

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Metode Penyesuaian Dengan Pendekatan Meta Analisis**

Metode penelitian yang digunakan yaitu dengan metode penelitian non eksperimental menggunakan studi literatur. Studi literatur merupakan sebuah penelitian dengan mengumpulkan data dari pustaka, membaca, mencatat dan mengolah bahan penelitian yang berkaitan dengan masalah dan tujuan penelitian. Data studi literatur diperoleh dari pencarian terhadap berbagai sumber tertulis, seperti buku-buku, majalah, artikel dan jurnal, atau dokumen-dokumen yang relevan dengan permasalahan yang dikaji.

##### **1. Deskripsi Meta Analisis**

Meta analisis adalah suatu teknik yang digunakan untuk merangkum temuan dua penelitian atau lebih dengan tujuan untuk menggabungkan, meninjau dan meringkas penelitian sebelumnya. Selain itu dengan menggunakan meta analisis berbagai pertanyaan dapat diselidiki berdasarkan data yang telah dipublikasikan dan salah satu syarat dalam melakukan meta analisis adalah pengkajian terhadap hasil-hasil penelitian yang sejenis (Nieuwenstein *et al.*, 2015; Paldam, 2015).

Meta analisis memiliki beberapa kelebihan diantaranya subjektifitas dan *judgement* lebih sedikit, hasil lebih representatif karena mengambil banyak sampel, memungkinkan mengkombinasikan berbagai macam hasil penelitian yang telah ada sebelumnya serta dapat menjawab

pertanyaan seputar kesenjangan hasil yang terjadi dari studi yang bermacam-macam. Sedangkan kelemahannya adalah kemungkinan terjadinya sampel yang bias serta data-data yang tidak perlu karena banyaknya sampel, memuat hasil yang signifikan saja, bersifat mengagregatkan dan merata-ratakan sesuatu, ketidaksempurnaan validitas konstruk dependen dan independen serta tidak cocok diterapkan jika sampel datanya kecil (Mansyur & Iskandar, 2017).

## **2. Informasi Jumlah dan Jenis Jurnal**

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah studi pustaka. Pustaka yang digunakan merupakan artikel ilmiah yang diperoleh dari jurnal internasional dan diterbitkan secara *online* dari berbagai *web* jurnal ataupun melalui mesin pencarian berupa *google*. Kemudian dilakukan penentuan jurnal yang digunakan sebagai pustaka primer, yaitu artikel yang menampilkan hasil penapisan fitokimia dari famili Melastomataceae dan efektivitasnya sebagai anti inflamasi pada berbagai model peradangan. Kriteria artikel sebagai pustaka primer adalah artikel ilmiah maupun jurnal penelitian yang menggunakan famili Melastomataceae namun dengan metode pengujian aktivitas anti inflamasi yang berbeda dengan tahun terbit 10 tahun terakhir. Dari hasil pencarian tersebut didapatkan artikel sebanyak 6 dan terindeks dalam scopus. Peneliti melakukan rekapitulasi data tanpa melakukan manipulasi eksperimen, sehingga data yang digunakan valid dan telah diuji kebenarannya.

### 3. Isi Artikel

#### a. Artikel pertama

Judul Artikel : Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of the Leaf Methanol Extract of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. and Characterization of Compounds by UPLC-QTOF-MS/MS

Nama Jurnal : Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology

Penerbit : Springer Nature

Volume & Halaman : ISSN 0028-1298, halaman 55-68

Tahun Terbit : 2018

Penulis Artikel : Aline Stamford S. G. Gatis-Carrazzoni, Fernanda Virginia Barreto Mota, Tonny Cley Campos Leite, Tatiane Bezerra de Oliveira, Sandra Cabral da Silva, Isla Vanessa Alves bastos, Maria Bernadete de Souza Maia, Pedro Silvino Pereira, Pedro Paulo Marcelino Neto, Earl Celestino de Oliveira Chagas, Tania Maria Sarmento Silva, Marcia Silva do Nasdmento, Teresinha Goncalves da Silva.

## ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan pengamatan sifat anti inflamasi dan antinosiseptif dari ekstrak *Miconia minutiflora* serta identifikasi kandungan senyawa utama menggunakan metode UPLC-DAD-QTOF-MS/MS.

Metode Penelitian :

- Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak metanol dari daun *Miconia minutiflora* kemudian dilakukan identifikasi kandungan senyawa utama dalam ekstrak menggunakan metode UPLC-DAD-QTOF-MS/MS (Ultra-High Performance Liquid Chromatography coupled with Quadrupole Time-of-Flight Mass-Spectrometry) serta uji aktivitas anti inflamasi dan antinosiseptif.

