

**KAJIAN POTENSI PATCH TRANSDERMAL LIPOSOM  
EKSTRAK CIPLUKAN (*Physalis minima* L.) DALAM  
MENURUNKAN EKSPRESI TNF- $\alpha$  DAN DIAMETER SENDI  
KAKI PADA TIKUS WISTAR MODEL INFLAMASI KRONIK**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:  
**Ima Multazimah**  
**NIM 145070501111014**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**MALANG**  
**2018**

Nama : Ima Multazimah

Jenis Kelamin : Wanita

Alamat di Malang : Jalan Summersari Gang IV No. 56B, Malang

Alamat Asal : Jalan Pusri Link. Kesuren RT02/RW023 Kel. Sumur Pecung Kec. Serang, Kota Serang

Tempat, Tanggal Lahir : Serang, 6 Maret 1996

Agama : Islam

Nomor Telepon : 087808426522

E-mail : [imamultazimah@gmail.com](mailto:imamultazimah@gmail.com)



#### RIWAYAT PENDIDIKAN

PENDIDIKAN	TAHUN
SDN Cinanggung Kota Serang	2004-2009
SMPN 1 Kota Serang	2009-2011
SMAN 1 Kota Serang	2011-2014
Program studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya	2014-2018

#### PENGALAMAN ORGANISASI

ORGANISASI	JABATAN	TAHUN
PASKIBRA SMPN 1 Kota Serang	Ketua	2009-2010
PASKIBRA SMAN 1 Kota Serang	Ketua	2011
PASKIBRA Kota Serang	Anggota	2011
PAMBAJA	Bendahara II	2015
BEM HARMONI FKUB	Staff Biro Administrasi dan Keuangan	2015
BEM DIRGANTARA FKUB	Wakil Ketua Biro	2016

	Administrasi dan Keuangan	
BEM GELORA INSPIRASI FKUB	Bendahara Umum	2017

**PELATIHAN YANG PERNAH DIKUTI**

NAMA KEGIATAN	LEVEL KEGIATAN
LKMMF I 2014	Program Studi
LKMM I FKUB 2015	Fakultas
LKMM II FKUB 2015	Fakultas
LKMMF II ISMAFARSI JATIM-BALI 2016	Regional



**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**KAJIAN POTENSI PATCH TRANSDERMAL LIPOSOM  
EKSTRAK CIPLUKAN (*Physalis minima* L.) DALAM  
MENURUNKAN EKSPRESI TNF- $\alpha$  DAN DIAMETER SENDI  
KAKI PADA TIKUS WISTAR MODEL INFLAMASI KRONIK**

Oleh:

**Ima Multazimah**  
**NIM 145070501111014**

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 27 Februari 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

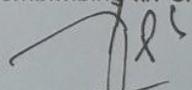
Penguji-I

  
Ema Pristi Yunita, M.Farm.Klin., Apt.  
NIK. 2012058602282001

Pembimbing-I/Penguji-II

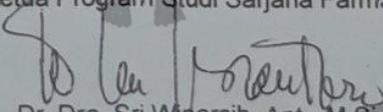
  
Dahlia Permatasari, M.Si., Apt.  
NIK. 2009128404242001

Pembimbing-II/Penguji-III

  
Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.  
NIK. 2009127503151001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi

  
Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si  
NIP. 195408231981032001

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ima Multazimah

NIM : 145070501111014

Program Studi : Program Studi Sarjana Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 9 Maret 2018

Yang membuat pernyataan,



NIM. 145070501111014

## KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir dengan judul “Kajian Potensi *Patch* Transdermal Liposom Ekstrak Ciplukan (*Physalis minima* L.) dalam Menurunkan Ekspresi TNF- $\alpha$  dan Diameter Sendi Kaki pada Tikus Wistar Model Inflamasi Kronik”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dahlia Permatasari, M.Si., Apt., sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan dalam menyelesaikan Tugas akhir, yang dengan sabar membimbing, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. Ferri Widodo, M.Biomed., Apt., sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar membimbing penulisan dan analisis data, dan senantiasa memberi dukungan, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Ema Pristi Yunita, M.Farm.Klin., Apt., sebagai penguji Tugas Akhir yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
4. Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt., selaku ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
5. Dr. Dr. Sri Andarini, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
6. Seluruh dosen beserta civitas akademika PSSF FKUB Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
7. Analis dan Petugas Laboratorium Farmasi FKUB, Mbak Septi, Pak Atmari, dan Bu Tri.

8. Analis dan petugas Laboratorium Parasitologi FKUB, Bu Heni, Mas Didin, dan Pak Budi.

9. Analis Laboratorium Farmakologi FKUB, Mas Memet.

10. Kedua orang tua tercinta, Bapak Habibuddin dan Ibu Eliyah serta kakak-kakak tersayang yang senantiasa memberikan doa, dukungan, kasih sayang, pengertian, dan kepercayaan kepada penulis.

11. Teman seperjuangan dalam menyelesaikan Tugas Akhir, Marika dan Adibah yang telah berjuang bersama dalam melaksanakan amanah penelitian.

12. Yang tersayang, M. Azhar H. yang telah memberikan bantuan, doa, dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

13. BPI BEM Kabinet Gelora Inspirasi 2017 tersayang Ruli, Hamidah, Rizka, Evan, dan Dhanang.

14. Sahabat-sahabat farmasi 2014, Nuke, Nur'ainie Putri, Ilma, Ilmi, Mia, Masyta, Azizah, Adel, Eka, Almira, Meita, Siska, Eva, Arya, Manda, Mita, Syifa, Ayu, Rizki Ridhowati atas segala pengertian, bantuan, doa, dan dukungan selama penulis menyelesaikan Tugas Akhir ini.

15. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 9 Maret 2018

Penulis

## ABSTRACT

**Multazimah, Ima. 2018. Potential Study of the Transdermal Patch of Ciplukan Extracts of Liposomes (*Physalis minima* L.) in Lowering TNF- $\alpha$  Expression and Ankle Joint Diameter in Wistar Rats of Chronic Inflammatory Model.** Final Assignment, Undergraduate Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dahlia Permatasari, M.Si., Apt (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt

Withaphysaline A (WA) and 2, 3-dihydrowithaphysalin C (WC) are two major compounds of withanolide, obtained from the antiinflammatory fraction of *Physalis minima* Linn. The aim of this study was to probe and demonstrate the effect of *Physalis minima* L. extract in decreasing expression of TNF- $\alpha$  and ankle joint diameter in chronic induced chronic inflammatory wistar rat. Rats were divided into 6 groups: 3 control groups and 3 treatment groups. The control group was divided into 2 positive control groups and 1 negative control group. Two positive control groups were group treated with 1,3% diclofenac sodium patch and group treated with 1% diclofenac sodium gel. The treatment group was divided into 3 with different ciplukan extract doses in each group of 200, 400, and 600 mg/kgBB rat. The outcome of this experiment showed that the patch of ciplukan (*Physalis minima* L.) extract liposome with a dose of 600 mg/kgBB of rat had antiinflammatory activity comparable to the positive control of the patch and diclofenac sodium gel because it significantly affected the decrease in ankle joint diameter ( $p < 0,05$ ) and succeeded in decreasing the level of TNF- $\alpha$  so that on the 29<sup>th</sup> day the expression TNF- $\alpha$  obtained was not significantly different that when before CFA induced ( $p = 0,520$ ) in chronic inflammatory wistar rat. It can be concluded that the liposome patch extract of *Physalis minima* Linn dose of 600 mg/kgBB of rat can decrease TNF- $\alpha$  expression and ankle joint diameter in chronic inflammatory wistar rat.

Keywords: chronic inflammation, TNF- $\alpha$ , ankle joint diameter, CFA

## ABSTRAK

**Multazimah, Ima. 2018. Kajian Potensi Patch Transdermal Liposom Ekstrak Ciplukan (*Physalis minima* L.) dalam Menurunkan Ekspresi TNF- $\alpha$  dan Diameter Sendi Kaki pada Tikus Wistar Model Inflamasi Kronik.** Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dahlia Permatasari, M.Si., Apt. (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.

Withaphysalin A (WA) dan 2, 3-dihydrowithaphysalin C (WC) merupakan dua jenis senyawa utama dari withanolide, yang diperoleh dari fraksi antiinflamasi *Physalis minima* Linn. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membuktikan pengaruh ekstrak *Physalis minima* L. dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik yang diinduksi CFA. Pembagian kelompok tikus dilakukan secara acak ke dalam 6 kelompok. Tiga kelompok sebagai kelompok kontrol dan tiga kelompok sebagai kelompok perlakuan. Tiga kelompok kontrol terbagi menjadi dua kelompok kontrol positif dan satu kelompok kontrol negatif. Dua kelompok kontrol positif adalah kelompok yang diberikan terapi patch natrium diklofenak 1,3% dan kelompok yang diberi terapi gel natrium diklofenak 1%. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 3 dengan dosis ekstrak ciplukan yang berbeda pada masing-masing kelompok yaitu 200, 400, dan 600 mg/kgBB tikus. Hasil dari percobaan ini menunjukkan bahwa patch liposom ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) dengan dosis 600 mg/kgBB tikus memiliki aktivitas antiinflamasi yang sebanding dengan kontrol positif patch maupun gel natrium diklofenak karena berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan diameter sendi pergelangan kaki ( $p = 0,027$ ), dan berhasil menurunkan kadar TNF- $\alpha$  sehingga pada hari ke-29 ekspresi TNF- $\alpha$  yang diperoleh tidak berbeda signifikan dibandingkan saat sebelum diinduksi CFA ( $p = 0,520$ ) pada tikus wistar model inflamasi kronik. Dapat disimpulkan bahwa terapi patch liposom ekstrak *Physalis minima* Linn dosis 600 mg/kgBB tikus dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.

Kata kunci: inflamasi kronik, *Physalis minima*, TNF- $\alpha$ , diameter sendi, CFA

## DAFTAR ISI

JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
LAMPIRAN .....	xvi

## BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat Akademik .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	5

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ciplukan ( <i>Physalis minima</i> L) .....	6
2.2 Inflamasi .....	8
2.3 Inflamasi Kronik .....	9
2.4 TNF- $\alpha$ .....	10
2.5 <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA) .....	11
2.6 Terapi Farmakologi .....	11
2.7 Rute Transdermal .....	13
2.8 Peningkatan Permeasi Obat .....	14
2.9 Liposom .....	20
2.10 <i>Patch</i> .....	21

