants with anti-inflammatory effects. The anti-inflammatory activity is associated with the flavonoid compounds they contain. Therefore, this study aims to determine the anti-inflammatory effects on leukocyte count in rats and to find the optimal dose. This research is an experimental study.

Keywords: *Anti-inflammatory, flavonoid compounds, leukocyte count, rats*

*(*xiv + 51 + 3 *attachmentt)*

*References (*2003-2023*)*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan judul "Efek Antiinflamasi Senyawa Flavanoid Terhadap Jumlah Leukosit pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley yang di Induksi Karagenan". Penulisan ini diajukan guna melengkapi sebagian syarat dalam mencapai gelar sarjana strata satu (S1) jurusan Farmasi fakultas Ilmu kesehatan dan Farmasi di Universitas Gunadarma.

Dengan segala keterbatasan, penulis sepenuhnya menyadari bahwa dalam penulisan karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan atau masih jauh dari kata sempurna, baik dalam pembahasan maupun tata bahasa. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis berharap agar para pembaca dapat memberikan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan penulisan ini. Dalam menyelesaikan penulisan ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, sumbangan pikiran, serta saran dari berbagai pihak, baik berupa bimbingan, pengarahan, maupun dorongan yang telah diberikan kepada penulis. Maka, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. E.S. Margianti, S.E., M.M, selaku Rektor Universitas Gunadarma
2. Prof. Arini Setiawati, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan dan Farmasi Universitas Gunadarma
3. Prof. Dr. apt. Sugeng Riyanto, M.S., selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Gunadarma.
4. Dr. Edi Sukirman, S.Si, MM., M.I.Kom, selaku Kepala Sidang Ujian Universitas Gunadarma.
5. Ibu apt. Dina Melia Oktavilantika, M. SC. selaku Kasubag Sidang PI Universitas Gunadarma.
6. Ibu Hotlina Nainggolan, S.Si., M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing yang telah dengan sabar membimbing, mengarahkan, memberi semangat, serta

meluangkan waktunya untuk membimbing penulis dalam proses penyusunan karya tulis ilmiah ini.

7. Untuk ibu dan kakak-adik saya yang selalu memberi dukungan dan pengertian selama proses penulisan baik moril maupun materil
8. Teman-teman saya Nazia, Happy, Amanda, dan Devina mahasiswa program studi S1 Farmasi yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama proses penulisan karya tulis ilmiah.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberi bantuan dan dukungan hingga dapat terselesaikannya penulisan karya tulis ilmiah ini.

Tanpa peran serta semua pihak di atas, penulisan karya tulis ilmiah ini tidak akan pernah terwujud, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia kepada mereka semua Akhir kata, perkenankan penulis untuk mengucapkan maaf yang sebesar-besarnya apabila dalam penelitian ini terdapat kesalahan maupun kekurangan. Semoga penelitian ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang bersangkutan, khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Jakarta, 13 Agustus 2024

Penulis

(Indah Kartika Sari)

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORIGINALITAS DAN PUBLIKASI ii
LEMBAR PENGESAHAN iii
ABSTRAK iv
ABSTRACT v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
DAFTAR ISTILAH xiv

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
1.5 Batasan Penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Data Pustaka 5
2.2 Senyawa Flavonoid 6
2.2.1 Jenis Flavonoid 7
2.2.2 Biosintesis Flavonoid 12
2.2.3 Manfaat dan Aktivitas Farmakologi Flavonoid 15
2.3 Inflamasi 17
2.3.1 Definisi Inflamasi 17
2.3.2 Mekanisme Inflamasi 17
2.3.3 Tanda-Tanda Inflamasi 18

2.3.4 Klasifikasi Inflamasi 19
2.4 Golongan Obat Antiinflamsi 21
2.4.1 NSAID 21
2.4.2 Kortikosteroid 22
2.5 Leukosit 22
2.6 Agen Antiinflmasi 26
2.6.1 Piroxicam 27
2.7 Karagenan 28
2.7.1 Mekanisme Karagenan 28
2.8 Hewan Uji 29
2.8.1 Cara Perawatan Tikus 31
2.9 Kerangka Pemikiran 32
2.10 Kerangka Konsep 33
2.11 Hipotesis 33

BAB III METODOLOGI PENELITIAN 34
3.1 Objek Penelitian 34
3.2 Subjek Penelitian 34
3.3 Jenis Penelitian 34
3.4 Alat dan Bahan 35
3.5.1 Alat 35
3.5.2 Bahan 35
3.5 Variabel Penelitian 35
3.6 Hewan Uji 35
3.6.1 Penentuan Jumlah Sampel 35
3.6.2 Dosis Perlakuan 37
3.6.3 Pengelompokan Hewan Uji 38
3.7 Prosedur Penelitian 38
3.8 Aklimatisasi Hewan Coba 39
3.9 Induksi Hewan Coba 39
3.10 Pengujian Antiinflamasi 39

3.11 Penanganan Hewan Coba setelah Penelitian 42
3.12 Metode Analisis Data 42
3.13 Tempat dan Waktu Penelitian 42

DAFTAR PUSTAKA 43

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Tipe dan Fungsi Limfosit 25
Tabel 3. 1 Pembagian Kelompok Perlakuan 38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur Flavonoid 6
Gambar 2. 2 Struktur Flavanol 8
Gambar 2. 3 Struktur Flavon 8
Gambar 2. 4 Struktur Isoflavon 9
Gambar 2. 5 Struktur Antosianin 10
Gambar 2. 6 Struktur Flavanon 10
Gambar 2. 7 Struktur Flavanol 11
Gambar 2. 8 Struktur Kalkon 12
Gambar 2. 9 Biosintesis Flavonoid 14
Gambar 2. 10 Jenis Leukosit 23
Gambar 2. 11 Struktur Piroksikam 27
Gambar 2. 12 Mekanisme Karagenan 29
Gambar 2. 13 Tikus 30
Gambar 2. 14 Kerangka Pemikiran 32
Gambar 2. 15 Kerangka Konsep 33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian 54
Lampiran 2. Waktu Perencanaan Penelitian..... 55
Lampiran 3. Rancangan Anggaran Biaya 56

DAFTAR ISTILAH

AKT (PKB)	:	Protein Kinase B
ANOVA	:	*Analysis of Variance One way*
AOM	:	*Azoxymethane*
ATP	:	*Adenosin Trifosfat*
BPOM RI	:	Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia
CAT	:	*Katalase*
COX	:	Siklooksigenase
DNA	:	*Deoxyribonucleic Acid*
GM-CSF	:	*Epigallo Catechin Gallate*
GPx	:	*Glutathione Peroksidase*
H_2O_2	:	*hydrogen peroxide*
IL	:	Interleukin
KHz	:	Kilohertz
m^2	:	Meter persegi
MAPK	:	*Mitogen Activated Protein Kinase*
MN	:	*Mononuclear*
NFKB	:	*Nuclear Factor* κβ
NH3	:	Amonia
NK	:	*Natural Killer*
NSID	:	*Nonsteroidal anti-inflammatory drugs*
OAINS	:	Obat Anti-Inflamasi Non Steroid
PMN	:	*poly-morphonuclear*
RH	:	*Relative Humidity*
RNA	:	*Ribonucleic Acid*
RdRp	:	*RNA-dependent RNA polymerase*
SOD	:	*Superoxide dismutase*
SPSS	:	*Statistical Package for the Social Scien*e

TBC	:	Tuberkulosis
TNF-α	:	*Tumor Necrosis Factor Alpha*
UV	:	Ultraviolet
VAO	:	Volume Administrasi Oral
Mm	:	Mikrometer

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi adalah respon tubuh terhadap infeksi atau kerusakan jaringan (Harlim, 2018). Inflamasi ditandai dengan munculnya lima tanda utama yaitu rubor (kemerahan), kalor (panas), tumor (pembengkakan), dolor (nyeri), dan *funcion laesa* (kehilangan fungsi) (Karin & Shalapour, 2022). Inflamasi dapat disebabkan dari berbagai kondisi seperti infeksi mikrobiologi, trauma fisik, zat kimia, alergi dan hipersensitifitas, serta penyakit autoimun yang menyebabkan pelepasan mediator proinflamasi (Akrom, 2021). Pelepasan mediator proinflamasi, seperti histamin, prostaglandin, leukotrien, sitokin, dan kemokin, dapat mengakibatkan peningkatan permeabilitas vaskular dan peningkatan rekruitmen leukosit yang akan bersirkulasi ke letak agen penyebab inflamasi (Silva et al., 2021).

Leukosit atau sering disebut juga sel darah putih merupakan komponen utama dalam sistem kekebalan tubuh dan berperan dalam peradangan (Akrom, 2021). Leukosit berperan dalam melawan infeksi, melindungi tubuh dengan memfagosit organisme asing penyebab infeksi, dan menghasilkan atau mengangkut antibodi (Tigner et al., 2022). Leukosit seperti neutrofil, monosit, makrofag, sel dendritik, eosinofil, sel natural killer, sel limfoid, dan sel T, dapat teraktivasi sebagai respons terhadap infeksi dan memicu respon imun adaptif (Andrievskaya et al., 2024). Sehingga pada saat inflamasi biasanya akan terjadi peningkatan jumlah sel leukosit (Pattipeiluhu et al., 2022). Namun jika tubuh kekurangan leukosit maka fungsi sistem kekebalan juga akan menurun (Restia et al., 2024). Oleh karena itu leukosit dapat digunakan sebagai penanda biokimia pada kondisi inflamasi (Barichello et al., 2022). Nilai normal leukosit dalam tubuh orang dewasa diperkirakan sekitar 3.200 – 10.000/mm^3 (Kemenkes, 2011).

Sebagian besar obat yang digunakan untuk meredakan beberapa gejala terkait inflamasi bekerja dengan menghambat kerja siklooksigenase atau dengan memblokir reseptor sitokin, namun bila digunakan dalam jangka panjang, obat ini mempunyai efek sekunder (Shukla et al., 2019).

Penggunaan obat antiinflamas nonsteroid (NSAID) dalam praktik klinis masih dipertimbangkan, karena munculnya bukti yang menunjukan berbagai risiko, sehingga telah banyak yang menggunakan senyawa alami berbasis tanaman obat untuk mengobati berbagai penyakit (Nunes et al., 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan beberapa tanaman obat yang memiliki efek antiinflamasi seperti andong, srikaya, pepaya, pisang, kemangi, kunyit, kelor, karehau, karamunting, pasak bumi, pinang (Emelda et al., 2023). Pada penelitian lain juga ditemukan pada infusa daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) efektif sebagai antiiflamasi (Isrul et al., 2020). Pada ekstrak metanol *Kaempferia galanga* L juga terbukti mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi (Andriyono, 2019). Penelitian oleh Garakia pada tahun (2020) meneliti ekstrak etanol tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) menunjukan adanya aktivitas antiinflamasi.

Aktivitas antiinflamasi berbagai tanaman tersebut sebagian besar dikaitkan dengan senyawa flavonoidnya, hal ini karena tumbuhan tersebut memiliki kandungan fitokimia dimana sekitar 5-10% dari senyawa metabolit sekundernya adalah flavonoid (Susila Ningsih et al., 2023a). Flavonoid adalah senyawa fenolik yang banyak ditemukan dalam tumbuhan (Ekalu & Habila, 2020). Berdasarkan penelitian beberapa tanaman yang mengandung senyawa flavonoid diantaranya buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), buah naga merah (*Hylocereuspolyrhizus*), batang senggani (*Melastoma malabathricum* L.), dan berbagai tanaman lainnya (Ichsani et al., 2021). Pada batang ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan ekstrak daun *Moringa oleifera* juga di identifikasikan mengandung senyawa flavonoid (Ridwanuloh & Syarif, 2019; Tenri & Rivai, 2020).

Flavonoid terdiri dari berbagai kelas seperti flavon, flavonol, flavanonol, flavanon, isoflavon, flavan-3-ol, antosianidin, chalcone, dan aurone (Rakha et al., 2022). Senyawa flavanoid juga dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi yaitu sebagai anti-alergi, kardioprotektif, antidiabetes, anti-oksidatif, dan kapasitas menangkal radikal bebas bebas (Ekalu & Habila, 2020). Dalam penelitian Muslikh *et al* (2023) senyawa flavonoid secara in silico memiliki aktivitas sebagai antivirus

COVID-19 dengan menghambat *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp). *Epigallo Catechin Gallate* (EGCG) yang merupakan turunan dari golongan katekin, memiliki kemampuan untuk merusak sifat fisik dari dinding sel virus influenza yang dapat menyebabkan penghambatan proses hemifusi antara virus influenza dan membran sel (Fitri & Putra, 2021).

Saat ini informasi mengenai efek flavonoid sebagai antiinflamasi dengan penanda leukosit belum tersedia, oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti efek antiinflamasi senyawa flavanoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan yang diinduksi inflamasi menggunakan karagenan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawleyyang diinduksi inflamasi dengan karagenan?
2. Berapakah dosis optimal senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawleyyang diinduksi inflamsi dengan karagenan

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek anti-inflamasi dari senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus galur Sprague Dawley yang diinduksi karagenan
2. Mengetahui dosis optimal senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan bukti ilmiah mengenai efek senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawleyyang diinduksi karagenan.
2. Memberikan informasi mengenai dosis senyawa flavonoid yang optimal sebagai antiinflamasi pada tikus jantan galur Sprague Dawleyyang diinduksi karagenan

3. Memberikan informasi yang dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya mengenai pengaruh senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawleyyang diinduksi karagenan

1.5 Batasan Penelitian

1. Sampel yang digunakan adalah senyawa flavonoid
2. Penelitian merupakan studi eksperimental menggunakan hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar
3. Data yang diperoleh dari hasil penelitin berupa jumlah leukosit yang dianalisis secara statistik mengunakan perangkat lunak *Statistical Product and Service Solution* (SPSS)

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Data Pustaka

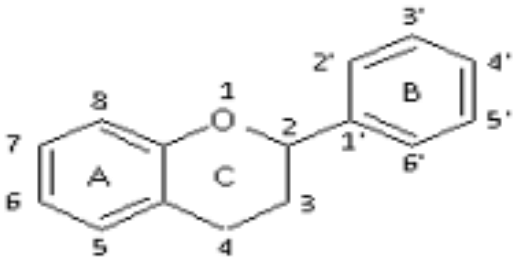
Berdasarkan penelitian oleh Sugeng et al., 2019 didapatkan hasil bahwa ekstrak daun *Carica pubescens* dengan dosis 100 mg/KgBB efektif menurunkan jumlah leukosit pada tikus yang diinduksi dengan *Azoxymethane* (AOM). Dosis yang lebih tinggi dari 100 mg/KgBB tidak memberikan efek tambahan yang signifikan. Dosis efektif ekstrak daun *Carica pubescens* dalam penelitian ini adalah 100 mg/KgBB.

Pada penelitian oleh Suryandari et al., 2021 hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun Sesewanua (*Clerodendrum squamatum* Vahl.) dengan dosis 18 mg/kg berat badan tikus, 36 mg/kg berat badan tikus, dan 72 mg/kg berat badan tikus memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.), yang efeknya hampir setara dengan natrium diklofenak. Dosis yang memberikan efek antiinflamasi paling optimal adalah 18 mg/kg berat badan tikus, dengan persentase inhibisi inflamasi mencapai 95,04%.