Variabel bebas : variasi dosis uji (50, 100, 200 mg/kg BB) dan metode pengujian anti inflamasi

Variabel tergantung : aktivitas anti inflamasi ekstrak *Miconia minutiflora* (Bonpl.)

- Populasi dan sampel

Tanaman *Miconia minutiflora* (Bonpl.) diperoleh dari Rio Largo (negara bagian Alagoas, Brasil) dan diambil bagian daunnya.

- Instrumen

Alat : spektrofotometer massa XEVO-G2XSQTOF (Manchester, UK), UPLC ACQUITY (Milford, USA), detektor Waters Acquity PDA, kolom Acquity BEH C18 (50 mm x 2,1 mm i.d., ukuran partikel 1,7  $\mu\text{m}$ ) (Milford, USA), *plethysmometer* (Ugo Basile, Italia).

Bahan : daun *Miconia minutiflora*, EDTA (Labtest Diagnostic, Brasil), asam asetat glasial (Vetec, Brasil), karagenin, deksametason, indometasin dan ibuprofen (Sigma, AS), kit ELISA TNF- (ref. 88-7324-88) dan IL-1 (ref. 88-7013-88) (eBioscience, AS), ketamin dan xylazine (Vet Brands International), NaCl 0,9% dan metanol (MeOH).

Hewan uji : Tikus jantan galur Wistar (200-250g) dan mencit betina galur Swiss (25-30g)

- Metode analisis

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi yaitu ekstrak diekstraksi pada suhu kamar ( $\pm 26^{\circ}\text{C}$ ) selama 48 jam.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi adalah metanol

### 3. Metode pengujian anti inflamasi

Dilakukan secara *in vivo* yaitu dengan metode *carrageen-induced air pouch*, edema kaki belakang yang diinduksi karagenin, pengamatan pada aktivitas myeloperoksidase dan peradangan rongga pleura yang diinduksi karagenin.

### 4. Analisis statistik

Analisis statistik antar kelompok dilakukan dengan Analisis of Varian (*One Way Anova*) dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey, dengan taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). Untuk tiap kelompok percobaan dinyatakan sebagai nilai rata-rata  $\pm$  standar deviasi menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Hasil Penelitian :

#### 1. Identifikasi kandungan senyawa utama

Hasil identifikasi senyawa utama dari ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* ditemukan adanya senyawa tanin (asam ellagic, casuarinin), flavonoid dan triterpen (asam myrianthic, asam arjunolik).

#### 2. Aktivitas anti inflamasi

##### a. *Carrageen-induced air pouch*

Ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* dosis 50, 100, 200 mg/kg menunjukkan aktivitas anti-inflamasi. Namun, ekstrak Mm-MeOH dengan dosis 100 mg/kg adalah dosis yang

menunjukkan aktivitas terbaik dan mampu menghambat migrasi leukosit hingga 70%.

b. Edema kaki belakang tikus yang diinduksi karagenin

Injeksi karagenin secara subplantar ke daerah kaki belakang dapat menginduksi edema dengan cepat. Ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* dosis 100 mg/kg mampu mengurangi edema lebih besar yaitu pada jam kedua, ketiga, dan keempat setelah induksi karagenin, namun tidak ada perbedaan yang signifikan dibandingkan dosis 200 mg/kg. Indometasin dengan dosis 5 mg/kg secara signifikan menurunkan volume edema pada semua waktu percobaan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

c. Aktivitas myeloperoksidase

Uji aktivitas myeloperoksidase (MPO) dilakukan untuk mengamati aktivitas anti inflamasi terkait dengan keberadaan neutrofil dalam jaringan yang mengalami peradangan. Mm-MeOH dosis 100 mg/kg dan Indometasin 5 mg/kg mampu mengurangi aktivitas MPO ( $0,258 \pm 0,06$  dan  $0,865 \pm 0,18$  *mean optical density* (mOD)/tissue). Data ini menunjukkan peran ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* pada migrasi leukosit seperti yang diamati pada uji *carrageen-induced air pouch*.

d. Radang rongga pleura/pleurisy yang diinduksi karagenin

Ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* dengan dosis 100 mg/kg menunjukkan penghambatan migrasi sel polimorfonuklear sebesar 62%. Mm-MeOH efektif dalam menghambat migrasi sel ke dalam rongga pleura bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan & saran :

1. Ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* dosis 100 mg/kg memiliki sifat anti inflamasi yang ditunjukkan oleh penurunan jumlah migrasi leukosit ke daerah radang (pada uji *carrageen-induced air pouch* dan radang rongga pleura) serta menurunkan tingkat sitokin proinflamasi TNF- dan IL-1 .
2. Analisis senyawa dalam ekstrak metanol daun *Miconia minutiflora* menggunakan metode UPLC-DAD-QTOF-MS/MS menunjukkan adanya senyawa tanin (asam ellagic, casuarinin), flavonoid dan triterpen (asam myrianthic, asam arjunolik).
3. Metabolit aktif dalam ekstrak metanol yang diduga berperan dalam aktivitas anti inflamasi antara lain tanin dan flavonoid.