2.11 Monografi Bahan Sediaan Patch Ekstrak Ciplukan (*Physalis minima* L)

2.11.1 Ciplukan (*Physalis minima* L) ..... 22

2.11.2 Lesitin ..... 23

2.11.3 Akuades ..... 25

2.11.4 HPMC ..... 26

2.11.5 Etanol ..... 28

2.11.6 Kitosan ..... 29

2.11.7 Asam Asetat ..... 31

2.11.8 Propilen Glikol ..... 33

2.11.9 Gliserin ..... 33

2.12 Complete Freund's Adjuvant (CFA) ..... 34

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian ..... 36

3.2 Hipotesis Penelitian ..... 37

**BAB IV METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan Penelitian ..... 38

4.2 Populasi dan Sampel ..... 38

4.3 Variabel Penelitian ..... 40

4.3.1 Variabel Bebas ..... 40

4.3.2 Variabel Terikat ..... 40

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian ..... 40

4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian ..... 40

4.6 Definisi Istilah / Operasional ..... 41

4.7 Skema Kerja ..... 43

4.8 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data ..... 44

4.8.1 Pembuatan dan Analisis Kandungan Ekstrak Daun  
dan Tangkai *Physalis minima* L ..... 44

4.8.2 Pembuatan liposom ekstrak *Physalis minima* L ..... 44

4.8.3	Pembuatan <i>Patch</i> Liposom Ekstrak <i>Physalis minima</i> L..	45
4.8.4	Pengkondisian Hewan Coba .....	46
4.8.5	Uji Aktivitas Antiinflamasi <i>Patch</i> Liposom Ekstrak <i>Physalis minima</i> L .....	46
4.8.5.1	Pembagian Kelompok Tikus .....	46
4.8.5.2	Penentuan Dosis .....	47
4.8.5.3	Model Inflamasi Kronik .....	47
4.8.5.4	Pengukuran Diameter Sendi Kaki Tikus .....	47
4.8.5.5	Evaluasi Kadar TNF- $\alpha$ .....	48
4.9	Analisis Data .....	48

## **BAB V HASIL DAN ANALISA DATA**

5.1	Hasil Pengukuran Diameter Sendi Kaki Tikus .....	50
5.2	Hasil Ekspresi TNF- $\alpha$ .....	53
5.3	Hasil Pengukuran Tebal Telapak Kaki Tikus .....	57

## **BAB VI PEMBAHASAN**

## **BAB VII PENUTUP**

7.1	Kesimpulan .....	66
7.2	Saran .....	66

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	67
-----------------------------	----

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Physalis minima</i> L .....	7
Gambar 2.2 Struktur Kimia Kandungan <i>Physalis minima</i> L .....	8
Gambar 2.3 Gambaran Umum Inflamasi Akut dan Kronik .....	9
Gambar 2.4 Representasi Kulit yang Sederhana Menunjukkan Rute Penetrasi .....	14
Gambar 2.5 Teknik untuk Mengoptimalkan Permeasi Obat di Kulit ..	20
Gambar 2.6 Rumus Struktur Kimia Lesitin .....	23
Gambar 2.7 Rumus Struktur Kimia Akuades .....	25
Gambar 2.8 Rumus Struktur Kimia HPMC .....	26
Gambar 2.9 Rumus Struktur Kimia Etanol .....	28
Gambar 2.10 Rumus Struktur Kimia Kitosan .....	29
Gambar 2.11 Rumus Struktur Kimia Asam Asetat .....	31
Gambar 2.12. Rumus Struktur Kimia Propilen Glikol .....	32
Gambar 2.13. Rumus Struktur Kimia Gliserin .....	33
Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus ..	51
Gambar 5.2 Grafik Rata-rata AUC Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus.....	51
Gambar 5.3 Grafik Rata-rata Ekspresi TNF- $\alpha$ Tikus .....	54
Gambar 5.4 Grafik Rata-rata Kenaikan Tebal Telapak Kaki Tikus .....	58
Gambar 5.5 Grafik Rata-rata AUC Tebal Telapak Kaki Tikus .....	58

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Perbandingan Jumlah Komponen Pembentuk Liposom Ekstrak *Physalis minima* L ..... 45

Tabel 4.2 Formula Patch Liposom Ekstrak *Physalis minima* L ..... 45

Tabel 5.1 Rata-rata AUC Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29 ..... 51

Tabel 5.2 Rata-rata Ekspresi TNF- $\alpha$  Tikus Semua Kelompok pada Hari ke-0, ke-5 dan ke 29 ..... 54

Tabel 5.3 Rata-rata AUC Kenaikan Tebal Telapak Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29 ..... 58



## DAFTAR SINGKATAN

CFA : *Complete Freund's Adjuvant*

ELISA : *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

TNF- $\alpha$  : *Tumor Necrosis Factor Alpha*

HPMC : *Hidroxypropyl Methylcellulose*

COX : *Cyclooxygenase*

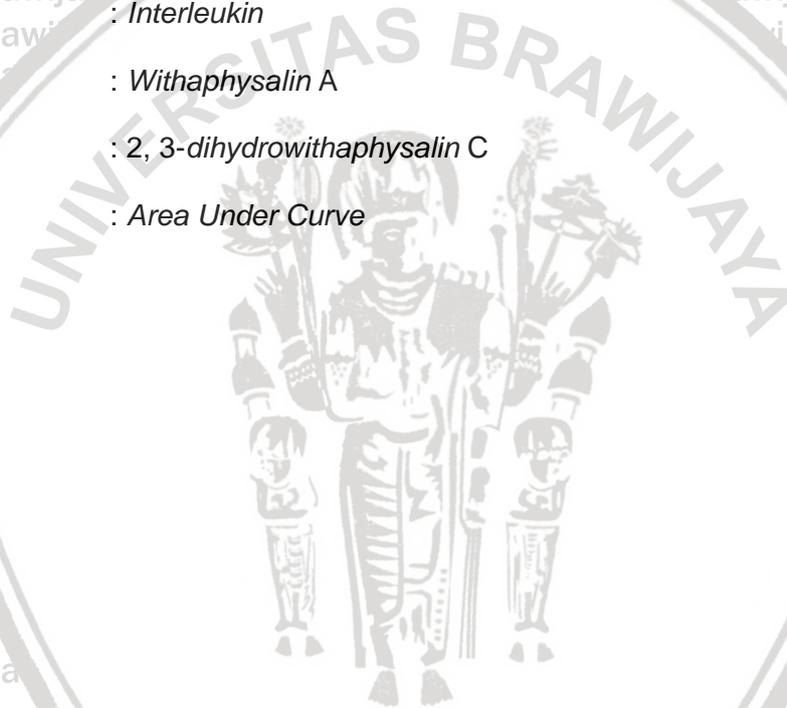
OAINS : *Obat Anti Inflamasi Non Steroid*