Pada penelitian oleh Rahman et al., 2021 didapatkan hasil yang diperoleh, infusa mengandung metabolit skunder Tanin, Fenol, Flavonoid, Terpenoid, Saponin, dan Alkaloid. Dari hasil Analisis Statistik di dapati perbedaan yang signifikan untuk kelima kelompok dengan $p<0.05$. Setelalah dilakukan uji lanjutan Bafferoni didapatkan bahwa terjadi perbedaan signifikan dengan $p<0,05$ untuk kelompok kontrol positif, infusa 15%, dan infusa 20% dibandingkan dengan kontrol negatif. Kemudian dibandingkan dengan kontrol positif hanya infusa 20% yang berbeda signifikan $p<0.05$ lebih banyak menghasilkan leukosit. Infusa daun sungkai (*peronema canescens*) memiliki efek imunodulator yang bekerja dengan meningkatkan jumlah leukosit pada mencit jantan (*mus musculus*). Dosis yang paling efektif dari infusa daun sungkai yaitu sebesar 20% /30gBB.

2.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder dari polifenol, biasanya banyak ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan. Banyaknya senyawa flavonoid ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi dalam strukturnya. Flavanoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang tersusun dalam pola C_6-C_1-C_6, yang dimana kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C (cincin benzena) yang dihubungkan oleh gugus C_3 (rantai alifatik). Kerangka flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Bentuk teroksidasi cincin tengah ini digunakan sebagai dasar untuk membagi flavonoid ke dalam sub-sub kelompok. Sistem penomoran digunakan untuk mengidentifikasikan posisi karbon di sekitar molekulnya (Hasby, 2019).



Gambar 2. 1 Struktur Flavonoid

(Sumber : Karak, 2019)

Flavonoid adalah kelompok senyawa yang banyak ditemukan di alam. Hingga saat ini, lebih dari 9,000 flavonoid telah diidentifikasi. Kebutuhan flavonoid bervariasi antara 20 mg hingga 500 mg, dan senyawa ini terutama ditemukan dalam berbagai suplemen makanan seperti teh, anggur merah, apel, bawang dan tomat. Flavonoid ditemukan pada tanaman dan berperan dalam menghasilkan pigmen yang memberikan warna kuning, merah, orange, biru, dan warna ungu pada buah, bunga, dan daun. Flavonoid adalah bagian dari famili polifenol yang larut dalam air (Julyasih, 2023).

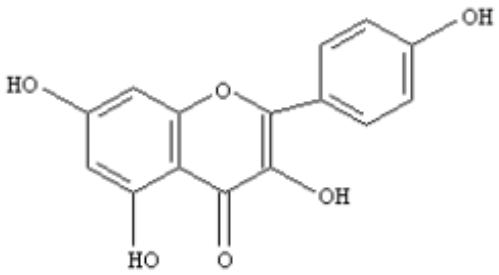
2.2.1 Jenis Flavonoid

Secara umum, flavonoid terbagi menjadi tujuh subkelas berdasarkan perbedaan strukturnya yaitu : flavonol, flavon, isoflavon, antosianidin, flavanon, flavanol, dan kalkon. Klasifikasi ini didasarkan pada tingkat oksidasi *heterocycle* (Wahjuningsih et al., 2023).

1) Flavonol

Flavonol atau sering disebut juga dengan 3-hidroksiflavon, memiliki gugus hidroksil pada posisi C30 dari cincin C dan dalam beberapa kasus diglikosilasi. Flavonol memiliki cincin C yang tidak jenuh pada karbon di posisi 2 dan 3 yang terhidroksilasi pada karbon 3 dan teroksidasi pada karbon 4 (Chiorcea, P. A, 2023).

Flavonol adalah bahan dasar dari proantosianidin, yang melimpah dalam sayuran dan buah-buahan seperti bawang, selada, tomat, apel, anggur, dan sebagainya. Glikosilasi dan metilasi terutama disumbangkan pada keragaman senyawa flavonol. O-glikosida sebagai substituen utama terjadi pada posisi 7 dari cincin A dan posisi 3 dari cincin C, membentuk glikosida flavonol terutama pada kaempferol, kuersetin, limositrin, dan isorhamnetin. Dalam 15 tahun terakhir, jumlah flavonol yang diidentifikasikan meningkat secara signifikan. Flavonol dalam makanan berperan penting dalam kesehatan manusia karena aktivitas antioksidan, kardioprotektif, antibakteri, antivirus, dan antikanker (Zhuang et al., 2023). Senyawa flavonol dapat dibagi menjadi beberapa kelompok seperti kaempferol, quercetin, myricetin, dan galangin. Flavonal dapat dijumpai pada sayuran dan buah-buahan termasuk brokoli, bawang asparagus, dan apel (Wahjuningsih et al., 2023).

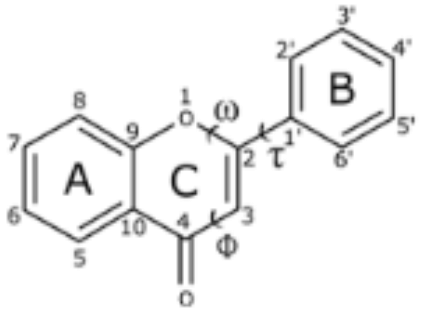


Gambar 2. 2 Struktur Flavanol

(Sumber : Julianto Shabur, 2019)

2) Flavon

Secara struktural, flavon mirip dengan flavonol tetapi berbeda dengan kelompok hidroksil yang lebih sedikit di C3 cincin pirana. Flavon dan turunan sintesisnya menunjukan bebrbagai aktivitas biologis termasuk antioksidan, antitumor, antialergi, antiinflamasi, kardioprotektif, dan antimikroba. Flavon yang paling menonjool dalam makanan nabati adalah luteoli dan apigenin. Selain itu, mereka ada dalam jumlah yang tinggi dalam sereal, seledri, *artichoke*, dan peterseli. Teh hijau dan hitam juga mengandung orientin dan isoorientin serta berbagai apigenin mono dan di- glikosida (Rakha et al., 2022).



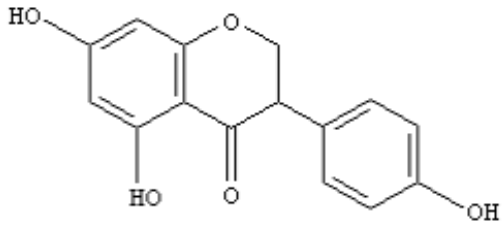
Gambar 2. 3 Struktur Flavon

(Sumber : De Souza Farias et al., 2021)

3) Isoflavon

Isoflavon merupakan senyawa yang cincin B-nya terikat pada posisi 3 cincin C. Isoflavon secara struktural menyerupai 17-beta estradiol dan dapat berikatan dengan reseptor estrogen. Oleh karena itu, mereka juga dikenal sebagai fitoestrogen. Hal ini karena bergantung pada tingkat estrogen endokrin, dimana dapat bertindak sebagai agonis atau antagonis. Isoflavon memiliki potensi besar

untuk berbagai penyakit termasuk memperbaiki osteoporosis dan penyakit kardiovaskular, pencegahan dan pengobatan kanker terkait hormon, pengobatan gejala menopause, dan penyakit terkait usia lainnya. Sumber utama isoflavon adalah tanaman leguminosa yang termasuk dalam keluarga *fabaceae* atau *leguminosae*. Sumber lainnya termasuk semanggi merah yang mengandung jumlah fitoestrogen tertinggi. Beberapa contoh isoflavon diantaranya genistein, *glycitein*, *biochanin* A, dan formononetin (Ramesh et al., 2021).



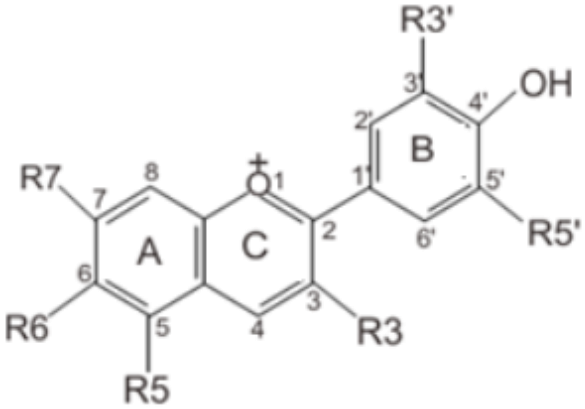
Gambar 2. 4 Struktur Isoflavon
(Sumber : Julianto Shabur, 2019)

4) Antosianin

Antosianin adalah kelompok pigmen larut air yang paling umum ditemukan di tanaman selain klorofil. Nama antosianin berasal dari bahasa Yunani, yaitu dari kata "*anthos*" yang berarti bunga, dan "*kyanos*" yang berarti biru (Nurtiana, 2019). Antosianin adalah senyawa alami yang terakumulasi pada vakuola dan bertanggung jawab untuk memberikan warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, bunga, dan tumbuhan lainnya. Senyawa ini juga sering ditemukan pada daun, batang, biji, dan jaringan lain. Secara umum, pigmen turunan sianidin dan pelargonidin memberikan warna ungu dan merah secara berurutan, sedangkan delphinidin memberikan warna ungu atau biru (Ifadah et al., 2019).

Antosianin dikategorikan sebagai pigmen flavonoid yang larut dalam air dan merupakan salah satu kelompok pigmen utama pada tanaman tingkat tinggi. pigmen antosianin ditemukan dalam vakuola sel tanaman dan merupakan flavonoid yang secara alami berbentuk glikosida dari *flavylium* atau 2-fenil benzopirilium. Pigmen ini termasuk turunan benzopiran. Struktur utama benzopiran dicirikan oleh keberadaan dua cincin aromatik benzena yang terhubung dengan tiga atom karbon membentuk cincin. Antosianin merupakan kelompok glikosida yang terbentuk oleh

aglikon dan glikon. Struktur dasar antosianin terdiri dari 2-*fenil-benzopirilium* atau *flavylium* dengan sejumlah hidroksi dan metoksi. Sebagian besar ntosianin besar berasal dari 3,5,7-*trihidroksi flavylium klorida* dan bagian gula biasanya terikat pada gugus hidroksil pada karbon nomor 3. Jika bagian gula dari antosianin dihilangkan melalui proses hidrolisis, akan tersisa aglikon dan pigmen bebas gula yang disebut antosianin (Ifadah et al., 2019).

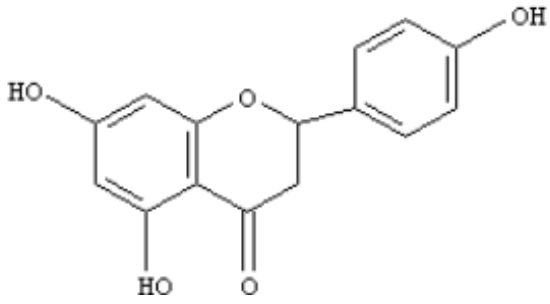


Gambar 2. 5 Struktur Antosianin

(Sumber : Ifadah et al., 2019)

5) Flavanon

Flavanon atau sering dikenal sebagai dihidroflavon, memiliki cincin C yang jenuh. Salah satu perbedaan struktural utama antara flavanon dengan flavonoid lainnya adalah kejenuhan ikatan rangkap antara posisi C2 dan C3.



Gambar 2. 6 Struktur Flavanon

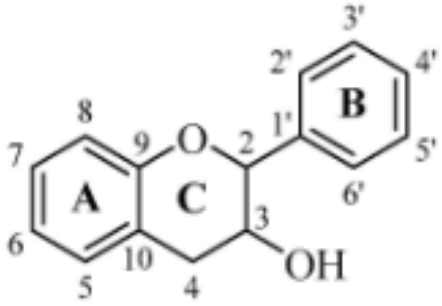
(Sumber : Julianto Shabur, 2019)

Flavanon hanya ada di buah-buahan dari keluarga *Rutaceae,* seperti jeruk dan lemon. Flavanon jeruk memiliki jenis aglikon, dan aglikon yang sama dapat digabungkan dengan berbagai glikosida untuk membuat flavanon yang berbeda.

Senyawa ini membuat kulit buah dan sari buah jeruk terasa pahit, seperti pomelo dan naringin. Di antara flavanon, hesperidin dan naringin yang ditemukan dalam jeruk, *eriodictyol* yang ditemukan dalam lemon, dan naringenin ditemukan dalam grapefruit adalah yang paling representatif. Kandungan flavanon dan antosianin dalam jeruk biasanya berbeda dari varietas. Namun, varietas jeruk merah memiliki banyak flavanon dan antosianin, dengan kemampuannya untuk menyediakan hidrogen fenolik, yang dapat berfungsi sebagai antioksidan yang sangat baik (Wahjuningsih et al., 2023).

6) Flavanol

Flavanol adalah metabolit sekunder bioaktif dari tumbuhan dan secara kuantitatif merupakan kelas flavonoid fenolik yang paling melimpah ditemukan dalam buah anggur. Struktur kimia dari flavanol ditandai oleh kerangka karbon tiga cincin C6-C3-C6, ("*flavan*") yang terdiri dari cincin heterosiklik tengah jenuh dengan oksigen dan gugus hidroksil pada posisi C3 ("*-ol*") (Pérez-Navarro et al., 2019). Flavanol juga banyak ditemukan di dalam makanan umum, termasuk sereal, kacang-kacangan, buah-buahan, sayuran, hijauan, hop, bir, anggur merah, teh, kakao, anggur, dan apel (Luo et al., 2022).

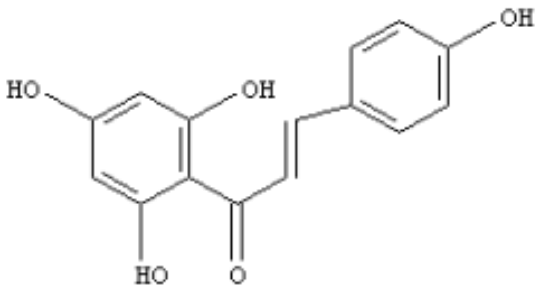


Gambar 2. 7 Struktur Flavanol

(Sumber : Luo et al., 2022)

7) Chalcone

Chalcone (1,3-diaryl-2-propen-1-one) merupakan flavonoid rantai terbuka alami yang memiliki hingga tiga gugus prenil C5-, C10-, dan C15-, yang mungkin dimodifikasi atau tidak dimodifikasi, pada cincin A dan B (Wahjuningsih et al., 2023).



Gambar 2. 8 Struktur Kalkon

(Sumber : Julianto Shabur, 2019)

Polihidroksi chalcone ditemukan dalam berbagai tanaman, tetapi jarang ditemukan di alam. Alasan utamanya adalah chalcone cepat mengalami isomerasi menjadi flavanon dalam keadaan seimbang. Jika chalcone dihidroksilasi pada posisi 2.6. isomer flavanon akan mengikat lima gugus hidroksil, dan stabilisasi yang terjadi karena ikatan hidrogen antara 4-karbonil dan 5-hidroksil membuat keseimbangan antara chalcone dan flavanon lebih condong ke flavanon. Oleh karena itu, chalcone yang ditemukan di alam biasanya memiliki gugus 2,4-hidroksil atau gugus 2-hidroksil-6-glikosilasi (Heliawati, 2018).

chalcone seperti merein, koreopsin, stillopsin, dan lanseolin, ditemukan dalam tanaman terutama sebagai pigmen bunga berwarna kuning. Chalcone ini umumnya banyak ditemukan dalam famili *fabaceae, moraceae, zingiberaceae, dan cannabaceae*. Chalcone memiliki berbagai efek farmakologis termasuk sebagai antioksidan, antibakteri, antihelmintik, antiulkus, antivirus, antiprotozoa, dan antikanker (Wahjuningsih et al., 2023).