b. Artikel kedua

Judul Artikel : Characterization of Anti-inflammatory Effect and Possible Mechanism of Action of *Tibouchina granulosa*



Nama Jurnal : Journal of Pharmacy and Pharmacology  
Penerbit : Wiley-Blackwell  
Volume & Halaman : ISSN 0022-3573, halaman 706-713  
Tahun Terbit : 2017  
Penulis Artikel : Andrea P. Sobrinho, Alam S. Minho, Leide  
L. C. Ferreira, Gabriel R. Martins, Fabio  
Boylan dan Patricia D. Fernandes

#### ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak air daun *Tibouchina granulosa* dan mengamati sifat anti inflamasi pada model peradangan akut.

Metode Penelitian :

- Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak air dari daun *Tibouchina granulosa* kemudian dilakukan identifikasi senyawa kimia menggunakan UHPLC-ESI-IT-MS serta mengamati sifat anti inflamasi pada model peradangan akut yaitu model *subcutaneous air pouch* (SAP) dan perhitungan kadar TNF- $\alpha$ , IL-10 dan protein.

Variabel bebas : variasi dosis uji (1, 3, 10, 30 dan 100 mg/kg) dan metode uji anti inflamasi

Variabel tergantung : aktivitas anti inflamasi ekstrak air daun

*Tibouchina granulosa*

- Populasi dan sampel

Tanaman *Tibouchina granulosa* diperoleh dari Cachoeiras de Macacu (Negara Bagian Rio de Janeiro) dan diambil bagian daunnya.

- Instrumen

Alat : spektrofotometer massa LCQ FLEET, UHPLC (Thermo Scientific, USA), kolom C18 (Merck), Thermo Xcaliber.

Bahan : daun tanaman *Tibouchina granulosa*, air suling, karagenin, asam asetil salisilat, deksametason (Sigma, USA), morphine sulfat, formalin (Ohio, AS).

Hewan uji : mencit jantan Swiss Webster (25-30 g).

- Metode analisis

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi yaitu dengan mencampurkan ekstrak ke dalam air mendidih kemudian didiamkan selama 24 jam dan disaring.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan pada metode ekstraksi yaitu air suling.

### 3. Metode pengujian anti inflamasi

Dilakukan secara *in vivo* yaitu model induksi karagenin pada model *subcutaneous air pouch* (SAP) dan perhitungan TNF- $\alpha$ , IL-10, serta perhitungan jumlah nitrat oksida (NO) dalam eksudat SAP.

### 4. Analisis statistik

Analisis statistik menggunakan *analysis of varians* (ANOVA) diikuti tes Bonferroni. Nilai  $p < 0,05$  dianggap signifikan. Semua kelompok percobaan terdiri dari 6-10 tikus dan hasil dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi (SD).

Hasil Penelitian :

#### 1. Kandungan kimia

Ekstrak air daun *Tibouchina granulosa* menunjukkan adanya senyawa proantosianidin dan flavonoid glikosida (quercetin-O-(O-galloyl)-hexoside, rutin, isorhamnetin-3-O-glukuronida, isorhamnetin-3-O-diglucoside, hispidulin-7-O-glucoside, isorhamnetin-3-O-rutinoside).

#### 2. Aktivitas anti inflamasi

##### a. Induksi karagenin pada model *subcutaneous air pouch* (SAP) dan perhitungan TNF- $\alpha$ dan IL-10

Dosis yang bervariasi dari 1 hingga 100 mg/kg ekstrak air daun *Tibouchina granulosa* mampu mengurangi jumlah leukosit yang bermigrasi ke daerah radang setelah injeksi

karagenin. Pengamatan juga dilakukan pada ekstravasasi protein ke dalam daerah *subcutaneous air pouch*, dimana semua dosis uji mengurangi jumlah protein yang merembes ke daerah radang.

Perhitungan mediator inflamasi yang terakumulasi dalam eksudat SAP selama proses peradangan menunjukkan bahwa jumlah kadar TNF- $\alpha$  berkurang setelah pemberian ekstrak air daun *Tibouchina granulosa*.

b. Perhitungan jumlah Nitrat Oksida (NO) dalam eksudat SAP

Akumulasi Nitrat oksida yang terbentuk diambil dari daerah radang *subcutaneous air pouch*. Semua dosis ekstrak (1, 3, 10, 30, 100 mg/kg) menunjukkan kemampuan penghambatan produksi NO yang maksimal. Penghambatan masing-masing dosis sebesar 71,4%, 70,1%, 75,9%, 80,4% dan 87,4%.