IL : *Interleukin*

WA : *Withaphysalin A*

WC : *2, 3-dihydrowithaphysalin C*

AUC : *Area Under Curve*



LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan <i>Patch</i> .....	77
Lampiran 2 Berat Badan Tikus .....	81
Lampiran 3 Diameter Sendi Kaki .....	85
Lampiran 4 Tebal Telapak Kaki .....	88
Lampiran 5 Kadar TNF- $\alpha$ .....	91
Lampiran 6 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Kontrol Negatif .....	92
Lampiran 7 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Kontrol Positif <i>Patch</i> .....	97
Lampiran 8 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Kontrol Positif Gel .....	102
Lampiran 9 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Perlakuan 1 .....	109
Lampiran 10 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Perlakuan 2 ....	114
Lampiran 11 Analisis Statistik Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Perlakuan 3 ....	120
Lampiran 12 Analisis Statistik AUC Kenaikan Diameter Sendi Kaki .....	126
Lampiran 13 Analisis Statistik AUC Kenaikan Tebal Telapak Kaki .....	136
Lampiran 14 Pengujian Bahan Baku .....	146
Lampiran 15 Keterangan Kelaikan Etik .....	149
Lampiran 16 Hasil ELISA TNF- $\alpha$ .....	150
Lampiran 17 Determinasi Tanaman Ciplukan .....	153
Lampiran 18 Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Ciplukan .....	154
Lampiran 19 Dokumentasi Kegiatan .....	155

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 LATAR BELAKANG

*Physalis minima* L. atau yang lebih dikenal dengan tanaman ciplukan merupakan tanaman obat penting yang secara tradisional digunakan sebagai obat herbal di Cina dan India untuk pengobatan inflamasi (Patel *et al.*, 2011; Li, *et al.*, 2016). Inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh. Sistem kekebalan tubuh akan mengenali sel yang rusak, iritasi, maupun patogen sehingga terjadi proses penyembuhan. Inflamasi menandakan bahwa tubuh sedang berusaha untuk melindungi diri dari rangsangan berbahaya dan memulai proses penyembuhan. Jika kondisi yang menyebabkan inflamasi akut tidak dapat diatasi, inflamasi akut dapat masuk ke fase kronis jangka panjang.

Inflamasi pada dasarnya merupakan sebuah mekanisme pertahanan terhadap infeksi dan perbaikan jaringan. Akan tetapi jika terjadi secara terus-menerus (kronis) maka dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan berperan pada mekanisme beberapa penyakit dan kondisi, seperti beberapa jenis kanker dan rheumatoid arthritis (Abbas dkk., 2010; Nordqvist, 2017). Pada keadaan inflamasi jaringan di tempat cedera akan merespon rangsangan dengan melepaskan mediator inflamasi seperti histamin, prostaglandin, leukotrin, dan TNF- $\alpha$  yang dapat menimbulkan reaksi radang (Baratawidjaja, 2002; Katzung, 2002). TNF adalah salah satu dari sejumlah besar sitokin yang terlibat dalam patogenesis gangguan rematik dan inflamasi. Cara TNF bekerja adalah dengan mengikat reseptor sel dengan afinitas tinggi dan dengan kekhususan tinggi (Ivashkiv, 2003). Fungsi tambahan TNF- $\alpha$  meliputi perannya dalam respon imun terhadap invasi bakteri, jamur, virus, dan parasit tertentu serta perannya dalam

nekrosis tumor spesifik dan juga bertindak sebagai mediator utama dalam respon imun inflamasi lokal (Janeway *et al.*, 1999). Lipopolisakarida dari dinding sel bakteri merupakan stimulus yang sangat potensial untuk sintesis TNF- $\alpha$  (Tracey dan Cerami, 1994).

Inflamasi dapat berupa akut dan kronik. Inflamasi kronik dapat lebih berbahaya dibanding dengan inflamasi akut dan durasinya lebih panjang yaitu dalam hitungan hari sampai tahun (Kumar, 2007). Salah satu contoh penyakit inflamasi kronik adalah artritis rheumatoid. Di Indonesia prevalensi rheumatoid arthritis 23,3%-31,6% dari jumlah penduduk Indonesia. Pada tahun 2007 lalu, jumlah pasien ini mencapai 2 juta orang, dengan perbandingan pasien wanita tiga kali lebih banyak dari pria. Diperkirakan angka ini terus meningkat hingga tahun 2025 dengan indikasi lebih dari 25% akan mengalami kelumpuhan (Zen, 2012).