2.2.2 Biosintesis Flavonoid

Sejak tahun 1936, penelitian tentang biosintesis flavonoid telah dilakukan. Pada awalnya, para penelitian percaya bahwa flavonoid C6-C3-C6 berasal dari fenil propanoid. Namun, selama bertahun-tahun teori sintesis flavonoid telah diperoleh dan telah dibuktikan di Laboratorium. Secara umum, sintesis flavonoid terdiri dari dua jalur diantaranya jalur poliketida dan jalur fenil propanoid. Jalur poliketida terdiri dari tiga reaksi kondensasi asetat-malonat, sedangkan jalur fenil propanoid, yang juga dikenal sebagai jalur shikimat.

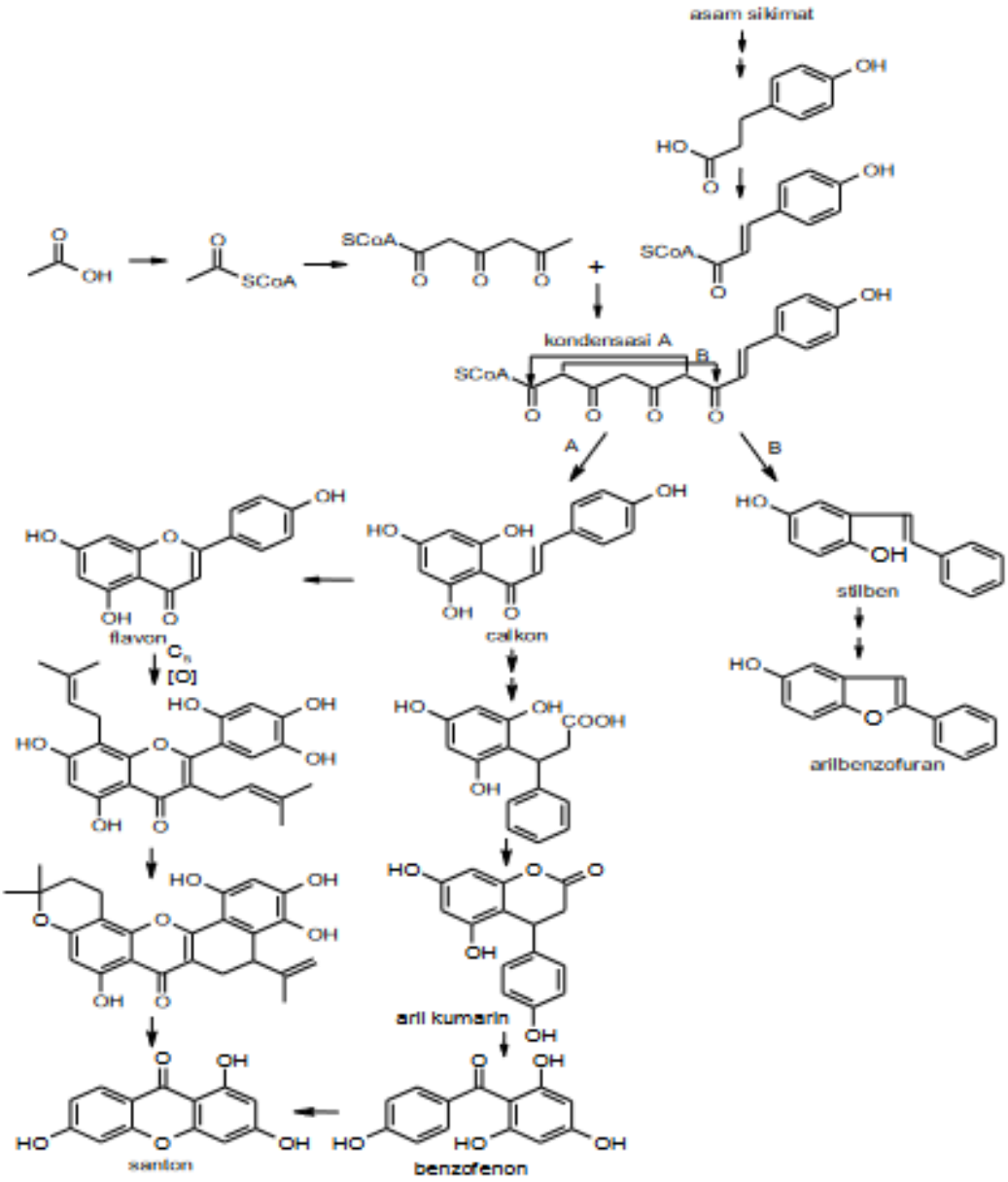
Biosintesa flavonoid pertama kali disarankan oleh Birch. Menurutnya, pada tahap pertama biosintesa flavonoid, unit C6-C3 bergabung dengan 3 unit C2 menghasilkan unit C6-C3-(C2+C2+C2). Kerangka C15, yang dibuat dari kombinasi unit, memiliki gugus fungsi oksigen pada posisi yang dibutuhkan. Cincin B dan tiga atom karbon rantai propan berasal dari jalur fenilpropanoid, atau jalur sikimat. Cincin A dari struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yang merupakan jalur kondensasi dari tiga unit asetat atau malonat (Heliawati, 2018).

a. Jalur Poliketida

   Pada jalur poliketida, reaksi dimulai dengan reaksi asetil karbondioksida dengan karbondioksida, yang menghasilkan malonat karbondioksida. Selanjutnya, malonat karbondioksida akan bereaksi dengam asetoasetil karbondiaksida, yang menghasilkan poliasetil. Poliasetil yang terbentuk kemudian akan berkondensasi dan bereaski dengan jalur fenilpropanoida, yang menghasilkan flavonoid.

b. Jalur Fenilpropanoid

   Jalur fenilpropanoid terlibat dalam glikolisis, tetapi tidak menghasilkan asam piruvat; sebaliknya, menghasilkan asam shikinat. Fosfoenol piruvat dan eritrosa terlibat dalam reaksi ini. Asam shikinat akan ditransformasikan menjadi dua asam amino, fenilalanin dan tirosin yang masing-masing akan melepas NH3 dan membentuk asam sinammat, akibat substitusi pada gugus benzennya, tirosin akan membentuk senyawa turunan asam shikimat (Mariana et al., 2019).



Gambar 2. 9 Biosintesis Flavonoid

(Sumber : Heliawati, 2018)

Rantai fenil propanoid (C6-C3) yang berasal dari turunan sinamat diperpanjang untuk memulai biosintesis flavonoid. Cincin A dab cincin B pada struktur flavonoid berasal dari dua jalur biosintesis cincin aromatik yaitu jalur poliketida, yang terdiri dari kondensasi tiga atom asetat atau malonat, dan jalur fenilpropanoid atau dikenal sebagai jalur shikimat (Heliawati, 2018).

2.2.3 Manfaat dan Aktivitas Farmakologi Flavonoid

a) Aktivitas Antioksidan

Dalam fungsinya sebagai antioksidan, flavonoid menyumbangkan satu elektronnya untuk menangkap radikal bebas yang tidak stabil. Selain itu, flavonoid dapat menghambat atau menstabilkan pembentukan radikal bebas dengan dengan menghilangkan spesies yang mengoksidasi senyawa xenobiotik. Dalam proses ini flavanoid mengaktifkan jalur sinyal enzim endogen seperti *Superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), dan *glutathione peroksidase* (GPx) sehingga tidak terbentuk *hydrogen peroxide* (H_2O_2) dan *Hydroxyl radical* (OH) (Husna et al., 2022).

b) Aktivitas Antiinflamasi

Flavonoid dapat diduga sebagai agen anti inflamasi. Flavonoid dapat menekan produksi sitokin proinflamasi, salah satunya TNF-alpha. Karena dapat mengurangi aktivasi jalur sinyal yang mengarah pada produksi TNF-alpha, seperti jalur NF-kB. Sehingga dengan mencegah produksi TNF-alpha, flavonoid membantu mengurangi peradangan dalam tubuh (Wardani et al., 2023). Mekanisme umum yang paling mendasar yang mendasari di mana flavonoid menghambat NFKB adalah melalui penghambatan kinase yang diperlukan untuk aktivasi NFKB, seperti AKT atau MAPK. Sejauh ini flavonoid dalam mempengaruhi peradangan melalui modulasi dari aktivasi *aryl hydrocarbon receptor in vivo* selain mekanisme yang mendasari belum ditentukan. Salah satu jenis flavonoid yaitu naringin telah terbukti berperan sebagai agonis *aryl hydrocarbon receptor* secara in vitro yang menunjukan efek imunosupresif (Swason, 2020).

Flavonoid dapat mengurangi aktivitas dan efek pro-inflamasi TNF alpha dengan menghambat ikatan TNF alpha ke reseptornya atau menghentikan proses transduksi sinyal (Sihaloho, 2022). Dengan menghentikan aktivitas enzim yang terlibat dalam proses produksi TNF alpha, flavonoid dapat menghambat sintesisnya. Salah satu contoh aktivitas yang dihambat oleh flavonoid adalah aktivitas enzim fosfolipase A2, yang diperlukan untuk membebaskan asam arakidonat, prekursor TNF alpha, dari membran sel. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat aktivitas enzim yang bertanggung jawab atas konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin,

mediator inflamasi yang memiliki kemampuan untuk merangsang (Wardani et al., 2023).

Efek antiinflamasi flavonoid melalui penghambatan COX dan lipoksiganase dapat menekan sintesis leukotrien dan prostaglandin, sehingga dapat mencegah sekresi lendir pelindung dinding lambung. Memblokir leukosit selama proses inflamasi mengurangi respon tubuh terhadap peradangan. Penghambatan penumpukan leukosit ini disebabkan adanya penghambatan COX sehingga terjadi penghambatan tromboksan dimana tromboksan ini menyebabkan modulasi leukosit. Penghambatan degranulasi neutrofil mengurangi asam arakidonat neutrofil. Terhambatnya pelepasan histamin disebabkan karena flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast (Riki Ginanjar & Medika, 2021).

c) Aktivitas Antikanker

Istilah kanker mengacu pada penyakit dimana sel-sel dalam suatu jaringan berkembangbiak secara tidak terkendali dan cepat. Hal ini merupakan hilangnya kendali terhadap pertumbuhan sel. Pengobatan alternatif telah digunakan untuk mengatasi kanker dengan flavonoid yang berasal dari tumbuhan. Sifat farmakologis flavonoid menjadikan alternatif yang bermanfaat dalam menghambat kerusakan sel. Flavonoid telah diidentifikasikan sebagai terapi anti kanker yang efektif, terutama *quarcetin*. Kuarsetin telah terbukti efektif dalam mengobati kanker perut, paru-paru, prostat, dan payudara. Dalam penelitian Pradhan *et al*, tahun 2015 melaporkan bahwa *quarcetin* memiliki aktivitas anti tumor tanpa toksisitas terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Aktivitas antikanker dari quarcetin ini dikaitkan dengan penghambatan enzim DNA girase. Luteolin yang diisolasi dari daun *Struchium sparganophora* telah menyebabkan kematian sel melanoma dan garis sel kanker ovarium. *Luteolin-7-O-β-glucopyranoside, formononetin-7-O-β-D-glucoside, dan quercetin-3-O-β-d-glucuronide*, yang diisolasi dari daun *Cassia Toralinn*, menunjukkan aktivitas melawan kanker payudara (MCF7). *Luteolin* dari *Vitex* juga merupakan agen anti tumor yang aktif (Ekalu & Habila, 2020).

d) Aktivitas Antibakteri

Apigenin, galangin, naringenin, epigalokatekin galat beserta turunannya, flavon, dan isoflavon adalah beberapa flavonoid yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menghentikan DNA girase bakteri, yang menghentikan pertumbuhannya. Selain itu, karena adanya gugus hidroksil flavonoid, kandungan flavonoid memiliki efek toksik pada bakteri karena mengubah komponen organik dan mengangkut nutrien ke dalam bakteri. Salah satunya dalam kuersetin yang memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein pada bakteri, yang berkontribusi pada penurunan metabolisme bakteri dan penghentian pertumbuhannya. Selain itu, kuersetin memiliki kemampuan untuk mengganggu transport membran dan menghambat pergerakan bakteri, meningkatkan permeabilitas dan merusak potensial membran, dan menghentikan bakteri untuk menghasilkan ATP (Ningsih et al., 2023).

2.3 Inflamasi

2.3.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi berasal dari kata *inflammation* atau dalam bahasa latin sering disebut dengan peradangan. Inflamasi adalah respon biologis dari jaringan tubuh terhadap rangsangan berbahaya seperti patogen, sel yang rusak, atau iritan. Inflamasi melibatkan sel-sel kekebalan, pembuluh darah, dan mediator molekuler sebagai respon perlindungan (Akrom, 2021). Tubuh melindungi dirinya dari benda asing melalui sirkulasi leukosit dan protein plasma, serta sel fagosit jaringan, yang berasal dari sel sirkulasi. Leukosit perlu berinteraksi dengan sel lain melalui molekul adhesi pada matriks untuk memulai aktivitasnya. Pematangan leukosit dalam jaringan limfoid, aktivasi dan migrasi leukosit ke jaringan, interaksi dan aktivasi antar sel imun seperti limfosit B, limfosit T, dan monosit merupakan semua tugas yang dibutuhkan oleh molekul adhesi (Harlim, 2018).

2.3.2 Mekanisme Inflamasi

Mekanisme inflamasi dimulai ketika terjadi rangsangan yang merusak jaringan dan menyebabkan dinding pembuluh melebar. Hal ini diikuti dengan

perubahan volume darah di kapiler, yang menyebabkan sel-sel pembuluh darah meregang dan protein plasma dilepaskan. Akibatnya, cairan menumpuk di jaringan dan mediator seperti histamin dan prostaglandin dilepaskan, yang memicu proses inflamasi (Wenas et al., 2020).

Stimulus ini menyebabkan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin dan prostaglandin yang menimbulkan reaksi inflamasi berupa panas, nyeri, kemerahan, bengkak dan gangguan fungsional yang menyertainya. Kerusakan sel yang berhubungan dengan peradangan mempengaruhi membran sel, menyebabkan sekresi enzim lisosom leukosit dan asam arakidonat. Metabolisme asam arakidonat menghasilkan prostaglandin, yang mempengaruhi pembuluh darah, ujung saraf dan sel-sel yang terlibat dalam peradangan. Peradangan pada dasarnya merupakan mekanisme pertahanan terhadap infeksi dan perbaikan jaringan, namun peradangan yang persisten (kronis) juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan bertanggung jawab atas mekanisme banyak penyakit (Rahmi, 2020).

2.3.3 Tanda-Tanda Inflamasi

1) Rubor (Kemerahan)

Terjadi pada tahap awal peradangan. Pelepasan mediator kimia tubuh, seperti kimia, prostaglandin, dan histamin, menyebabkan darah berkumpul di daerah jaringan yang terluka. Dimana setelah trauma atau infeksi, pembuluh darah membawa darah ke area yang terluka, membanjiri jaringan kapiler sehingga jaringan menjadi merah (Nurprilinda et al., 2021;Akrom, 2021).