Kesimpulan & saran :

1. Dosis uji ekstrak *Tibouchina granulosa* menunjukkan kemampuan mengurangi migrasi sel dan leukosit ke daerah *subcutaneous air pouch* (SAP) dan produksi sitokin (TNF- $\alpha$  dan IL-10)
2. Aktivitas anti inflamasi *Tibouchina granulosa* diduga berasal dari mekanisme aksi senyawa golongan proantosianidin dan flavonoid glikosida.

c. Artikel ketiga

Judul Artikel : Study of Anti-nociceptive, Anti-inflammatory properties and Phytochemical Profiles of *Osbeckia parvifolia* Arn. (Melastomataceae)

Nama Jurnal : Industrial Crops and Products

Penerbit : Elsevier

Volume & Halaman : Volume 51, halaman 360-369

Tahun Terbit : 2013

Penulis Artikel : Rajan Murugan, Thangaraj Parimelazhagan

ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan pengamatan aktivitas antinosiseptif, anti inflamasi dan analisis senyawa kimia dari tanaman *Osbeckia parvifolia*

Metode Penelitian :

• Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia* kemudian dilakukan analisis fitokimia menggunakan metode Fourier Transform Infrared (FTIR), GC/MS dan HPLC serta uji aktivitas antinosiseptif dan anti inflamasi.

Variabel bebas : variasi dosis uji (100 dan 200 mg/kg) dan metode uji anti inflamasi.

Variabel tergantung : aktivitas anti inflamasi ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia*

- Populasi dan sampel

Tanaman *Osbeckia parvifolia* diambil dari Coonoor, Nilgiris, Tamil Nadu, India.

- Instrumen

Alat : peralatan soxhlet, *rotary evaporator*, kandang hewan, plat silika, spektrofotometer FTIR (Sistem 2000, PerkinElmer, USA), Gas Chromatography yang dilengkapi spektrofotometer massa (GC/MS), High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Bahan : tanaman *Osbeckia parvifolia*, metanol, air suling, albumin telur, karagenin (semua bahan yang digunakan didapat dari Sigma, Mumbai, India).

Hewan uji : Tikus putih jantan galur Wistar (umur 45 hari, berat 100-150 g) dan mencit putih jantan galur Swiss (umur 30 hari, berat 20-25 g).

- Metode analisis

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi sokletasi.

## 2. Pelarut

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu metanol.

## 3. Metode pengujian anti inflamasi

Dilakukan secara *in vivo* dengan model pengujian edema kaki belakang hewan uji yang diinduksi albumin telur dan karagenin, radang peritonium yang diinduksi karagenin dan efek ekstrak terhadap pembentukan granuloma yang diimplantasi dengan *cotton pellet*.

## 4. Analisis statistik

Analisis statistik menggunakan Analisis of Varian (*one-way ANOVA*) dilanjutkan *Dunnett's post hoc test* dengan nilai  $p < 0,05$ .

Hasil Penelitian :

### 1. Identifikasi senyawa bioaktif

Hasil identifikasi ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia* menunjukkan adanya metabolit primer dan sekunder seperti karbohidrat, protein, asam amino, alkaloid, saponin, senyawa fenolik, flavonoid, tanin, glikosida dan sterol.

Pada analisis menggunakan FTIR, mengungkapkan adanya gugus fungsi utama yaitu alkil halida, alkena, selulosa, cincin aromatik, keton, karbonil, alkohol dan amina.

Analisis tanaman *Osbeckia parvifolia* dikembangkan dengan menggunakan GC/MS dimana komponen yang terdapat pada

ekstrak metanol diantaranya asam karbamat, N-formyl-dl-metionin, dl-lisin, 3-piperidinamine, l-valine, acetamide dan piperazine. Jumlah senyawa fenolik pada ekstrak dianalisis menggunakan HPLC, menunjukkan adanya senyawa luteolin (1,941  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), asam galat (0,435  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), apigenin (0,430  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), quercetin (0,248  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), rutin (0,185  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), asam ferulic (0,076  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), amentoflavone (0,048  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), kaempferol (0,036  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) dan p-coumaric acid (0,023  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ).

## 2. Aktivitas anti inflamasi

### a. Edema kaki belakang tikus yang diinduksi albumin telur dan karagenin

Ekstrak metanol tanaman *Osbeckia parvifolia* dosis 200 mg/kg menunjukkan efek anti inflamasi yang signifikan terhadap edema yang diinduksi albumin telur, sebanding dengan kelompok kontrol positif Indometasin dosis 10 mg/kg (peroral). Ekstrak metanol dosis 200 mg/kg (peroral) juga mampu mengurangi edema kaki yang diinduksi karagenin pada jam ke-4 setelah injeksi karagenin. Indometasin 10 mg/kg (peroral) secara signifikan menghambat respon edema pada jam ke-1, 2, 3 dan 4.