Obat antiinflamasi terbagi menjadi beberapa golongan diantaranya golongan steroid, non steroid, dan sitostatika. Penggunaan obat antiinflamasi golongan steroid dalam jangka waktu yang lama akan mengakibatkan efek samping berupa peningkatan risiko hipertensi, osteoporosis, gangguan pencernaan, dan gangguan sistem kekebalan tubuh (Aprianto, 2016). Pada penggunaan obat antiinflamasi non steroid dapat menyebabkan efek samping pada saluran pencernaan karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis prostaglandin (PG) dan pada OAINS dengan selektivitas penghambat COX-2 memiliki efek samping pada sistem kardiovaskuler (Lelo, 2004). Metotreksat (MTX) merupakan sitostatika golongan antagonis asam folat yang kini dijadikan sebagai agen antiinflamasi dan immunosupresan lini pertama dalam terapi reumatoid arthritis (RA) (Kaltsonoudis, 2012), namun efek samping yang mungkin

timbul setelah penggunaan MTX dosis rendah yaitu dapat terjadi kerentanan terhadap infeksi, gangguan fungsi hati, alopesia, aspermia atau leukopenia (Daud, 2000). Penggunaan tanaman obat dapat menjadi salah satu alternatif dalam pengobatan inflamasi karena dinilai lebih aman dari segi efek samping dan toksisitas (Awang, 2009). Salah satu kandidat potensial yang dapat dijadikan obat antiinflamasi adalah ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L) (Li *et al.*, 2016).

Pemberian obat dapat dilakukan melalui beberapa metode seperti rute per oral, intravena dan transdermal. Pemberian OAINS per oral memiliki beberapa efek samping gastrointestinal (GI) seperti ulkus peptikum dan perdarahan gastrointestinal. Ciplukan (*Physalis minima* L.) merupakan agen antiinflamasi yang bekerja setara dengan aspirin sehingga mengakibatkan terjadinya lesi pada lambung setelah mencapai dosis tertentu, namun lebih ringan jika dibandingkan dengan lesi lambung yang disebabkan aspirin (Kalsum, 2013). Rute penghantaran obat melalui intravena bersifat invasif sehingga mengurangi kenyamanan pasien dalam mengonsumsi obat. Pada kondisi inflamasi kronik kepatuhan pasien dalam mengonsumsi obat dapat ditingkatkan dengan menggunakan sediaan yang mudah diaplikasikan serta minimal dalam menyebabkan efek samping yang tidak diharapkan. Pemberian melalui rute transdermal diharapkan dapat meningkatkan kenyamanan penggunaan obat, mengurangi efek samping yang tidak dikehendaki dan dapat menghasilkan laju penghantaran obat yang kontinu (Kwatra, 2012). Akan tetapi, kelemahan dari pemberian obat melalui rute transdermal yaitu penetrasi obat ke dalam kulit akan terhambat karena sifat penghalang dari kulit. Salah satu sediaan yang dikembangkan untuk pemberian melalui rute transdermal adalah sediaan *patch*.

Sebelum dibuat menjadi *patch*, ekstrak *Physalis minima* L diformulasi terlebih

dahulu menjadi liposom agar permeabilitas obat dalam menembus kulit meningkat (Kaur, 2013). Berdasarkan paparan di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi penggunaan *patch* liposom ekstrak *Physalis minima* L. dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak *Physalis minima* L. yang diformulasi dalam sediaan *patch* mempunyai efek untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik dengan metode *adjuvant induced arthritis*?
2. Berapa dosis optimum ekstrak *Physalis minima* L. dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

1. Mengetahui dan membuktikan efek ekstrak *Physalis minima* L. dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.
2. Mengetahui dosis optimum ekstrak *Physalis minima* L. dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui dan membuktikan efek ekstrak *Physalis minima* L. dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik dengan metode *adjuvant induced arthritis*.

2. Mengetahui dosis optimum ekstrak *Physalis minima* L. dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik dengan metode *adjuvant induced arthritis*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

##### 1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah wawasan ilmu pengetahuan dalam hal pemanfaatan tanaman herbal dan pengembangan senyawa baru sebagai terapi untuk inflamasi kronik.

##### 1.4.2 Manfaat Praktis

Pemanfaatan tanaman herbal dalam hal ini *Physalis minima* L. sebagai terapi inflamasi kronik.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Ciplukan (*Physalis minima* L.)

*Physalis minima* Linn atau yang lebih dikenal dengan tanaman ciplukan merupakan tanaman obat penting pada sistem pengobatan India (Patel *et al.*, 2011) dan secara tradisional digunakan sebagai obat herbal di Cina untuk pengobatan inflamasi (Li, *et al.*, 2016). Di China *Physalis minima* merupakan obat tradisional yang dikenal dengan nama *XiaoSuanJiang*, digunakan untuk pengobatan radang tenggorokan, bronkitis, dan gondong. *Physalis minima* Linn termasuk dalam famili Solanaceae yang tumbuh tinggi berkisar 0,5-1,5 m, berasa pahit dan memiliki aktivitas antiinflamasi, diuretik, laksatif, serta bermanfaat dalam ulserasi kandung kemih (Khan *et al.*, 2009; Patel *et al.*, 2011).

Secara umum kandungan yang terdapat pada akar, daun, dan batang ciplukan adalah withanone, sitosterol, stigmasterol, withaferin A, withanolide, withanolide A, physalin, physalin A, physalin B, physalin C, physalin D, physalin I, physalin L, physalindicanols, physalinicanol A withametelins, withangulatin, vitasteroid, phygrine, withaphysalin A, withaphysalin B, withaphysalin C, withaphysalin D, dan withaphysalin E. Aktivitas farmakologi yang disebutkan dari beberapa hasil studi meliputi antiinflamasi, analgesic dan antipiretik, antiulser, antimalarial, antigonorrhea, antibakteri, antifertilitas dan sitotoksik (Chothani, 2012).