2) Tumor (pembengkakan)

Pada tahap kedua dari inflamasi, plasma masuk ke dalam jaringan intestinal yang terkena cedera. Asteriol didilatasi oleh kinin, meningkatkan permeabilitas kapiler. Dengan meningkatnya permeabilitas kapiler, cairan dan sel-sel dapat masuk ke jaringan di sekitarnya. Eksudat, atau cairan yang terakumulasi, memiliki kadar protein yang lebih tinggi daripada cairan biasa. Akumulasi cairan inilah yang menyebabkan bengkak (edema) (Nurprilinda et al., 2021; Akrom, 2021).

3) Kolor (panas)

Kolor (panas) terjadi karena peningkatan pengumpulan darah atau mungkin karena pirogen, zat yang menyebabkan demam, yang mengganggu pusat pengaturan panas hipotalamus (Dharmawati, 2021). Karena sirkulasi darah yang meningkat, darah dengan suhu 37°C diberikan ke permukaan tubuh yang mengalami radang lebih banyak daripada yang biasanya, reaksi peradangan akut menjadi lebih panas.

4) Dolor (nyeri)

Nyeri dapat disebabkan karena pengeluaran mediator-mediator kimia. Pengeluaran zat seperti histamin atau zat bioaktif lainnya dapat merangsang ujung saraf. Selain itu, pH lokal atau konsentrasi ion tertentu dapat berubah. Peningkatan tekanan yang disebabkan oleh pembengkakan jaringan yang meradang juga menyebabkan rasa sakit (Price & Wilson, 2003).

5) Funcion Laesa (hilangnya fungsi)

Hilangnya fungsi disebabkan oleh penumpukan cairan yang menyebabkan kerusakan jaringan dan rasa nyeri, yang keduanya mengurangi mobilitas area yang terkena (Dharmawati, 2021).

2.3.4 Klasifikasi Inflamasi

1) Inflamasi Akut

Inflamasi akut merupakan respons awal terhadap cedera jaringan pada sebagian besar keadaan. Penyebab utama dari inflamasi akut antara lain : infeksi bakteri; reaksi hipersensitivitas; agens fisik seperti radiasi; agen kimia seperti toksin; jaringan nekrosis setelah terjadi ifark. Pada umumnya respon ini dapat terjadi dalam waktu yang relatif singkat, mulai dari beberapa menit sampai jam atau beberapa hari (Herrington, 2014). Respons ini merupakan respons khas dari respons imunitas *innate*. Dalam kebanyakan kasus, inflamasi akut disertai dengan reaksi sistemik yang tandai dengan perubahan cepat dalam kadar beberapa protein plasma. Reaksi-reaski ini dapat menyebabkan reaksi berantai dan kompleks yang berdampak pada vasodilatasi, kebocoran vaskular mikro dengan eksudasi protein dan infiltrasi lokal

sel-sel inflamasi. Keterlibatan sel mast dalam inflamasi akut juga dapat menyebabkan aktivitas eosinofil meningkat (Harlim, 2018).

Peradangan akut dimulai setelah cedera tertentu, memicu pelepasan mediator terlarut seperti sitokin, protein fase akut, dan kemokin. Zat-zat ini mendorong migrasi neutrofil dan makrofag ke lokasi peradangan, yang merupakan komponen penting dari respons imun bawaan selama peradangan akut. Jika peradangan akut tidak segera teratasi, peradangan akan berkembang menjadi peradangan subakut. Jika peradangan berlanjut lebih dari 6 minggu, peradangan akan berubah dari subakut menjadi kronis, ditandai dengan migrasi limfosit T dan sel plasma ke lokasi peradangan. Peradangan yang berkepanjangan tanpa pemulihan menyebabkan kerusakan jaringan dan fibrosis (Hannoodee Sally et al., 2024).

Fungsi utama dari reaksi ini adalah terjadinya perpindahan sel-sel dan mediator-mediator menuju jaringan yang mengalami jejas melalui aliran darah. Oleh sebab itu, pembuluh darah memainkan peran penting dalam mengkoordinasi respons inflamasi, inflamasi akut dapat dibedakan menjadi 2 fase, yaitu fase vaskular dan fase seluler. Fase ini dapat timbul bersamaan dengan respons inflamasi yang lain dengan fase vaskular timbul lebih awal dan kemudian akan berlanjut pada fase seluler selama proses inflamasi akut. Pada fase seluler meliputi keluarnya keluarnya leukosit, terutama neutrofil dari sirkulasi masuk ke dalam jaringan yang rusak akibat cedera dengan tujuan membatasi perluasan cedera jaringan. Fase ini melibatkan beberapa tahap yang berbeda dan sel endotel memiliki peran utama dalam fase ini (Herrington, 2014).

2) Inflamasi Kronik

Inflamasi kronis terjadi dalam waktu panjang dan bertahan lebih lama daripada inflamasi akut. Peradangan akut dapat muncul dalam hitungan menit hingga jam dan dapat bertahan selama berhari-hari (Andriyono, 2019b). Sebagian besar ciri peradangan menetap ketika peradangan menjadi kronis, termasuk pelebaran pembuluh darah (vasodilatasi), peningkatan aliran darah, permeabilitas kapiler, dan migrasi neutrofil melalui dinding kapiler ke jaringan yang terinfeksi (diapedesis). Namun, komposisi sel darah putih segera berubah dan neutrofil yang berumur pendek. Dengan demikian, ciri khas peradangan kronis adalah infiltasi sel-sel

inflamasi primer seperti makrofag, limfosit, dan sel plasma di lokasi jaringan, yang menghasilkan sitokin inflamasi, faktor pertumbuhan, enzim dan dengan demikian berkontribusi terhadap perkembangan kerusakan jaringan dan perbaikan sekunder termasuk fibrosis dan pembentukan granuloma, dll (Pahwa et al., 2023).

Peradangan kronis dapat menggantikan respons inflamasi akut melalui 2 cara atau memang muncul sejak awal. Pertama, setelah fase akut, inflamasi dapat dipicu oleh persistensi mikroorganisme atau agens toksik; ini terutama terjadi pada mikroorganisme yang tidak dapat dibunuh oleh neutrofil, seperti Mycobacterium tuberculosis, yang menyebabkan TBC. Kedua, seringkali terjadi inflamasi akut dapat menyebabkan kerusakan jaringan, dan respons inflamasi kemudian memasuki fase kronis. Pada akhirnya, keadaan akan berkembang menjadi kolesistitis kronis, penebalan dinding kandung empedu, infiltrasi makrofag, dan gejala yang tidak berubah (Herrington, 2014).

2.4 Golongan Obat Antiinflamsi

2.4.1 NSAID

Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) adalah pengobatan farmakologis yang biasa digunakan untuk mengobati nyeri pada rheumatoid arthritis serta kondisi lain seperti kanker dan gangguan neurologis. Meskipun strukturnya berbeda, semua obat antiinflamasi mampu mencegah sintesis prostaglandin, yang memberikan efek nyeri, antiinflamasi, dan antipiretik. Penghambatan prostaglandin terjadi pada tingkat molekuler melalui enzim siklooksigenase (COX). Enzim ini memiliki dua isoform yaitu COX-1 dan COX-2. Ekspresi isoform COX-2 meningkat selama inflamasi, sedangkan COX-1 konstitutif berperan dalam menjaga integritas mukosa lambung dan fungsi trombosit. NSAID konvensional yang tidak selektif dalam menghambat COX-1 dan COX-2 menyebabkan peningkatan efek samping pada saluran cerna. Namun, dalam dekade terakhir, obat antiinflamasi nonsteroid COX-2 selektif telah ditemukan, yang secara signifikan mengurangi efek samping pada mukosa lambung. Namun, efek samping kardiovaskular semakin meningkat, yang menyebabkan penghentian beberapa obat coxib, seperti rofecoxib dan valdecoxib (Perhimpunan Reumatologi Indonesia, 2014).

2.4.2 Kortikosteroid

Kortikosteroid adalah obat yang digunakan dalam pengelolaan dan perawatan hampir semua bidang kedokteran. Secara umum,kortikosteroid menghasilkan efek antiinflamasi dan imunosupresif, efek metabolit perotein dan karbohidrat, efek air dan elektrolit, efek sistem saraf pusat, dan efek sel darah. Kortikosteroid memiliki mekanisme kerja genomik dan nongenomik. Mekanisme genomik dimediasi melalui reseptor glukokortikosteroid, yang menghasilkan sebagian besar efek antiinflamasi dan imunosupresif (Hodgens & Sharman, 2023).

Reseptor glukokortikoid terletak secara intraseluler di dalam sitoplasma dan setelah terikat cepat berpindah ke dalam nukleus, dimana ia mempengaruhi transkripsi gen dan menyebabkan penghambatan ekspresi dan translasi gen untuk leukosit inflamasi dan sel struktural seperti epitelium. Tindakan ini menyebabkan pengurangan sitokin proinflamasi, kemokin, molekul adhesi sel, dan enzim lain yang terlibat dalam respons inflamasi. Mekanisme non-genomik terjadi lebih cepat dan dimediasi melalui interaksi antara reseptor glukokortikoid intraseluler atau glukokortikoid yang terikat pada membran. Dalam hitungan detik hingga menit setelah aktivasi reseptor, serangkaian efek akan terjadi termasuk penghambatan fosfolipase A2 yang penting untuk produksi sitokin inflamasi, menghambat pelepasan asam arakidonat, dan regulasi apoptosis pada timosit. Kortikosteroid dalam konsentrasi tinggi juga akan menghambat produksi sel B dan sel T (Dewi et al., 2023).

2.5 Leukosit

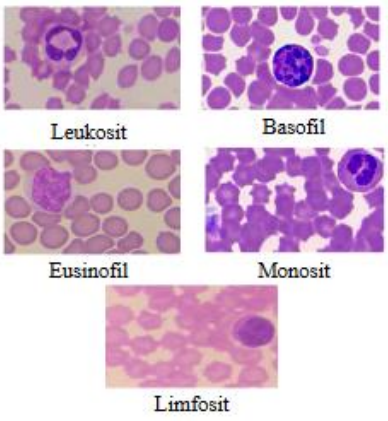
Sel darah putih atau leukosit (Yunani ; *leucko* = putih dan *cyte* = sel), adalah bagian sistem kekebalan tubuh yang berpartisipasi dalam respon imun bawaan dan humoral. Leukosit bersirkulasi dalam darah dan meningkatkan respons inflamasi dan seluler terhadap cedera atau patogen (Tigner et al., 2022). Pada individu yang sehat, jumlah rata-rata leukosit berkisar antara 5.000 - 9.000 sel/m^3. Pada bayi baru lahir, jumlah ini dapat mencapai 15.000 – 25.000 sel/m^3. Menjelang hari ke-4 jumlah leukosit menurun menjadi 12.000 sel/m^3. Saat anak berusia 4 tahun, jumlah leukosit kembali ke kisaran normal. Jika jumlah leukosit lebih dari 12.000 kondisi

ini disebut leukositosis, sementara jika jumlahnya kurang dari 5.000 disebut leukopenia (Soesilawati, 2020a).

Leukosit mempunyai inti sel sebagai pembawa materi genetik karena mengandung kromatin berisi DNA, dan mempunyai sitoplasma yang mengandung granula dan merupakan tenpat untuk sintesis protein dan fungsi seluler lainnya. Di dalama darah manusia, leukosit terbagi menjadi 2 golongan besar berdasarkan inti sel atau nukleusnya, yaitu leukosit *poly-morphonuclear* (PMN) dan *mononuclear* (MN). Sel leukosit jenis PMN memiliki inti sel yang bentuknya bervariasi, sedangkan leukosit jenis MN hanya mempunyai inti sel tunggal. Ada 3 jenis sel PMN, yaitu neutrofil, eusinofil, dan basofil, sedangkan sel MN ada 2 jenis yaitu limfosit dan monosit. Neutrofil terbagi lagi menjadi 2 jenis berdasarkan inti sel nya, yaitu neutrofil batang (*stab*) dan neutrofil segmen (Firani, 2018). Peningkatan jumlah leukosit dapat menunjukan adanya proses inflamasi dalam tubuh, yang merupakan reaksi normal terhadap infeksi atau peradangan dimana leukosit mempertahankan terhadap benda-benda asing (*foreign agents*) (Yustika et al., 2020).

2.5.1 Klasifikasi Leukosit

Terdapat jumlah sel darah putih diantaranya neutrofil, eusinofil, basofil, limfosit, dan monosit. Kelima kategori sel darah putih ini dapat dikategorikan sebagai granulosit dan agranulosit (Tamang et al., 2022).



Gambar 2. 10 Jenis Leukosit

(Sumber Rustam et al., 2022)

2.5.1.1 Granulosit

1) Neutrofil

Neutrofil mencakup 40-60% dari jumlah leukosit total dan banyak ditemukan dalam darah manusia. Neutrofil memiliki inti multi lobus yang terdiri dari 3-5 lobus. Neutrofil merupakan sel yang berperan sebagai perahanan pertama pada infeksi akut. Neutrofil merespon lebih cepat terhadap kerusakan dan inflamasi jaringan dibandingkan dengan leukosit lainnya. Neutrofil segmen adalah neutrofil yang matang atau maur, sedangkan neutrofil stab adalah neutrofil yang imatur dan dapat bermultiplikasi cepat selama infeksi akut. Jumlah neutrofil yang paling banyak ditemukan di darah perifer dan memiliki masa hidup 10 jam di dalam sirkulasi. Sebagian neutrofil dalam darah perifer menempel pada dinding pembuluh darah. Neutrofil masuk ke jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap faktor kemotaksis (Andika & Puspitasari, 2019; Saidani et al., 2024).

2) Eusinofil

Eusinofil adalah jenis granulosit darah yang mengekspresikan granula sitoplasma yang mengandung protein basa dan mengikat zat warna asam seperti “eusin”. Eusinofil berasal dari sumsum tulang dan produksinya dirangsang oleh IL-5, IL-3, dan *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor* (GM-CSF). Eusinofil terdiri dari 1-4% dari toal, leukosit memiliki diameter sekitar 12-17 μm dan memiliki inti yang tersegmentasi. Sel ini memiliki banyak granula sitoplasma yang mengandung enzim proteolitik (Kanuru & Sapra, 2023).

3) Basofil

Basofil mencakup 0,5-1% sel darah putih. Ukurannya sekitar dua kali lipat sel darah merah dengan inti berlobus dua. Sel-sel ini melepaskan protein yang disebut heparin yang mencegah pembekuan darah. Basofil juga melepaskan protein lain yang disebut histamin, yang menyebabkan peradangan. Basofil melepaskan antibodi dan antibiotik yang melindungi tubuh dari efek benda asing apa pun (Rustam et al., 2022).

2.5.1.2 Agranulosit

1) Monosit

Monosit adalah sel darah putih yang berasal dari sumsum tulang. Monosi termasuk bagian dari respons imun bawaan yang berfungsi untuk mengatur homeostatis seluler terutama dalam kondisi infeksi dan peradangan. Monosit mencakup 2-8% dari sel berinti yang bersirkulasi dalam darah orang dewasa normal. Monosit merupakan sel darah putih terbesar, berukuran antara 12-20 μm diameternya kira-kira dua kali ukuran sel darah merah. Monosit termasuk komponen penting dari sistem imun bawaan dan merupakan sumber dari banyak elemen penting lain dari sistem imun, seperti makrofag dan sel dendritik. Monosit berperan dalam proses inflamasi dan antiinflamasi yang terjadi selama respons imun (Espinoza & Emmady, 2023).