### b. Radang peritonium yang diinduksi karagenin

Ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia* dosis 100 dan 200 mg/kg menghambat respon inflamasi sebesar 15,3% dan



48,8%, ditunjukkan dengan pengurangan jumlah neutrofil yang berpindah ke dalam rongga peritonium. Deksametason 2 mg/kg yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki persen penghambatan tertinggi yaitu 49,3%.

c. Pembentukan granuloma yang diimplantasi *cotton pellet*

Metode *cotton pellet* granuloma dilakukan untuk mengamati respon inflamasi kronis yang ditandai dengan infiltrasi cairan dan pembentukan granuloma akibat migrasi leukosit dan makrofag ke tempat radang. Pemberian secara oral ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia* dosis 200 mg/kg dan kontrol positif Indometasin 10 mg/kg menyebabkan penurunan pembentukan granuloma masing-masing sebesar 61,5% dan 58,3%.

Kesimpulan & saran :

1. Ekstrak metanol *Osbeckia parvifolia* dosis 200 mg/kg menunjukkan aktivitas anti inflamasi yang signifikan pada model peradangan akut yang diinduksi albumin telur dan karagenin serta inflamasi kronis model granuloma yang diimplantasi *cotton pellet*.
2. Aktivitas anti inflamasi diduga berasal dari senyawa polifenol seperti flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak metanol.

d. Artikel keempat

Judul Artikel : *In vitro* Anti-Inflammatory and *In vivo* Antiarthritic Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae) in Rats

Nama Jurnal : Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine

Penerbit : Hindawi

Volume & Halaman : Volume 2019, 17 halaman

Tahun Terbit : 2019

Penulis Artikel : Stephanie Flore Djuichon Nguemnang, Eric Gonzal Tsafack, Marius Mbiantcha, Ateufack Gilbert, Albert Donatien Atsamo, William Yousseu Nana, Vanessa Matah Marthe Mba, Carine Flore Adjouzem

ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan pengamatan aktivitas anti inflamasi *in vitro* dan aktivitas antiartritis *in vivo* dari ekstrak air dan etanol daun *Dissotis thollonii*.

Metode Penelitian :

- Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak air dan etanol dari daun *Dissotis thollonii* kemudian dilakukan skrining fitokimia serta uji aktivitas ekstrak terhadap inflamasi secara *in vitro* dan artritis *in vivo*.

Variabel bebas : variasi konsentrasi *in vitro* ( 100, 200, 500 dan 1000 µg/ml) dan variasi dosis *in vivo* (250 dan 500 mg/kg) serta variasi pengujian anti inflamasi *in vitro* dan *in vivo*.

Variabel tergantung : aktivitas anti inflamasi ekstrak air dan etanol daun *Dissotis tholloni* secara *in vitro* dan *in vivo*.

- Populasi dan sampel

Tanaman *Dissotis tholloni* diambil dari Kota Dschang (western Cameroon) dan diambil bagian daunnya.

- Instrumen

Alat : kertas Whatman No. 4, rotary evaporator, homositometer, jangka sorong (Mitutoyo, Jepang).

Bahan : daun *Dissotis thollonii*, etanol, air suling, Natrium diklofenak, Ibuprofen, Complete Freund's Adjuvant (CFA) dan Zymosan.

Hewan uji : tikus betina galur Wistar umur 3 hingga 4 bulan dengan berat 150-200 g.

- Metode analisis

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan untuk ekstrak air dan etanol adalah maserasi.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan adalah air (ekstrak air) dan etanol (ekstrak etanol).

3. Metode pengujian anti inflamasi

Dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in vitro* menggunakan model penghambatan siklooksigenase (COX), 5-Lipooksigenase, denaturasi protein, produksi ROS dan proliferasi sel T. Sedangkan uji *in vivo* dilakukan dengan model monoarthritis yang diinduksi Zymosan dan poliarthritis yang diinduksi CFA.

4. Analisis statistik

Analisis statistik menggunakan analisis ANOVA (satu arah dan dua arah) untuk mengetahui perbedaan yang diperoleh antar kelompok bermakna atau tidak, dilanjutkan Benferroni posttest

dengan taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). a, b, dan c atau , , dan menunjukkan perbedaan signifikan sehubungan dengan kelompok kontrol hewan uji sehat dan/atau kelompok kontrol arthritis.

Hasil Penelitian :

#### 1. Kandungan kimia

Ekstrak etanol mengandung senyawa sterol, tanin, flavonoid, antraquinon, fenol/polifenol, sedangkan ekstrak air hanya mengandung flavonoid dan fenol/polifenol.