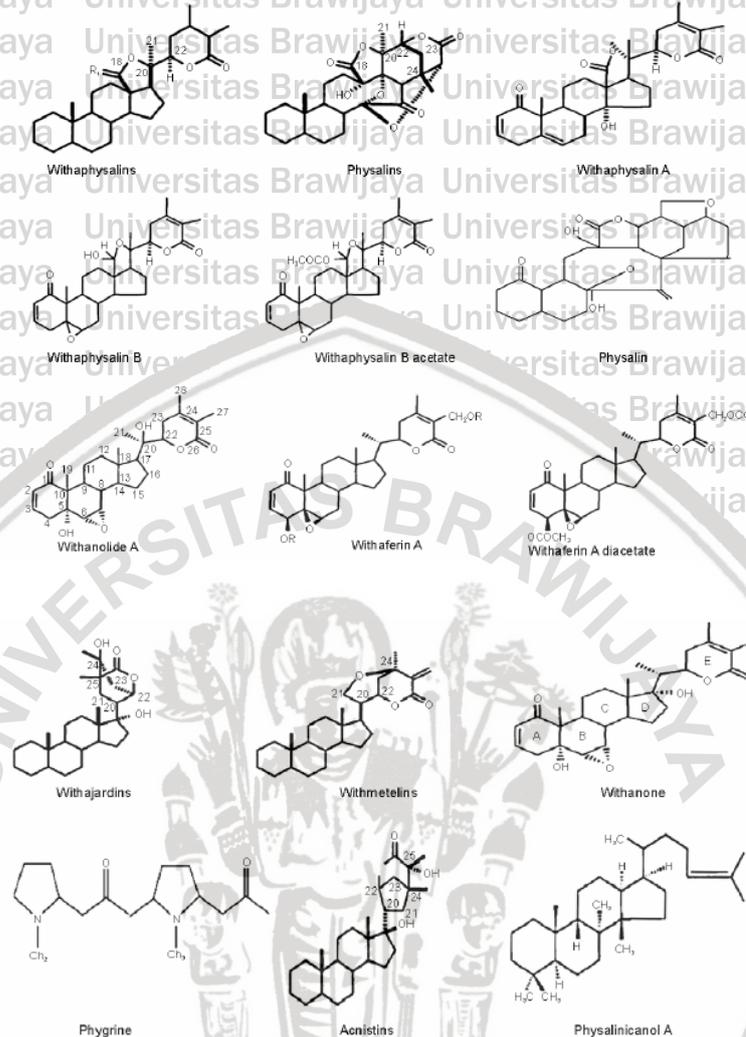
Withaphysalin A (WA) dan 2, 3-dihydrowithaphysalin C (WC) merupakan dua jenis senyawa utama dari withanolide, yang diperoleh dari fraksi antiinflamasi *P. minima* (Li *et al.*, 2016). Withanolide merupakan kelompok dari *oxygenated C28 ergostanetype steroidal lactones* yang sebagian besar terdapat pada genus

*Physalis* (Alali *et al.*, 2014; Barthel *et al.*, 2016). Withanolide memiliki aktivitas biologis seperti aktivitas sitotoksik, anti-inflamasi, immunosupresif, antitumor, dan antioksidan (Ma *et al.*, 2007; Choudhary *et al.*, 2010). Sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  berperan penting dalam peradangan (Qi, 2016, Liu *et al.*, 2016).

WA dan WC secara signifikan menghambat produksi nitrit oksida (NO), iNOS, COX-2, prostaglandin E2 (PGE2), dan beberapa sitokin pro-inflamasi, seperti interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) yang dipicu oleh LPS pada makrofag RAW264.7 dengan cara menekan aktivasi STAT3, translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan meningkatkan ekspresi HO-1 (*Heme Oxygenase-1*) (Li *et al.*, 2016). Peningkatan ekspresi HO-1 berkontribusi pada pencegahan respons inflamasi (Kim *et al.*, 2015) dan juga menekan translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan fosforilasi STAT3 sehingga menyebabkan penghambatan pada pelepasan mediator inflamasi pada tingkat protein dan mRNA (Liu *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016). Ekstrak kasar dan fraksi kloroform *Physalis minima* pada dosis 400 mg/kg per oral secara signifikan menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada tikus galur Wistar (Khan *et al.*, 2009).



Gambar 2.1. *Physalis minima* L. (Shanfari, 2011)

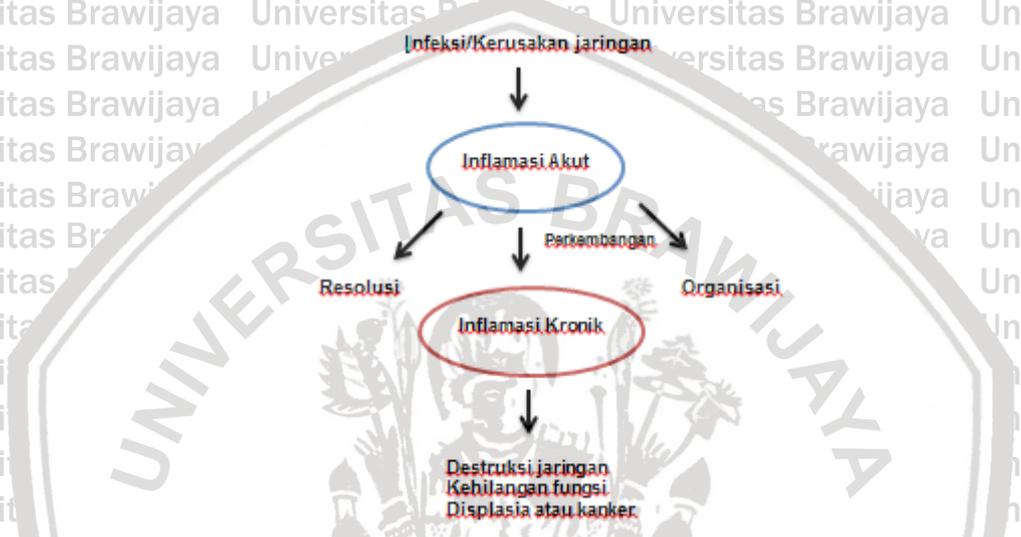


Gambar 2.2. Struktur Kimia Kandungan *Physalis minima* L (Chothani, 2012)