2) Limfosit

Limfosit adalah jenis leukosit yang jumlahnya 20-40% dari jumlah leukosit dan merupakan bagian dari sistem kekebalan adaptif. Limfosit merupakan sel imunokompeten yang bersirkulasi, sel yang mengembangkan kemampuan untuk mengenali dan bereaksi terhadap antigen dan transitdari berbagai jaringan limfatik (Tigner et al., 2022).

Tabel 2. 1 Tipe dan Fungsi Limfosit

(Sumber : Soesilawati, 2020)

Tipe	Fungsi
Limfosit B	• Membawa immunoglobulin permukaan. • Mampu berproliferasi secara mitosis apabila dirangsang oleh antigen spesifik • Mampu berdiferensiasi menjadi sel plasma dan mensekresi banyak antibodi • Beberapa sel yang diaktifkan mampu memproduksi sel B memori
Limfosit T	• Membawa reseptor sel T permukaan

Tipe	Fungsi
	• Mengenali antigen yang melekat pada permukaan sel lainnya • Terdiri dari 4 jenis utama, yaitu sel sitotoksik, sel penolong, sel supresor, dan sel memori
Sel NK (*Natural Killer Cell*)	Menghancurkan sel cangkokan, sel asing dan sel yang terinfeksi virus
Helper T cell	Mensekresi faktor-faktor yang merangsang limfosit T dan B sebagai respons imun terhadap antigen tertentu
Supressor T cell	Menekan respons imun terhadap jejas (*antigen self*)

2.6 Agen Antiinflmasi

Antiinflamasi merupakan istilah yang digunakan untuk merujuk pada agen atau obat yang efektif dalam menekan proses peradangan (Suryandari et al., 2021). Agen antiinflamasi memiliki fungsi untuk menghancurkan, mengurangi, atau megisolasi baik agen perusak maupun jaringan yang mengalami kerusakan. Tujuan utama dari penggunaan agen antiinflamasi adalah untuk memperbaiki jaringan yang rusak dan melindungi tubuh dari infeksi. Pengobatan inflamasi bertujuan untuk mengurangi rasa sakit, yang merupakan gejala awal yang terlihat serta memperlambat atau membatasi kerusakan jaringan (Mamarimbing et al., 2022).

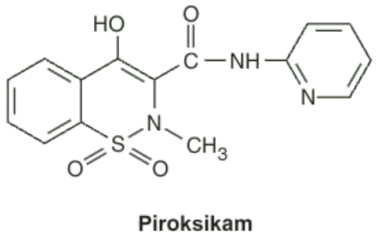
Obat-obatan antiinflamasi bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase, dimana siklooksigenase bertanggung jawab atas biosintesis prostaglandin. Berdasarkan mekanisme kerjanya obat-obatan antiinflamasi dibagi menjadi dua golongan utama yaitu golongan steroid, yang menghambat pelepasan prostaglandin dan sumber-sumber selnya, serta golongan nonsteroid (NSAID), yang bekerja dengan siklooksigenase yang terlibat dalam biosintesis prostaglandin (Mamarimbing et al., 2022).

Istilah agen antiinflamasi mengacu pada obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID). Beberapa jenis NSAID yang tersedia di pasaran diantaranya golongan salisilat (aspirin), golongan asam para-klorobenzoat (indometasin dan sulindak),

golongan pirazolon (fenilbutazon), golongan asam propionat (flurbiprofen, ibuprofen, dan ketoprofen), golongan fenamat (asam mefenamat), golongan oksikam (piroksikam), golongan fenilasetat (natrium diklofenak) (Susidarti et al., 2018).

2.6.1 Piroxicam

Piroksikam, suatu oksikam, adalah inhibitor COX nonselektif yang pada konsentrasi tinggi juga menghambat migrasi leukosit polimorfonuklear, mengurangi produksi radikal oksigen, dan menghambat fungsi limfosit, waktu paruhnya yang panjang memungkinkan pemberian sekali sehari. Piroksikam dapat digunakan untuk indikasi rematik biasa, jika diberikan dalam dosis tinggi lebih dari 20 mg/hari, dapat terjadi peningkatan insiden tukak peptik dan perdarahan (risiko relatif dapat mencapai 9,5) (Katzung, 2019).



Gambar 2. 11 Struktur Piroksikam

(Sumber : Katzung, 2019)

Piroksikam merupakan salah satu obat OAINS dengan struktur baru yaitu oksikam derivat asam enolat. Turunan oksikam, asam enolat yang menghambat COX-1 dan COX-2 serta memiliki aktivitas antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik. Piroksikam merupakan salah satu NSAID yang sudah dikenal luas dalam dunia medis sebagai agen antiinflamasi dan memiliki waktu paruh yang relatif panjang, sehingga efek antiinflamasinya bertahan lebih lama. Piroksikam bekerja dengan menghambat enzim cyclooxygenase sehingga dapat menghambat sintesis prostaglandin (Brunton et al., 2012; Fandinata et al., 2020; Gunawan, 2012).

2.7 Karagenan

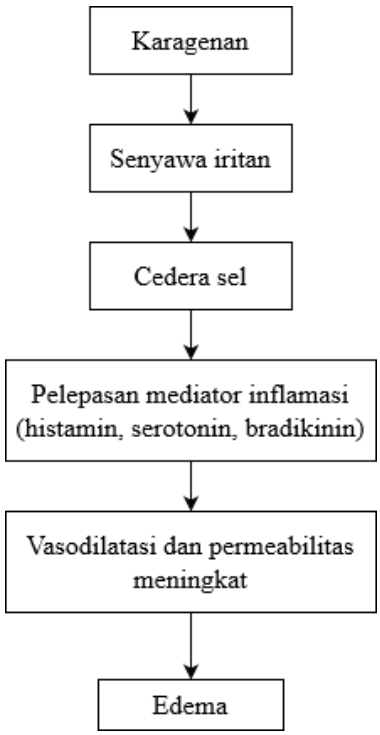
Karagenan berasal dari spesies rumput laut (*Chondrus crispus*) yang dikenal dengan *Carrageen Moss* atau *Irish Moss* di Inggris, dan *Carraigin* di Irlandia (Prihastuti & Abdassah, 2019). Karagenan merupakan polisakarida yang diekstraksi dari beberapa spesies alga merah (*rhodophyceae*) atau rumput laut (Sipahutar et al., 2020). Karagenan termasuk bahan matriks pada alga merah atau alga dari kelas *Rhodophyta* (Priyo & Rival, 2023). Karagenan berasal dari keluarga seperti *Gigartinaceae*, *Hypneaceae*, *Solieriaceae*, *Phyllophoraceae*, dan *Furcellariaceae* (Pradhan & Ki, 2023).

Karagenan adalah polisakarida linier dengan strukturnya berulang yang terdiri dari unit galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa yang bergantian (Jin et al., 2023). Jenis karagenan utama di bedakan berdasarkan strukturnya yaitu *kappa* (κ), *iota* (ι), dan *lambda* (λ) (Pacheco-Quito et al., 2020). Karagenan dalam alga bertindak sebagai struktur hidrofilik dan agar-agar fleksibel yang memungkinkan alga beradaptasi terhadap tekanan aliran dan gerakan gelombang yang berbeda di dalam air. Karena sifat biodegradabilitasnya, karagenan sering digunakan sebagai pengatur viskositas, penstabil, pengental dan banyak keperluan lainnya (Prihastuti & Abdassah, 2019).

2.7.1 Mekanisme Karagenan

Karagenin berperan sebagai senyawa yang memicu peradangan dengan bekerja secara sinergis bersama beberapa mediator inflamasi seperti bradikinin, serotonin, histamin, prostaglandin, leukostrin, dan kemotaktik (Setianto et al., 2020). Karagenan sebagai senyawa iritan menginduksi terjadinya cedera sel melalui pelepasan mediator seperti histamin, serotonin dan bradikinin yang mengawali proses inflamasi. Pada saat terjadi pelepasan mediator inflamasi terjadi udema maksimal dan bertahan beberapa jam (Agus Setiani et al., 2020).

Karagenan termasuk zat asing (antigen) yang ketika masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator seperti histamin yang kemudian menyebabkan peradangan, hal ini terjadi karena antibodi dalam tubuh bereaksi terhadap antigen tersebut untuk melawan pengaruhnya (Sari & Sulistiany, 2021).



Gambar 2. 12 Mekanisme Karagenan

2.8 Hewan Uji

Menurut UU No. 18 Tahun 2009, Pasal 74 ayat 1 dan 2 menyatakan bahwa dalam rangka meningkatkan pemanfaatan hewan sebagai hewan laboratorium (hewan uji) dan hewan model penelitian dan/atau pemanfaatan organ hewan untuk kesejahteraan manusia, diterapkan ilmu kedokteran perbandingan yang dilakukan dibawah penyeliaan dokter hewan yang kompeten; berdasarkan etika hewan dan etika kedokteran hewan; dan mempertimbangkan kesejahteraan hewan (Indonesia, 2009).

Ratus, atau tikus, adalah binatang percobaan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah. Sebagian besar sifat hewan ini diketahui, mereka mudah dipelihara, dan mereka cukup sesuai untuk berbagai jenis penelitian (Putri, 2022). Tikus laboratorium lebih cepat berkembang biak, lebih cepat dewasa, dan tidak mengalami perkawinan musiman. Mereka dapat hidup hingga 3,5 tahun dengan kecepatan tumbuh 5 g per hari. Tikus dewasa bisa memiliki berat mencapai 450 gram

(Widiyani & Listyawati, 2022). Tikus lebih besar dan lebih pintar dari mencit. Tikus sering kali merupakan tikus putih, yang lebih tenang dan mudah melakukan berbagai prosedur, tidak terlalu takut pada cahaya, dan kecil kemungkinannya untuk berkumpul dengan anggota yang berjenis kelamin sama. Pengerjaannya tidak terlalu terganggu dengan kehadiran orang disekitarnya. Jika tikus ditangani dengan kasar atau diberi makanan, ia menjadi agresif dan sering menyerang pemiliknya. Perilaku tikus biasanya menggali, mengunyah, menjelajahi bekas bau, memanjat, membuat sarang dan mencari makan (Rejeki et al., 2018).

Tikus Sprague Dawley merupakan tikus galur yang pertama kali dikembangkan pada tahun 1925 oleh Robert Worthington Dawley, seorang ahli kimia fisik dari Universitas Wisconsin (Rosidah et al., 2020). Tikus jenis ini memiliki berat rata-rata 250-520 gram, dengan ekor yang lebih panjang dari tubuhnya serta memiliki kepala panjang dan ramping (Prastyo Wati, 2024).



Gambar 2. 13 Tikus

(Sumber : Rosidah et al., 2020)

Klasifikasi sistem orde tikus menurut Rejeki *et al* (2018) :

Kingdom : *animalia*
Filum : *chordate*
Kelas : *mamalia*
Ordo : *rodentia*
Famili : *murinane*
Genus : *rattus*
Spesies : *rattus norvegicus*

2.8.1 Cara Perawatan Tikus

Secara umum, perawatan dan pemeliharaan tikus meliputi (Lesmana et al., 2019):

1) Pakan dan Minuman

Tikus memerlukan pakan yang sedikit mengandung serat (5%), protein (20%) dan lemak (5-10%). Makanan ini bisa berbentuk pelet atau tepung. Tikus biasanya membutuhkan 10-30 g pakan per hari (5 g per 100 g berat badan per hari) dan 20-50 ml air minum per hari (10 ml per 100 g berat badan per hari). Botol air minum harus diperiksa setidaknya dua hari sekali. Biasanya 300 ml air tidak habis dalam 3-4 hari. Selama pemeriksaan, air harus ditambah atau diganti dan botol minum harus dicuci.

2) Suhu ruangan dan Kelembapan

Ruangan tempat kandang tikus ditempatkan harus dijaga dan dipantau setiap hari dengan kelembapan normal (sekitar 30-70% RH) dan suhu lingkungan normal (sekitar 18-26°C).

3) Pencahayaan ruangan dan kebisingan

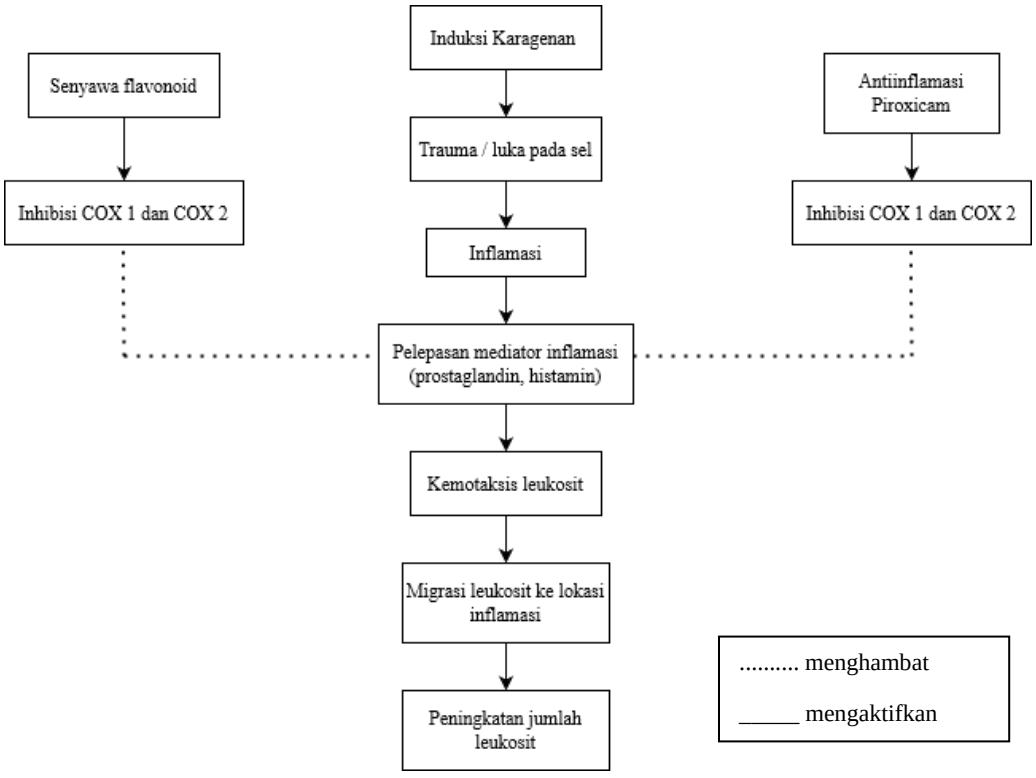
Tikus bersifat nokturnal atau aktif pada malam hari. Perubahan antara siang dan malam sangat sensitif bagi tikus. Oleh karena itu, pencahayaan ruangan harus diperhatikan saat merawat tikus laboratorium. Pencahayaan ruangan sebaiknya sealami mungkin agar tikus merasa nyaman berada di dalam ruangan. Pencahayaan ruangan yang buruk mengganggu pola aktivitas dan dapat mengubah perilaku normal tikus. Umumnya pencahayaan ruangan diatur sedemikian rupa sehingga lampu menyala selama 12 jam dan mati selama 12 jam. Tikus sangat sensitif terhadap kebisingan karena mereka mendengar suara dalam rentang frekuensi yang luas (0,5-64 kHz), yang berbeda dengan pendengaran manusia. Tikus sebaiknya dipelihara dalam kondisi tenang dan ruang perkembangbiakannya.