#### 2. Aktivitas anti inflamasi *in vitro*

##### a. Penghambatan denaturasi protein

Ekstrak air dan etanol efektif menghambat denaturasi protein (albumin) yang disebabkan oleh panas. Pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$  kedua ekstrak menunjukkan penghambatan yang signifikan ( $p < 0,001$ ) dengan persen penghambatan masing-masing sebesar 42,51% dan 44,44%, sedangkan kelompok kontrol Natrium diklofenak menghasilkan penghambatan sebesar 89,19%.

##### b. Uji penghambatan Siklooksigenase (COX)

Pengamatan aktivitas siklooksigenase digunakan untuk menentukan efek dari kedua ekstrak pada produksi prostaglandin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ , ekstrak air, ekstrak etanol dan

ibuprofen secara signifikan ( $p < 0,001$ ) menghambat aktivitas siklooksigenase dengan persen penghambatan masing-masing sebesar 47,07%, 63,36% dan 97,88%.

c. Uji penghambatan 5-Lipooksigenase (5-LOX)

Pengamatan aktivitas 5-lipooksigenase digunakan untuk mempelajari efek dari kedua ekstrak pada produksi leukotrien. Ekstrak air, ekstrak etanol dan ibuprofen menunjukkan efek penghambatan yang signifikan ( $p < 0,001$ ) pada aktivitas 5-lipooksigenase dengan persen penghambatan masing-masing sebesar 66,79%, 77,48% dan 95,31%.

d. Efek *Dissotis thollonii* terhadap produksi ROS intraseluler dan proliferasi sel-T

Ekstrak etanol *D. thollonii* signifikan menghambat pelepasan ROS dalam darah lengkap dengan nilai  $IC_{50} = 4,89$   $\mu\text{g/ml}$ . ROS diaktifkan oleh PMA. Ekstrak air dan etanol memiliki nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 5,74  $\mu\text{g/ml}$  dan 2,96  $\mu\text{g/ml}$  pada penghambatan polimorfonuklear. Kedua ekstrak juga menghambat ROS yang diproduksi oleh makrofag dengan  $IC_{50}$  7,47  $\mu\text{g/ml}$  (ekstrak air) dan 3,28  $\mu\text{g/ml}$  (ekstrak etanol).

Pada uji proliferasi sel-T, kedua ekstrak menunjukkan sifat antiproliferatif yang signifikan. Ekstrak air memiliki aktivitas antiproliferatif dengan  $IC_{50}$  16,86  $\mu\text{g/ml}$ , sedangkan

ekstrak etanol 3,29 µg/ml dan prednisolon kurang dari 3,10 µg/ml.

3. Aktivitas antiarthritis *in vivo*

a. Efek pemberian ekstrak *D. Thollonii* pada monoarthritis yang diinduksi Zymosan

Zymosan (0,3 ml, 0,9% v/v NaCl) diinjeksikan ke bagian sendi lutut tikus satu jam setelah pemberian ekstrak. Ekstrak air dan etanol daun *D. thollonii* (250 dan 500 mg / kg) signifikan menghambat edema yang diinduksi zymosan dengan nilai  $p < 0,05$ . Ekstrak air dosis 500mg/kg secara signifikan menghambat edema pada jam ke-4 dengan persen penghambatan 33,30%, pada jam ke-3 untuk ekstrak etanol dengan persen penghambatan 52,90% dosis 500mg/kg. Sedangkan Natrium diklofenak mampu menghambat edema sebesar 36,30% dosis 5mg/kg.

Efek penghambatan maksimum ditunjukkan pada hari ke-5 untuk kedua ekstrak. Ekstrak air menghambat sebesar 69,30% sedangkan ekstrak etanol mampu menghambat sebesar 81,80%. Penghambatan maksimum Natrium diklofenak terjadi pada hari ke-3 dengan persen penghambatan 53,10%.

- b. Efek pemberian ekstrak *D. Tholloni* pada poliartritis yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA)

Ekstrak air dan etanol dosis 500mg/kg menunjukkan kemampuan menurunkan diameter sendi yang signifikan ( $p < 0,001$ ) dari hari ke-13 dengan persen penghambatan masing-masing sebesar 54,34% dan 65,48%. Aktivitas penghambatan maksimum terjadi pada hari ke-23 untuk kelompok Natrium diklofenak (60,03%, 5mg/kg) dan ekstrak air (71,85%), sedangkan ekstrak etanol terjadi pada hari ke-31 dengan penghambatan sebesar 79,03%.