## 2.2 Inflamasi

Inflamasi merupakan usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Inflamasi juga dapat diartikan sebagai suatu respons protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia merusak atau zat-zat mikrobiologik. (Mycek *et al.*, 2001). Pada keadaan inflamasi jaringan di tempat cedera akan merespon rangsangan baik fisik maupun kimiawi yang bersifat merusak. Rangsangan ini menyebabkan terjadinya pelepasan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin, trombin,

TNF- $\alpha$  dan leukotrien yang dapat menimbulkan reaksi radang (Baratawidjaja, 2002; Katzung, 2002). Mediator-mediator inflamasi tersebut bertanggung jawab menimbulkan reaksi radang dengan gejala kemerahan (*rubor*), pembengkakan (*tumor*), panas meningkat (*calor*), nyeri (*dolor*), dan gangguan fungsi (*functiolaesa*) (Mutschler, 1986; Wilmana & Gans, 2007).



Gambar 2.3. Gambaran Umum Inflamasi Akut dan Kronik (Benesch, 2014)

### 2.3 Inflamasi Kronik

Inflamasi dapat dibedakan menjadi dua yaitu akut dan kronik. Inflamasi akut mempunyai onset dan durasi yang lebih cepat. Inflamasi akut terjadi dengan durasi waktu beberapa menit sampai beberapa hari. Inflamasi kronik dapat lebih berbahaya dibanding inflamasi akut dan memiliki durasi yang lebih lama yaitu dalam hari hingga tahun. Inflamasi kronik ditandai dengan peningkatan jumlah limfosit dan makrofag yang berhubungan dengan proliferasi vaskular dan fibrosis (Kumar, 2007). Inflamasi akut dapat berkembang menjadi inflamasi kronik. Proses terjadinya inflamasi sebenarnya merupakan salah satu mekanisme pertahanan diri dari tubuh terhadap benda asing, tetapi jika proses ini

berlangsung secara terus menerus (kronis) justru akan merusak jaringan (Docke *et al.*, 1997; Westendorp *et al.*, 1997; Opal *et al.*, 1996; De Poll *et al.*, 1997).

## 2.4 TNF- $\alpha$

TNF adalah salah satu dari sejumlah besar sitokin, yang terlibat dalam patogenesis gangguan rematik dan inflamasi. Cara TNF bekerja adalah dengan mengikat reseptor sel dengan afinitas tinggi dan dengan kekhususan tinggi (Ivashkiv, **2003**). TNF- $\alpha$  merupakan pleiotropik yang berarti dapat memiliki efek yang sangat berbeda pada jenis sel yang berbeda pada waktu yang berbeda selama evolusi penyakit radang (Carswell *et al.*, 1975). TNF bekerja dengan mengatur aktivasi, diferensiasi, dan proliferasi sel yang penting dalam penyakit inflamasi dan juga membantu mengatur kelangsungan hidup sel. Fungsi tambahan TNF- $\alpha$  tambahan mencakup perannya dalam respon imun terhadap invasi bakteri, jamur, virus, dan parasit tertentu serta perannya dalam nekrosis tumor spesifik. TNF- $\alpha$  bertindak sebagai mediator kunci dalam respon imun inflamasi lokal (Janeway *et al.*, 1999). Lipopolisakarida dari dinding sel bakteri merupakan stimulus yang sangat potensial untuk sintesis TNF- $\alpha$  (Tracey dan Cerami, 1994). Induksi reaksi inflamasi menyebabkan terjadinya pelepasan sitokin-sitokin inflamasi kronik diantaranya, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 (Sargowo, 2012; Li *et al.*, 2016).

TNF- $\alpha$  berperan penting dalam mekanisme patogenesis sejumlah penyakit inflamasi kronik, seperti artritis reumatoid, penyakit Chron, *ankylosing spondylitis*, psoriasis, penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal serta penyakit saluran pernafasan seperti asma bronkial (Bradley, 2008). Produksi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6 yang berlebihan dapat menyebabkan inflamasi kronik bahkan

kematian (Nabilah, 2016; Li *et al.*, 2016). Kadar TNF- $\alpha$  dianalisis dengan metoda *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) (Irawati, 2014).

## 2.5 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

*Enzyme-linked immunorobent assay* (ELISA) atau nama lainnya *enzyme immunoassay* (EIA) merupakan teknik biokimia yang banyak digunakan dibidang imunologi untuk mendeteksi adanya antibodi atau antigen pada suatu sampel.

Fungsi test ELISA bukan hanya untuk mengetahui keberadaan suatu antibodi dengan antigen, tetapi juga dapat digunakan untuk mengukur kadar antibodi dengan menggunakan spektrofotometer (Sino Biological Inc, 2017).

## 2.6 Terapi Farmakologi

Antiinflamasi merupakan segala sesuatu yang digunakan untuk mengurangi peradangan, utamanya adalah obat. Mekanisme obat antiinflamasi terbagi menjadi:

- Antiinflamasi Steroid

Obat antiinflamasi golongan steroid diketahui dapat menghambat *phospholipase A2* dalam sintesis asam arakhidonat, sehingga memiliki efek antiinflamasi yang poten. Beberapa contoh obat golongan ini yaitu hidrokortison, prednison, betametason, deksametason (Katzung, 2006), namun diketahui penggunaan obat-obatan ini dalam jangka waktu yang lama justru akan mengakibatkan efek samping berupa hipertensi, osteoporosis, dan hambatan terhadap pertumbuhan. Beberapa sumber juga menyebutkan bahwa penggunaan steroid jangka panjang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker, penyakit jantung dan hati (Drugfree.org, 2017). Disebutkan pula bahwa penggunaan steroid secara topikal pada beberapa orang menunjukkan efek samping antara lain

dermatitis, diabetes mellitus dan atrofi jaringan (Judarwanto & Dewi, 2012).