4) Sanitasi kandang

Pengaturan kandang tikus sangat penting untuk menjaga kesehatan dan kesejahteraan hewan. Kandang harus dirancang dengan mempertimbangkan kebutuhan alami tikus, seperti menyediakan tempat persembunyian, air bersih, dan pakan yang seimbang. Ukuran kandang harus cukup luas untuk memberi ruang gerak yang cukup dan terbuat dari bahan yang aman serta mudah dibersihkan. Suhu dan

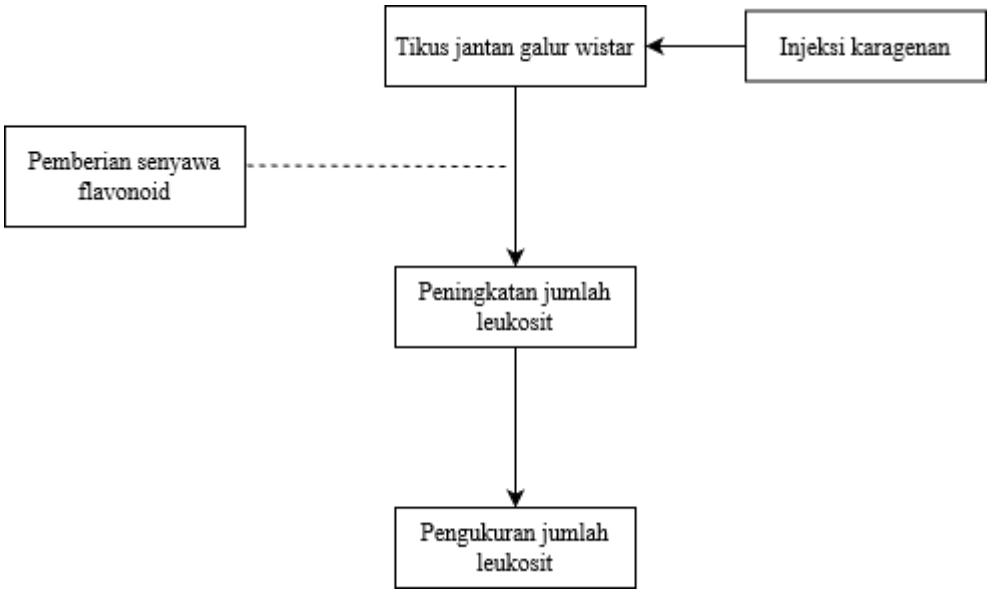
kelembapan di dalam kandang juga harus dijaga sesuai dengan kebutuhan tikus. Pemisahan tikus berdasarkan jenis kelamin diperlukan untuk mencegah pembiakan yang tidak diinginkan. Rutin membersihkan kandang, menyediakan mainan, dan memberikan stimulasi mental dapat membantu meningkatkan kesejahteraan tikus. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus ditempatkan dalam kandang yang sesuai, dan karena tikus merupakan hewan sosial, disarankan untuk memelihara tikus dalam kelompok perlakuan yang sama untuk menghindari stres. Pastikan kandang memiliki ukuran yang sesuai dengan jumlah dan ukuran tikus yang dipelihara, serta sediakan alas yang nyaman seperti sekam dan area persembunyian yang memenuhi kebutuhan tikus untuk menggali (Wati et al., 2024).

2.9 Kerangka Pemikiran



Gambar 2. 14 Kerangka Pemikiran

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2. 15 Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dilakukan, maka dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

H_0 : Tidak ada efek antiinflamasi pada senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi karagenan

H_1 : Ada efek antiinflamasi pada senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi karagenan

BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek penelitian ini yaitu mengamati efek antiinflamasi dari senyawa flavonoid terhadap jumlah leukosit pada tikus putih jantan (*Rattus novegicus* L.) galur Sprague Dawley yang sehat usia ± 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram yang diinduksi dengan karagenan.

3.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang akan digunakan yaitu tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang akan diinduksi dengan karagenan.

Kriteria inklusi :

1. Tikus jantan
2. Tikus dengan usia ± 3-4 bulan
3. Tikus dengan berat badan 150-200 gram
4. Tikus dalam kondisi sehat tidak terdapat luka dan aktif bergerak

Kriteria ekslusi

1. Perubahan berat badan selama adaptasi ≤ 10%
2. Tikus yang tidak mengalami gejala inflamasi seperti rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), kolor (panas), dolor (nyeri), dan *funcion laesa* (hilangnya fungsi).

3.3 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu berupa eksperimental dengan tahapan penelitian yaitu senyawa aktif flavonoid, pengelompokan hewan uji, pembuatan Na CMC 1%, pembuatan senyawa flavonoid, perlakuan terhadap hewan uji, pengambilan data, penyiapan data, dan pengolahan data.

3.4 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus, tempat minum dan makan tikus, sonde oral, spuit, timbangan analitik, timbangan hewan, beaker glas, erlenmeyer, tabung reaksi, spatel, batang pengaduk, vortex, kertas perkamen, mikropipet, pipet tetes, jangka sorong, pletismometer, *vacutainer* EDTA dan hematology analyzer.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tikus jantan galur Wistar, senyawa aktif flavonoid, piroxicam, karagenan, NaCl, *Natrium Carboxymethyl Cellulose Sodium* (Na-CMC).

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini, yaitu perbedaan dosis dari senyawa flavonoid yang diberikan pada hewan uji tikus jantan galur Wistar.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini, yaitu jumlah leukosit pada hewan uji tikus jantan galur Wistar.

3.6 Hewan Uji

Hewan percobaaan yang digunakan pada penelitian uji efek antiinflamasi adalah tikus putih jantan (*Rattus novegiacus*) galur Sprague Dawley. Tikus berumur 2-3 bulan dengan berat sekitar 150-200 g. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 25 ekor dan sebelum diberi perlakuan di adaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu di Laboratorium.

3.6.1 Penentuan Jumlah Sampel

Penentuan jumlah sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 24 ekor. Dimana 24 ekor tikus putih jantan dibagi dalam 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor, yang dihitung berdasarkan rumus

minimum-maksimum (Arifin & Zahiruddin, 2017; Hafita Dinda M et al., 2024)sebagai berikut :

Untuk analisis ANOVA satu arah, derajat kebebasan untuk kesalah antar subjek dihitung dengan rumus:

$$DF = N - k = kn - k = k\ (n\ - 1)$$

$$n = \frac{DF}{k} + 1$$

Ket :

N = Jumlah total subjek

k = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek per kelompok

kisaran DF yang diterima, DF dalam rumus diganti dengan DF minimum (10) dan maksimum (20) untuk mendapatkan jumlah hewan uji minimum dan maksimum perkelompok :

$$\text{minimim}\ \ n = \frac{10}{k} + 1 = \frac{10}{6} + 1 = 2{,}6 \sim 3 \text{ ekor per kelompok}$$

$$\text{maksimum } n = \frac{20}{k} + 1 = \frac{20}{6} + 1 = 4{,}3 \sim 4 \text{ ekor per kelompok}$$

maka, jumlah hewan maksimum-minimum yang dibutuhkan :

$$\text{Minimum } N = \text{Minimum } n \times k = 3 \times 6 = 18 \text{ ekor}$$

$$\text{Maksimum } N = \text{Maksimum } n \times k = 4 \times 6 = 24 \text{ ekor}$$

Hewan uji yang diperlukan yaitu 3-4 ekor per kelompok dengan jumlah keseluruhan hewan uji 18- 24 ekor.

Rumus minimum-maksimum memiliki kelebihan dalam menghemat sumber daya serta menjaga etika penggunaan hewan dalam penelitian. Rumus ini juga fleksibel untuk studi eksploratif, terutama ketika data deviasi standar dan ukuran efek belum tersedia. Selain itu, rumus ini dapat diterapkan pada berbagai desain ANOVA dan membantu dalam pengambilan keputusan etis mengenai jumlah hewan yang digunakan. Namun, rumus ini memiliki kekurangan, seperti kurang ideal jika informasi statistik sudah tersedia dan terbatas pada rentang derajat kebebasan tertentu, yaitu antara 10 hingga 20. Pendekatan ini juga terlalu menyederhanakan

eksperimen yang lebih kompleks dan rentan terhadap kesalahan penafsiran jika tidak diterapkan dengan benar.

3.6.2 Dosis Perlakuan

1) Dosis Piroxicam

Dosis piroxicam yang akan diberikan untuk manusia 20 mg

Konversi dosis manusia pada tikus 200 mg = 0,018

Koversi dosis untuk tikus = 20 mg x 0,018 = 0,36 mg

Dosis untuk tikus = $\frac{0{,}36 \text{ mg}}{200 \text{ kg/BB}} = \frac{0{,}36 \text{ mg}}{0{,}2 \text{ kg/BB}} = 1{,}8 \text{ mg/kgBB}$

VAO = 1% dari BB

= $\frac{1}{100}$ × 200 mg/kgBB

= 2 mL.

2) Dosis Senyawa Flavonoid

Dosis senyawa flavonoid yang digunakan pada penelitian ini dengan tiga varian dosis hewan uji tikus adalah 50 mg/kgB, 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB (Zhang et al., 2020).

3) Dosis Karagenan 1%

Dosis karagenan yang diberikan pada penelitian ini yaitu 0,1 mL/kgBB dari larutan karagenan 1% (Saputri & Zahara, 2016).

4) Dosis Na-CMC 1%

Dosis Na-CMC 1% dengan volume pemberian seperti berikut :

Na-CMC 1% = $\frac{0{,}1\ gram}{100\ ml}$ × 100 ml = 0,1 gram ~ 0,1 ml

3.6.3 Pengelompokan Hewan Uji

Tikus putih galur Sprague Dawleysebanyak 24 ekor ditempatkan di tempat yang berbeda menjadi 6 kelompok perlakuan yang berbeda (K1,K2, K3, K4, K5 dan K6) yang ditunjukan pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Kelompok I	Sebagai kelompok normal tanpa perlakuan
Kelompok II	Sebagai kelompok negatif, induksi dan diberikan Na-CMC 1% sebanyak 0,1 ml/kgBB.
Kelompok III	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 50 mg/kgBB
Kelompok IV	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 100 mg/kgBB
Kelompok V	Diberikan senyawa flavonoid dengan dosis 150 mg/kgBB
Kelompok VI	Sebagai kontrol positif (diberikan suspensi piroxicam) 1,8 mg/kgBB

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Penyiapan Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid sebanyak 500 mg dibuat suspensi yang dilarutkan dengan aquadest, karena senyawa flavonoid termasuk dalam famili polifenol yang larut dalam air (Susila Ningsih et al., 2023).

3.7.2 Penyiapan Larutan Karagenan

Karagenan ditimbang sebanyak 0,1 gram, kemudian dilarutkan dengan NaCI 0,9% sehingga didapat volume 10 mL (Suryandari et al., 2021)**.**

3.7.3 Pembuatan Larutan Na-CMC 1%

Sebanyak 1 gram Na-CMC 1% ditimbang, kemudian dikembangkan dengan 100 mL air hangat (70°C) diaduk sampai homogen (Suryandari et al., 2021).

3.7.4 Pembuatan Suspensi Piroxicam

Dosis piroxicam yang akan diberikan pada hewan uji, dihitung berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis. Piroxicam disuspensikan dengan Na-CMC 1% dan diberikan secara peroral menggunakan sonde. Campur sampai terdispersi merata dan tambahkan sisa air sampai volume yang diinginkan.

3.8 Aklimatisasi Hewan Coba

Tikus diadaptasikan di Laboratorium mulai dari hari pertama sampai hari ke-7 dengan diberikan pakan komersial pelet standar Laboratorium sebanyak 15 gram perkelompok dan pemberian minum setiap hari (Asmilia et al., 2019).

3.9 Induksi Hewan Coba

Hewan coba sebanyak 20 ekor diinduksi inflamasi dengan karagenan 1% dengan dosis 0,1 ml/kgBB secara subplantar, dan sediaan diberikan satu kali pada masing-masing kelompok. Sebelum diberikan induksi dengan karagenan, kaki kiri bagian belakang akan diukur dengan jangka sorong dan setelah diberikan induksi karagenan kaki tikus akan diukur menggunakan alat plestismometer air raksa dengan cara mecelupkan telapak kaki kiri belakang tikus ke dalam alat tersebut sampai tanda yang telah dibuat dan hasilnya dicatat (Karina Wulan Sari et al., 2023).

3.10 Pengujian Antiinflamasi

Sebanyak 24 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawleydisiapkan, dan dibagi menjadi 6 kelompok. Pada kelompok 1 (kelompok normal) tidak diberikan perlakuan. Kelompok 2 (kelompok negatif) diberikan Na-CMC 1% sebanyak 0,1 ml/kgBB, sedangkan kelompok 3, 4, dan 5 diberikan senyawa flavonoid masing-masing dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB. Kelompok 6 (kelompok positif) diberikan suspensi piroksikam dengan dosis 1,8 mg/kgBB.

Pada hari pengujian, masing-masing tikus ditimbang dan diberi tanda pada kaki kirinya. Kemudian diukur volume dan diameter kaki kiri tikus dengan menggunakan Pletismometer dengan memasukkan kaki tikus ke dalam tabung besar hingga tanda tera lalu diamati kenaikan volume cairan pada tabung kecil kemudian dicatat angka yang ditunjukkan pada skala (volume awal kaki tikus). Kemudian pada kelompok 2, 3, 4, 5, dan 6 tikus diinduksi dengan karagenan 1% sebanyak 0,1 ml/kgBB secara subplantar, dan diukur kembali volume edema setelah diinduksi pada jam ke-1.

Ketika tikus mengalami edema (setelah 1 jam) diukur volume kaki tikus setelah induksi. Kemudian diberikan perlakuan pada masing-masing kelompok

berupa pemberian senyawa flavonoid 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB sebagai kelompok uji, pemberian Na-CMC 1% sebagai kontrol negatif dan pemberian obat piroksikam 1,8 mg sebagai kontrol positif, dimana perlakuan diberikan secara per oral. Setelah itu dibiarkan selama 1 jam kemudian diukur volume kaki tikus setelah pemberian perlakuan (volume akhir setelah perlakuan) diukur menggunakan alat pletismometer air raksa (Fratiwi et al., 2022).

Data diameter telapak kaki tikus yang diperoleh kemudian diolah dengan menghitung persentase penghambatan udem. Persentase inflamasi dan penghambatan inflamasi dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\text{Persentase Inflamasi} = \frac{Dt - Do}{Do} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Inhibisi Inflamasi} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Dt : Diameter kaki tikus setelah waktu t

Do : Diameter awal kaki tikus

a : Persen inflamasi kelompok kontrol negatif

b : Persen perlakuan bahan uji atau obat pembanding

3.10.1 Pengambilan Sampel Darah dan Pengujian Jumlah Leukosit

Pengambilan darah diambil dari jantung (intrakardial) sebanyak ± 2 mL, dimana teknik tersebut dilakukan pada hewan yang terbius sebagai metode terminal dan umumnya dilakukan jika darah yang dibutuhkan cukup banyak. Metode ini dilakukan dengan menganestesi tikus dengan ketamin hingga tidak sadarkan diri. Dosis ketamin yang diberikan pada tikus sebanyak 50-75 mg/kgBB dapat diberikan secara intraperitoneal atau intramuskular (BPOM RI, 2020). Kemudian darah ditampung dalam tabung *vacutainer* EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*) (Kodariah et al., 2023).