Kesimpulan & saran :

1. Ekstrak etanol daun *Dissotis thollonii* konsentrasi 1000 µg/ml memiliki sifat anti inflamasi *in vitro* yang sangat kuat pada penghambatan denaturasi protein, penghambatan COX, penghambatan 5-LOX dan penghambatan produksi ROS.
2. Aktivitas antiartritis pada tikus diamati pada model monoartritis yang diinduksi Zymosan A dan model poliartritis yang diinduksi CFA dengan dosis 500 mg/kg menunjukkan penghambatan edema yang signifikan.
3. Senyawa dalam ekstrak yang diduga berperan pada aktivitas anti inflamasi adalah flavonoid.



e. Artikel kelima

Judul Artikel : Antimicrobial, Antioxidant, Anti-inflammatory Activities and Phytoconstituent of Extract from the Roots of *Dissotis thollonii* Cogn. (Melastomataceae)

Nama Jurnal : South African Journal of Botany

Penerbit : Elsevier

Volume & Halaman : ISSN 0254-6299, Volume 93, halaman 19-26

Tahun Terbit : 2014

Penulis Artikel : R. N. Nono, L. Barboni, R. B. Teponno, L. Quassinti, M. Bramucci, L. A. Vitali, D. petrelli, G. Lupidi, A. L. Tapondjou

ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Menentukan aktivitas antimikroba, antioksidan dan antiinflamasi dari ekstrak akar *Dissotis thollonii* serta isolasi dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak akar *Dissotis tholloni*.

Metode Penelitian :

• Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak dari akar *Dissotis thollonii*

kemudian dilakukan isolasi senyawa kimia menggunakan kromatografi kolom (CC) dan analisis NMR dan MS untuk menentukan struktur kimia serta uji aktivitas antimikroba, antioksidan dan anti inflamasi.

Variabel bebas : variasi konsentrasi uji

Variabel tergantung : aktivitas anti inflamasi ekstrak metanol akar

*Dissotis thollonii*

- Populasi dan sampel

Tanaman *Dissotis tholloni* diambil dari desa Bangoua dekat Bangangté (Region Barat Kamerun) dan diambil bagian akarnya.

- Instrumen

Alat : silika gel, kromatografi kolom (CC), spektrofotometer massa ESI (G2445D SL), spektroskopi, lampu UV (254 dan 365 nm).

Bahan : akar tanaman *Dissotis thollonii*, etil asetat, metanol butanol, air suling, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

- Metode analisis

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, dimana sejumlah ekstrak direndam dalam pelarut selama 24 jam pada suhu kamar.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu metanol.

### 3. Metode pengujian anti inflamasi

Dilakukan secara *in vitro* menggunakan model pengujian pengamatan terhadap produksi nitrat oksida (NO) dan viabilitas sel yang diinduksi Lipopolisakarida (LPS).

### 4. Analisis statistik

Analisis statistik menggunakan analisis parametrik *one-way* ANOVA dilanjutkan *post hoc* Dunnet ( $p < 0,05$ ). Analisis of Varian dilakukan di Instat (San Diego, Amerika Serikat) menggunakan perangkat lunak GraphPad. Semua uji dilakukan sebanyak 3 kali dengan 3 sampel yang berbeda dan data dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi (SD).

Hasil Penelitian :

#### 1. Isolasi dan identifikasi senyawa kimia

Isolasi senyawa kimia dari ekstrak akar *Dissotis tholloni* ditemukan sebanyak 12 senyawa dan diidentifikasi sebagai 3,3 -Di-O-methylellagic acid 4 -O- -D-xylopyranoside, 3-O-methylellagic acid 4 -O- -D-arabinopyranoside, Casuarinin, Betulinic acid, -Sitosterol-3-O- -D-glucoopyranosyl-6 -mirystate, Cellobiosylsterol, -Sitosterol, -Sitosterol-3-O- -D-glucoopyranoside, Arjunolic acid, Ellagic acid, 3,3 -Di-O-methylellagic acid 4 -O- -D-glucoopyranoside.

## 2. Aktivitas anti inflamasi

- a. Efek ekstrak terhadap produksi Nitrat Oksida (NO) dan viabilitas sel

Ekstrak metanol akar *Dissotis tholloni* konsentrasi 100 µg/ml mampu mengurangi produksi NO sebesar 86% dengan nilai IC<sub>50</sub> 5,9 µg/ml. Efek penghambatan ekstrak tergantung oleh dosis. Namun ekstrak metanol akar *Dissotis tholloni* tidak memiliki pengaruh terhadap viabilitas sel makrofag dalam konsentrasi pengujian yang dilakukan.

### Kesimpulan & saran :

1. Isolat yang ditemukan dalam ekstrak akar *Dissotis tholloni* antara lain 3,3 -Di-O-methylellagic acid 4 -O- -D-xylopyranoside, 3-O-methylellagic acid 4 -O- -D-arabinopyranoside, Casuarinin, Betulinic acid, -Sitosterol-3-O- -D-glucopyranosyl-6 -mirystate, Cellobiosylsterol, -Sitosterol, -Sitosterol-3-O- -D-glucopyranoside, Arjunolic acid, Ellagic acid, 3,3 -Di-O-methylellagic acid 4 -O- -D-glucopyranoside.
2. Sifat anti inflamasi ekstrak metanol *Dissotis tholloni* konsentrasi 100 µg/ml menunjukkan penghambatan produksi NO tertinggi dengan penghambatan sebesar 86% (IC<sub>50</sub> = 5,9 µg/ml)
3. Senyawa yang diduga berperan pada aktivitas anti inflamasi adalah tanin dan flavonoid.

f. Artikel keenam

Judul Artikel : Acute Toxicity Evaluation, Antibacterial, Antioxidant and Immunomodulatory Effect of *Melastoma malabathricum*

Nama Jurnal : Molecules

Penerbit : Multidisciplinary Digital Publishing Institute

Volume & Halaman : ISSN 1420-3049, halaman 3547-3559

Tahun Terbit : 2012

Penulis Artikel : Zahra A. Amin Alnajar, Mahmood A. Abdulla, Hapipah M. Ali, Mohammed A. Alshawsh dan A. Hamid A. Hadi

ISI ARTIKEL

Tujuan Penelitian : Melakukan pengamatan toksisitas akut secara *in vivo*, uji aktivitas penangkapan radikal bebas, uji efek antibakteri, peran imunomodulator pada *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) manusia secara *in vitro* dari ekstrak *Melastoma malabathricum*

Metode Penelitian :

• Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Metode penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak etanol dan air dari *Melastoma*

*malabathricum* kemudian dilakukan skrining fitokimia dilanjutkan pengamatan toksisitas akut ekstrak terhadap tikus Sprague Dawley, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, ABTS dan FRAP, uji efek antibakteri ekstrak terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae*) dan gram negatif (*Escherichia coli* dan *Klebsilla pneumonia*) serta peran imunomodulator pada *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) manusia secara *in vitro*.

Variabel bebas : variasi konsentrasi uji dan pengujian imunomodulator dan antioksidan.

Variabel tergantung : aktivitas imunomodulator dan antioksidan

- Populasi dan sampel

Tanaman *Melastoma malabathricum* diperoleh dari Ethno Resources Sdn Bhd, Selangor Malaysia.

- Instrumen

Alat : kertas Whatman no. 1 (Fitburg, WI, USA), *rotary evaporator* (Buchi, Flawil, Swiss), *freezer drying machine* (Labconco, Kansas City, USA), spektrofotometer, *haemocytometer* (Weber, UK).

Bahan : daun tanaman *Melastoma malabathricum*, etanol 95%, NaHCO<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich), FBS (Fetal Bovine Serum), PBMC, MTT (Merck-Germany), DMSO.

- Metode analisis :

1. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dimana sejumlah ekstrak direndam dalam pelarut selama 3 hari pada suhu kamar.

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan yaitu etanol 95% (ekstrak etanol) dan air (ekstrak air).

3. Metode pengujian imunomodulator

Dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode *proliferasi peripheral blood mononuclear cell* (PBMC).

4. Analisis statistik

Pengamatan viabilitas sel dilakukan dengan menggunakan teknik ELISA Power wave X 340 (Winooski, USA).

Pembacaan pelat dilakukan pada panjang gelombang 595 nm.

Hasil Penelitian :

1. Identifikasi senyawa kimia

Dalam ekstrak etanol dan air ditemukan adanya senyawa polifenol yaitu flavonoid (kuersetin).

2. Aktivitas Imunomodulator

- a. Proliferasi *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC)

Pada studi efek imunomodulator *Melastoma malabathricum* terhadap *peripheral blood mononuclear cell*

(PBMC) manusia membuktikan bahwa ekstrak etanol dan air menunjukkan kemampuan yang kuat untuk meningkatkan proliferasi viabilitas PBMC. Nilai IC<sub>50</sub> masing-masing ekstrak yaitu  $1,781 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$  dan  $6,545 \pm 0,93 \mu\text{g/ml}$ .

Pada uji kolorimetri menggunakan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) menunjukkan bahwa kedua ekstrak (etanol dan air) mampu menginduksi proliferasi sel darah putih setelah inkubasi selama 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tidak beracun bagi sel kekebalan normal/*normal immune* dan berpotensi untuk memodulasi sistem kekebalan seluler.

Kesimpulan & saran :

1. Konsentrasi 200  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak etanol dan air *Melastoma malabathricum* menunjukkan peningkatan persentase viabilitas *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar  $1,781 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$  dan  $6,545 \pm 0,93 \mu\text{g/mL}$ .
2. Senyawa aktif yang diduga berperan pada aktivitas imunomodulator ekstrak *Melastoma malabathricum* adalah flavonoid (kuersetin).