Pemeriksaan darah dilakukan dengan menggunakan Hematology Analyzer. Hematology analyzer biasanya digunakan untuk pemeriksaan darah

secara lengkap yang mencakup menghitung sel leukosit dan jumlah sel trombosit dan hemoglobin. Penggunaan alat ini lebih menguntungkan karena dapat menghitung sel darah dalam jumlah yang cukup besar, menghemat waktu dan tenaga serta hasil dapat diterima dengan cepat (Brahmananda et al., 2023). Prinsip kerja hematology analyzer yaitu sampel darah yang telah dicampur dengan reagen dilusi sebanyak 200x selama proses proses hemolyzing untuk mengukur jumlah leukosit (Dabukke et al., 2023). Sampel darah yang dibutuhkan sebanyak 1-2 mL dan untuk sampel yang digunakan yaitu sampel darah yang sudah ditambahkan dengan antikoagulan, karena apabila sampel darah yang menggumpal terhisap alat maka akan merusak alat tersebut (Samosir, 2021).

3.10.2 Penggunaan Alat Hematology Analyzer

Berikut ini cara penggunaan hematology analyzer untuk mengecek sampel pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Sambungkan kabel power perangkat ke stabilisator (stavo).
2. Nyalakan perangkat dengan menekan saklar on/off yang terletak di sisi kanan atas perangkat.
3. Tunggu beberapa saat, perangkat akan menampilkan pesan seperti "please wait" di layar display.
4. Perangkat akan melakukan pemeriksaan otomatis untuk memastikan latar belakang atau kondisi awal.
5. Setelah pemeriksaan selesai, pastikan perangkat berada dalam kondisi siap untuk digunakan.
6. Pastikan sampel darah yang akan digunakan sudah homogen dan dicampur dengan antikoagulan.
7. Tekan tombol Whole Blood (WB) pada layar monitor.
8. Pilih tombol ID masukkan nomor sampel yang akan digunakan, lalu tekan enter.
9. Tekan bagian atas tempat sampel dan masukkan sampel ke dalam adaptor.
10. Tutup tempat sampel dengan rapat, kemudian tekan tombol "RUN".
11. Hasil akan muncul secara otomatis di layar.
12. Catat hasil pemeriksaan.

3.11 Penanganan Hewan Coba setelah Penelitian

Pemusnahan hewan coba dilakukan dengan cara penguburan. Pada metode ini seluruh hewan coba dikubur dalam tanah dengan kedalaman yang cukup aman untuk mencegah penggalian oleh hewan liar di sekitar area tersebut. Pada metode ini dapat dilakukan dilokasi sekitar penelitian sehingga tidak memerlukan transportasi tambahan dan penyebaran penyakit lebih terkendali. Namun, metode ini memerlukan pengawasan lingkungan karena berpotensi mengkontaminasi air tanah (BPOM RI, 2020).

3.12 Metode Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan antiinflamasi yaitu berupa tabel dan grafik peningkatan jumlah leukosit pada hewan uji tiap kelompok perlakuan yang telah dilakukan. Data-data tersebut akan dianalisis secara statistic menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Scien*e (SPSS) yang berfungsi untuk menganalisis data, dilakukan uji homogentitas dan normalitas terlebih dahulu untuk menentukan apakah data termasuk parametrik atan non parametrik. Jika data homogen dan terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *statistic Analysis of Variance One way* (ANOVA). Sebaliknya, jika data tidak homogen atau tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan analisis non parametrik, yaitu Kruskall Wallis.

3.13 Tempat dan Waktu Penelitian

3.13.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September 2024 sampai bulan juni 2025.

3.13.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Universitas Gunadarma.

DAFTAR PUSTAKA

Agus Setiani, L., Moerfiah, M., & Yulianita Yulianita, dan. (2020). Uji Aktivitas Antiinflamasi Infusa Daun Afrika (Vernonia amygdalina) pada Tikus Putih yang Diinduksi Karagenan. In *Jurnal Farmasi Indonesia* (Vol. 17, Issue 1). http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon

Akrom. (2021). *Imunofarmakologi Radang*. Azkiya.

Andika, O., & Puspitasari, A. ; (2019). *Buku Ajar Mata Kuliah Hematologi*. UMSIDA PRESS.

Andrievskaya, I. A., Ustinov, E. M., Lyazgian, K. S., Ishutina, N. A., & Dovzhikova, I. V. (2024). Disruption of the Functional Activity of Neutrophil Granulocytes as a Risk Factor for the Development of Lung Damage in Pregnant Women with COVID-19 . *Curr Issues Mol Biol*. https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cimb46020071

Andriyono, R. I. (2019a). Kaempferia galanga L. sebagai Anti-Inflamasi dan Analgetik. In *Jurnal Kesehatan* (Vol. 10, Issue 3). Online. http://ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JK

Andriyono, R. I. (2019b). Kaempferia galanga L. sebagai Anti-Inflamasi dan Analgetik. In *Jurnal Kesehatan* (Vol. 10, Issue 3). Online. http://ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JK

Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malaysian Journal of Medical Sciences, 24*(5), 101–105. https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11

Asmilia, N., Sutriana, A., & L, A. M. (2019). Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Malaka (Phyllanthus emblica) Terhadap Differensial Leukosit Pada Mencit Jantan. *Jurnal Bioleuser, 3*(3), 55–58. http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/bioleuser

Barichello, T., Generoso, J. S., Singer, M., & Dal-Pizzol, F. (2022). Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis-a narrative review . *Crit Care 26*. https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13054-021-03862-5

BPOM RI. (2020). *Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Tentang Pedoman Farmakodinamik*.

Brahmananda, W. G. A., Sudisma, I. G. N., Kendran, A. A. S., & Sudira, I. W. (2023). Profil Hematologi Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Diberi Salep Simplisia Daun Kembang Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis L.)

Setelah Dipapar Sinar Ultraviolet. *Jurnal Sain Veteriner*, *41*(2), 226. https://doi.org/10.22146/jsv.82701

Brunton, L. B., Parker, K., Blumenthal, D., & Buxton, I. (2012). *Goodman & Gilman's manual of Pharmacology and Therapeutics*. Mc Graw Hill Medical.

Chiorcea-Paquim, A. M. (2023). Electrochemistry of Flavonoids: A Comprehensive Review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 21). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/ijms242115667

Dabukke, H., Sijabat, S., & Adiansyah. (2023). Sosialisasi Pemeliharaan Preventif Peralatan Hematology Analyzer. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Nauli*.

De Souza Farias, S. A., Da Costa, K. S., & Martins, J. B. L. (2021). Analysis of Conformational, Structural, Magnetic, and Electronic Properties Related to Antioxidant Activity: Revisiting Flavan, Anthocyanidin, Flavanone, Flavonol, Isoflavone, Flavone, and Flavan-3-ol. *ACS Omega*, *6*(13), 8908–8918. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06156

Dewi, N. A., Andayani, T. M., & Trisnawati, I. (2023). Narrative Review: Terapi Kortikosteroid Pada Pasien COVID-19 dengan Komorbiditas Diabetes Melitus. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, *4*(2), 231–244. https://doi.org/10.47065/jharma.v4i2.3713

Dharmawati, I. G. A. A. (2021). *PatofisiologI*.

Ekalu, A., & Habila, J. D. (2020). Flavonoids: isolation, characterization, and health benefits. In *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* (Vol. 9, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1186/s43088-020-00065-9

Emelda, E., Nugraeni, R., & Damayanti, K. (2023). Review: Exploration Of Indonesia Herbal Plants For Anti Inflammatory. *INPHARNMED Journal (Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal)*, *6*(2), 58. https://doi.org/10.21927/inpharnmed.v6i2.1938

Espinoza, V., & Emmady, P. (2023). Histology, Monocytes. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/

Fandinata, S. S., urnamayanti, A., & Utami, P. R. (2020). Efektivitas dan Keamanan Terapi Natrium Diklofenak dan Piroksikam Pada Pasien Osteoathritis di Puskesmas Kota Surabaya. *Jurnal Ilmiah Manunatang*.

Firani, N. K. (2018). *Mengenali Sel-sel Darah dan Kelainan Darah*. 35–36.

Fitri, W. E., & Putra, A. (2021). Peranan Senyawa Flavonoid Dalam Meningkatkan Sistem Imun di Masa Pandemi COVID-19. *Seminar Nasional SYEDZA SAINTIKA Prosiding Seminar Nasional STIKES Syedza Saintika*.

Fratiwi, N., Saranani, S., Agastia, G., & Isrul, M. (2022). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (Chromolaena odorata L.) dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Interleukin 6 (IL-6) Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, *1*(2), 54–67. https://doi.org/10.54883/jpmw.v1i2.13

Garakia, C. S. H., Sangi, M., Koleangan, H. S. J., Kimia, P., Mipa, F., & Ratulangi, S. (2020). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Tanaman Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.). *FMIPA UNSRAT*.

Gunawan, S. G. (2012). *Farmakologi dan Terapi* (Edisi 5). Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Hafita Dinda Maryana, Nainggolan, H., & Nadia Rusyda Hanifa. (2024). Effect of Suruhan Leaves (Peperomia pellucida L. Kunth) Extract on Triglyceride Blood Level in Diabetic Rats. *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, *11*(1), 53–60. https://doi.org/10.20473/jfiki.v11i12024.53-60

Hannoodee Sally, N Dian, & Nasuruddin. (2024). Acute Inflammatory Response. *StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL).*

Harlim, A. (2018). *Buku Ajar Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Imunologi Inflamasi*.

Hasby. (2019). *Pemanfaatan Metabolit Sekunder dalam Berbagai Bidang* (Hasby, Ed.). Lakeisha.

Heliawati, L. (2018). *Kimia Organik Bahan Alam*.

Herrington, S. (2014). *Buku Ajar Patologi Edisi 15*.

Hodgens, A., & Sharman, T. (2023). Corticosteroids. *StatPearls [Internet]*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554612/

Husna, P. A. U., Kairupan, C. F., & Lintong, P. M. (2022). Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *EBiomedik*, *10*(1), 76–83. https://doi.org/10.35790/ebm.v10.i1.38173

Ichsani, A., Febiola Lubis, C., Mahardika Urbaningrum, L., Dwi Rahmawati, N., & Anggraini, S. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid

pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*, *2*(6), 751–757. https://doi.org/10.46799/jhs.v2i6.188

Ifadah, R. A., Rizkia, P., Wiratara, W., & Anam Afgani, C. (2019). Ulasan Ilmiah: Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, *3*(2), 11–21.

Indonesia, P. R. (2009). Undang-undang Republik Indonesia nomor 18 tahun 2009 tentang peternakan dan kesehatan hewan. *Jakarta (ID): Sekretariat Negara*.

IRA, R. (2014). *Penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid*. Rekomendasi Perhimpunan Reumatologi Indonesia Tentang Obat Anti Inflamasi Non Steroid.

Isrul, M., Dewi, C., & Wahdini, V. (2020). Uji Efek Antiinflamasi Infusa Daun Bayam Merah (Amaranthus tricolor L.) Terhadap Tikus Putih (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, *6*(2), 97–103. https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i1.61

Jin, Y., Yu, Q., Li, S., Chen, T., & Liu, D. (2023). Application of seaweed polysaccharide in bone tissue regeneration. In *Frontiers in Marine Science* (Vol. 10). Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1202422

Julianto Shabur, T. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*.

Julyasih, K. S. M. (2023). *Metabolit Sekunder*.

Kanuru, S., & Sapra, A. (2023). Eosinofillia. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560929/

Karak, P. (2019). Biological Activities of Flavonoids: an Overview. *Nternational Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* .

Karin, M., & Shalapour, S. (2022). Regulation of antitumor immunity by inflammation-induced epigenetic alterations. In *Cellular and Molecular Immunology* (Vol. 19, Issue 1, pp. 59–66). Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41423-021-00756-y

Karina Wulan Sari, Rahmawati Raising, & Novi Ayuwardhani. (2023). Uji Efektivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (Apium Graveolens L.) Dan Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Pada Tikus Putih. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, *3*(2), 126–140. https://doi.org/10.55606/jikki.v3i2.1666

Katzung, B. G. (2019). Farmakologi Dasar dan Klinik. In B. G. Katzung (Ed.), *EGC* (14th ed.). EGC.

Kemenkes. (2011). *Pedoman Interprestasi Data Klinik*.

Kodariah, L., Isti, B., Harahap, H. S., & Synthia, R. (2023). Pengaruh Induksi Timbal (Pb) Pada Mencit (Mus musculus) Terhadap Kadar Hemoglobin. *Jurnal Kesehatan Rajawali*, *13*(1), 8–11. https://doi.org/10.54350/jkr.v13i1.154

Lesmana, R., Goneawan, H., & Dewi, F. N. A. (2019). *Pedoman Penggunaan Tikus Sebagai Hewan Uji Laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Luo, Y., Jian, Y., Liu, Y., Jiang, S., Muhammad, D., & Wang, W. (2022). Flavanols from Nature: A Phytochemistry and Biological Activity Review. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 3). MDPI. https://doi.org/10.3390/molecules27030719

Mamarimbing, M. S., Ngurah, G., Dewantara Putra, A., & Setyawan, E. I. (2022). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak etanol Tanaman Patah Pulang (euphorbia tirucalli l.). *Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia*.

Mariana, L., Andayani, Y., & Gunawan, E. R. (2019). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (Artocarpus camansi). In *Chem. Prog* (Vol. 6, Issue 2).

Muslikh, F. A., Pratama, R. R., Ma'arif, B., & Purwitasari, N. (2023). Studi In Silico Senyawa Flavonoid dalam Mengambat RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) sebagai Antivirus COVID-19. *Journal of Islamic Pharmacy*, *8*(1), 49–55. https://doi.org/10.18860/jip.v8i1.21722

Ningsih, I. S., Moralita Chatri, Linda Advinda, & Violita. (2023). Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, *8*.

Nunes, C. dos R., Arantes, M. B., de Faria Pereira, S. M., da Cruz, L. L., de Souza Passos, M., de Moraes, L. P., Vieira, I. J. C., & de Oliveira, D. B. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 16). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules25163726

Nurtiana, W. (2019). Anthocyanin As Natural Colorant: A Review. *Food ScienTech Journal*, *1*(1), 1. https://doi.org/10.33512/fsj.v1i1.6180

Pacheco-Quito, E. M., Ruiz-Caro, R., & Veiga, M. D. (2020). Carrageenan: Drug delivery systems and other biomedical applications. In *Marine Drugs* (Vol. 18, Issue 11). MDPI. https://doi.org/10.3390/md18110583

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2023). Chronic Inflammation. *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL)*.

Pattipeiluhu, S., Laimeheriwa, B. M., Amarens, A., Lekatompessy B A Jurusan, P., Perairan, B., Perikanan, F., & Kelautan, I. (2022). *Infeksi Aeromonas hydrophila dan Dampaknya pada Gejala Klinis dan Parameter Darah Ikan Nila Oreochromis niloticus*. http://jfmr.ub.ac.id

Pérez-Navarro, J., Cazals, G., Enjalbal, C., Izquierdo-Cañas, P. M., Gómez-Alonso, S., & Saucier, C. (2019). Flavanol glycoside content of grape seeds and skins of vitis vinifera varieties grown in Castilla-la Mancha, Spain. *Molecules*, *24*(21). https://doi.org/10.3390/molecules24214001

Pradhan, B., & Ki, J. S. (2023). Biological activity of algal derived carrageenan: A comprehensive review in light of human health and disease. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 238). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124085

Prastyo Wati, D. (2024). *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*.

Price, S. A., & Wilson, L. M. (2003). *Patofisiologi : Konsep Klinis ProsesProses Penyakit* (6th ed.). Buku Kedokteran EGC.

Prihastuti, D., & Abdassah, M. (2019). Karagenan dan Aplikasinya di Bidang Farmasetika. *Farmasetika.Com (Online)*, *4*(5). https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i5.23066

Priyo, L. W., & Rival, F. (2023). Analisis Karakteristik Fisika Padatan Karagenan dari Eucheuma Cottoni Hasil Ekstraksi KOH pH 9 Asal Kabupaten Banggai Sulawesi Tengah. *Pharmacoscript, 6(1), 40-52.*, *6*, 40–52. https://doi.org/https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v6i1.1136

Putri, A. A. (2022). Putri, A. A. (2022). Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Alga Hijau-Biru (Nostoc commune) Terhadap Indeks Aterogenik pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Diabetes. *Doctoral Dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta*.

Rahman, A., Rengganis, G. P., Prayuni, S., Novriyanti, I., Sari, T. N., Pratiwi, P. D., & Pratama, S. (2021). Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sungkai (Peronema Canescens) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mencit. In *Journal of Healthcare Technology and Medicine* (Vol. 7, Issue 2). https://covid19.who.int/

Rahmi, M. N. (2020). *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Biji Kebiul (Caesalpinia bonduc (L.) Roxb) Terhadap Tikus Putih Jantan (Skripsi)*. Sekolah Tinggi Indonesia Perintis Padang.

Rakha, A., Umar, N., Rabail, R., Butt, M. S., Kieliszek, M., Hassoun, A., & Aadil, R. M. (2022). Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 156). Elsevier Masson s.r.l. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113945

Ramesh, P., Jagadeesan, R., Sekaran, S., Dhanasekaran, A., & Vimalraj, S. (2021). Flavonoids: Classification, Function, and Molecular Mechanisms Involved in Bone Remodelling. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.779638

Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. (2018). *Ovariektomi Pada Tikus dan Mencit*.

Restia, E., Tadulako, N., & Miranda, D. (2024). Pengaruh Ekstrak Daun Sungkai (Peronema canescens Jack) Terhadap Kadar Leukosit, LED dan Hematokrit Pada Mencit Jantan (Mus musculus L.) yang Terpapar Staphylococcus aureus. In *Aisyiyah Medika* | (Vol. 9).

Ridwanuloh, D., & Syarif, F. (2019). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Batang Ciplukan (Physalis angulata L.). *Pharma Explore Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi*, *4*.

Riki Ginanjar, M., & Medika, A. (2021). *Efektivitas Salep Ekstrak Daun Kelengkeng Terhadap Inflamasi pada Ratus Novergicus*.

Rosidah, I., Ningsih, S., Renggani, T. N., Efendi, J., & Agustini, K. (2020). Profil Hematologi Tikus (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley Jantan Umur 7 dan 10 Minggu. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, *7*(1). https://doi.org/10.29122/jbbi.v7i1.3568

Rustam, F., Aslam, N., De La Torre Díez, I., Khan, Y. D., Mazón, J. L. V., Rodríguez, C. L., & Ashraf, I. (2022). White Blood Cell Classification Using Texture and RGB Features of Oversampled Microscopic Images. *Healthcare (Switzerland)*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/healthcare10112230

Saidani, O., Umer, M., Alturki, N., Alshardan, A., Kiran, M., Alsubai, S., Kim, T. H., & Ashraf, I. (2024). White blood cells classification using multi-fold pre-processing and optimized CNN model. *Scientific Reports*, *14*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-024-52880-0

Samosir, F. (2021). *Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kadar Trigliserida Metode GPO-PAP Menggunakan Sampel Tanpa Antikoagulan (Serum) dan Menggunakan Sampel dengan Antikoagulan (Plasma EDTA)*. Polteknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Yogyakarta.

Saputri, F. C., & Zahara, R. (2016). Uji Aktivitas Anti-Inflamasi Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum americanum L.) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Karagenan. *Pharm Sci Res*, *3*(3).

Sari, M., & Sulistiany, H. (2021). Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Biji Litsea garciae Vidal Pada OdemaTelapak Kaki dan Gambaran Histologis Kaki Mencit. *Berita Biologi Jurnal Ilmu Hayati*, *20*(1), 1–12. https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v20i1.3991

Setianto, R., Dewi, B. A., Rosita, F., & Muslikhah, S. (2020). Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun pangotan (Mikrosorium burgerianum(Miq.) Ching) terhadap tikus putih (Rattus norvegicus L.) yang diinduksi karagenan. *STIKES Rajekwesi Bojonegoro*.

Shukla, R., Pandey, V., Vadnere, G. P., & Lodhi, S. (2019). Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders. In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases* (pp. 293–322). Elsevier. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813820-5.00018-0

Sihaloho, R. R. (2022). *Pengaruh Ekstrak Belimbing Wuluh Terhadap Kadar PDGF dan Kadar TNF-α Serum*. Universitas Sultan Agung Semarang.

Silva, D. N. P. B., Adriana, F., Martins, D. T. de O., Borges, Q. I., Lindote, M. V. N., Zoratti, M. T. R., Oliveira, R. G. de, Torquato, H. F. V., Gazoni, V. F., Costa, L. A. M. A. da, Souza, E. C. A. de, Silva, F. M. A. da, Arunachalam, K., & Damazo, A. S. (2021). Methanolic extract of Cariniana rubra Gardner ex Miers stem bark negatively regulate the leukocyte migration and TNF-α and up-regulate the annexin-A1 expression. *Journal of Ethnopharmacology*, *270*. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113778

Sipahutar, Y. H., Rahman, M., Panjaitan, T. F., Ahli Usaha Perikanan Jakarta, P., AUP No, J., Minggu, P., Kelautan dan Perikanan Karawang, P., Baru Tanjungpura, J., & Barat Karawang, K. (2020). The Effect of Eucheuma Cottonii Carrageenan on the Characteristics of Tilapia Ekado. *Aurelia Journal*.

Soesilawati, P. (2020a). *Histologi Kedokteran Dasar*. Airlangga University Press.

Soesilawati, P. (2020b). *Histologi Kedokteran Dasar*. Airlangga University Press.

Sugeng, E. M., Gumay, A. R., & Bakri, S. (2019). Efek Pemberian Ekstrak Daun Carica pubescens Terhadap Jumlah Leukosit Pada Tikus Sprague Dawley yang Diinduksi Azoxymethane : Studi di Laboratorium

Penelitian dan Pengujian Terpadu 4 Universitas Gadjah Mada. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, *8*(1), 171–177.

Suryandari, S. S., De Queljoe, E., & Datu, O. S. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (Clerodendrum squamatum Vahl.) Terhadap Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) yang diinduksi Karagenan. *Pharmacon*.

Susidarti, R. A., Sudarmanto, A. B. S., Puspitasari, I., & Wibowo Andy Eko. (2018). *Desain Molekul Senyawa Turunan Kalkon Sebagai Antiinflamasi*. Deepublish Publisher.

Susila Ningsih, I., Chatri, M., & Advinda, L. (2023a). *Flavonoid Active Compounds Found In Plants Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan* (Vol. 8, Issue 2).

Susila Ningsih, I., Chatri, M., & Advinda, L. (2023b). *Flavonoid Active Compounds Found In Plants Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan* (Vol. 8, Issue 2).

Swason, H. (2020). *Flavonoids, Inflamation & Cancer*. Rapha Publishing.

Tamang, T., Baral, S., & Paing, M. P. (2022). Classification of White Blood Cells: A Comprehensive Study Using Transfer Learning Based on Convolutional Neural Networks. *Diagnostics*, *12*(12). https://doi.org/10.3390/diagnostics12122903

Tenri, A., & Rivai, O. (2020). Identifikasi Senyawa yang Terkandung pada Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, *6*(2).

Tigner, A., A, S., & Murray, I. V. (2022). Histology, White Blood Cell. *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL)*.

Wahjuningsih, S. B., Aprilia Fitriani, & Mita Nurul Azkia. (2023). *Buku Referensi : Senyawa Bioaktif dalam Bahan Pangan*.

Wardani, P. K., Gunarti, D. R., & Wulandari, Y. (2023). Peran Flavonoid Terhadap TNF alfa pada Endometriosis. *Jurnal Darma Agung*, *31*(3), 241. https://doi.org/10.46930/ojsuda.v31i3.3454

Wati, D. P., Ilyas, S., & Hanafi Midoen, Y. (2024). *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. USU Press. https://www.researchgate.net/publication/378012784

Wenas, D. M., Aliya, L. S., & Janah, N. U. (2020). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kopi Arabika (Coffea arabica L.) Pada Edema

Tikus. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, *31*(2), 75. https://doi.org/10.21082/bullittro.v31n2.2020.75-84

Widiyani, T., & Listyawati, shanti. (2022). *Handbook Penggunaan Hewan Laboratorium dalam Uji in Vivo*. Nas Media Pustaka.

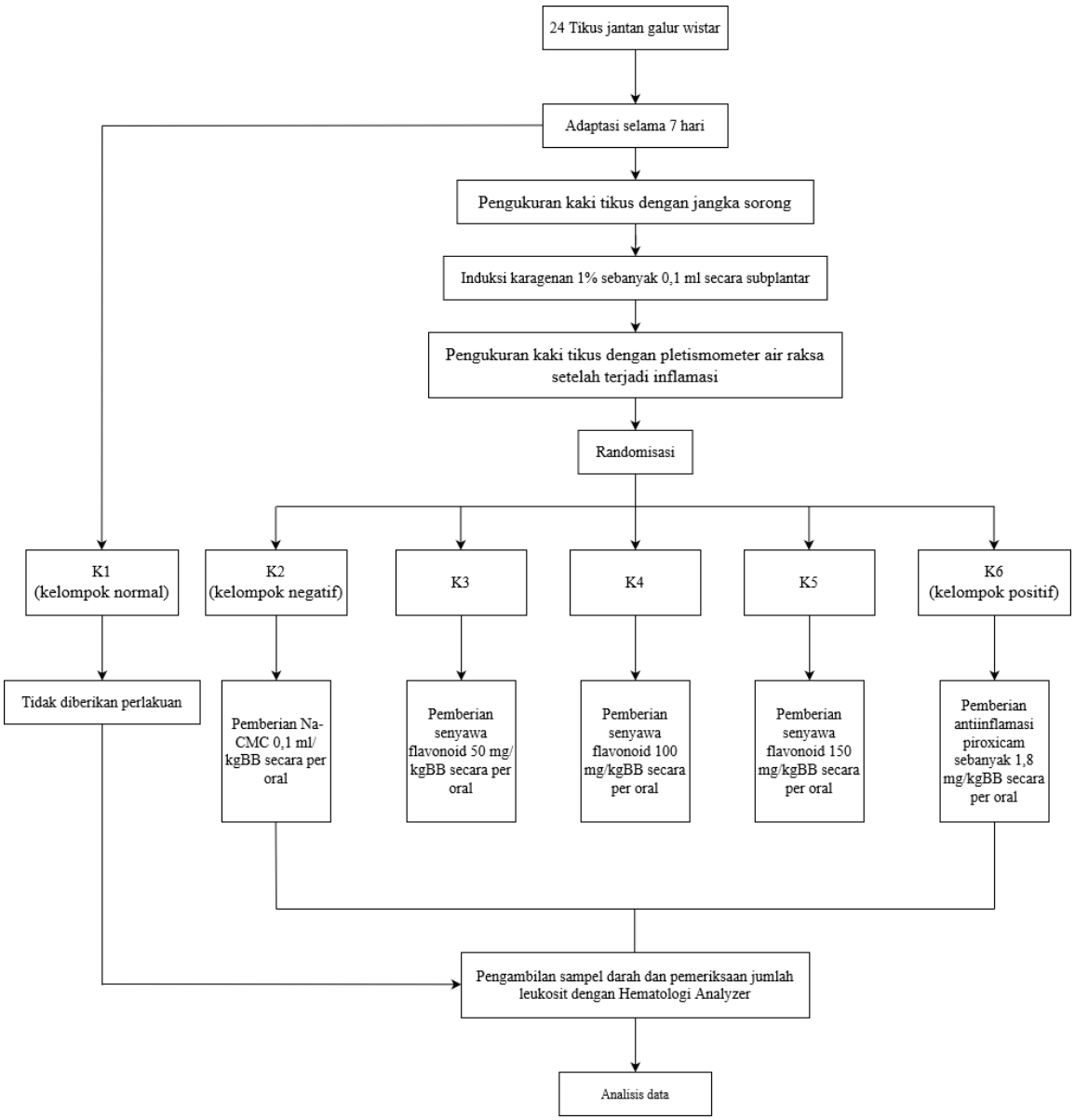
Yustika, G., Jalaluddin, S., & Annisha, F. (2020). Analisis Parameter Leukosit Dalam Diagnosis Awal Sepsis Neonatorum Awitan Dini di RSIA Ananda Makasar. *Jurnal Ilmiah Kesehatan (Journal Of Health Science)* . https://doi.org/https://doi.org/10.33086/jhs.v13i02.1475

Zhang, W., Lian, Y., Li, Q., Sun, L., Chen, R., Lai, X., Lai, Z., Yuan, E., & Sun, S. (2020). Preventative and therapeutic potential of flavonoids in peptic ulcers. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 20). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules25204626

Zhuang, W. B., Li, Y. H., Shu, X. C., Pu, Y. T., Wang, X. J., Wang, T., & Wang, Z. (2023). The Classification, Molecular Structure and Biological Biosynthesis of Flavonoids, and Their Roles in Biotic and Abiotic Stresses. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 8). MDPI. https://doi.org/10.3390/molecules28083599

L A M P I R A N

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Waktu Perencanaan Penelitian

No	Kegiatan	2024	2025					
		Agustus	Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agustus
1	Pengajuan kode etik							
2	Pembelian hewan uji dan pakan							
3	Pembelian bahan							
4	Trial							
5	Induksi							
6	Perlakuan							
7	Pengumpulan data							
8	Analisis data							
9	Penyusunan							

Lampiran 3. Rancangan Anggaran Biaya

No	Nama Barang	Volume	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1.	Kode etik	1	-	300.000	300.000
2.	Senyawa flavonoid	1	gram	2.000.000	2.000.000
3.	Tikus	24	Ekor	40.000	960.000
4.	Serbuk kayu	10	Kg	20.000	20.000
5.	Pakan	5	Kg	12.000	60.000
6.	Spuit	1	pcs	5000	5.000
7.	Sonde tikus	1	pcs	25.000	25.000
8.	Karagenan	100	Mg	1.200.000	1.200.000
9.	Tabung EDTA	50	pcs	50.000	50.000
10.	Na-cmc	100	mg	50.000	50.000
11.	Aquadest	1	liter	10.000	10.000
12.	Ketamin	1	liter	200.000	200.000
Total					3.080.000