• Antiinflamasi Non Steroid (AINS)

Mekanisme kerja dari golongan ini adalah menghambat enzim COX sehingga konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin terganggu.

AINS terbagi menjadi beberapa turunan yaitu turunan asam propionat (ibuprofen dan ketoprofen), turunan indol (indomethacin), turunan asam pirolealkanoat (tolmetin), turunan asam fenilasetat (diklofenak), turunan pirazolon (fenilbutazon), klasfenamat (asam meklofenamat), oksikam (piroksikam) dan prodrug asam naftilasetat (nabumeton) (Katzung, 1998).

Diklofenak adalah turunan asam fenilasetat yang secara kuat dapat menghambat siklooksigenase dengan efek antiinflamasi, analgesik dan antipiretik. Obat ini digunakan untuk peradangan kronis seperti artritis rematoid, osteoarthritis serta untuk pengobatan nyeri otot rangka yang akut (Katzung, 2004). Efek samping dari penghambatan sintesis prostaglandin pada mukosa lambung dapat menyebabkan terjadinya gangguan gastrointestinal seperti dyspepsia, mual, dan gastritis. Efek samping paling serius yaitu pendarahan gastrointestinal (Neal, 2006).

• Sitostatika

Metotreksat (MTX) merupakan sitostatika golongan antagonis asam folat yang kini dijadikan sebagai agen antiinflamasi dan imunosupresan lini pertama dalam terapi reumatoid arthritis (RA) (Kaltsonoudis, 2012).

Kemampuan methotreksat sebagai anti-inflamasi ditunjukkan dengan adanya gugusan adenine yang dilepaskan dari metotreksat. Mekanisme kerja metotreksat adalah ketika metotreksat masuk kedalam tubuh maka

akan diserap ke dalam sel. Methotreksat yang terserap kemudian akan dipecah menjadi adenosine. Dengan adanya penambahan jumlah adenosin melalui pemecahan methotreksat maka akan terjadi peningkatan jumlah adenosin didalam sel. Adenosin merupakan senyawa endogen yang diproduksi oleh sel dan jaringan yang bertanggungjawab terhadap stress fisik ataupun yang diakibatkan oleh metabolit, sehingga adenosine merupakan senyawa endogen yang berperan sebagai agen anti-inflamasi (Limanto, 2012). Efek samping MTX dosis rendah seperti yang digunakan dalam pengobatan AR umumnya jarang dijumpai, dapat timbul berupa kerentanan terhadap infeksi, nausea, vomitus, diare, stomatis, intoleransi gastrointestinal, gangguan fungsi hati, alopecia, aspermia atau leukopenia (Daud, 2000).

## 2.7 Rute Transdermal

Sediaan transdermal merupakan salah satu bentuk sistem penghantaran obat dengan cara ditempel melalui kulit. Rute penghantaran obat secara transdermal merupakan rute pilihan alternatif untuk beberapa obat, karena mempunyai beberapa keuntungan antara lain dapat memberikan efek obat dalam jangka waktu yang lama, pelepasan obat dengan dosis konstan, cara penggunaan yang mudah, dan dapat mengurangi frekuensi pemberian obat (Khan *et al.*, 2009)

Kulit terdiri dari berbagai lapisan. Lapisan paling luar dari kulit, yaitu stratum korneum, terdiri dari keratin dan dikelilingi oleh lapisan lipid interseluler sehingga sulit untuk ditembus (Walters, 2004). Agar zat aktif dari sediaan transdermal dapat masuk ke dalam kulit dan mencapai target kerjanya dengan maksimal,

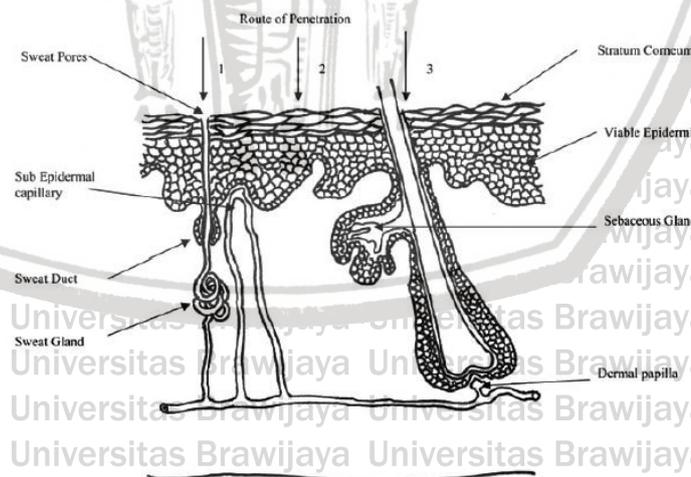
maka penetrasi zat aktif melalui kulit perlu ditingkatkan (Suwalie, 2017). Bahan obat yang dapat dihantarkan melalui rute transdermal yaitu (Patel, 2009):

- Sifat kelarutan obat rendah dalam air. Obat yang lebih larut lemak akan lebih mudah melewati stratum korneum.
- Memiliki  $\log P$  1-3: obat yang bersifat terlalu hidrofil ataupun terlalu lipofil akan sulit untuk mencapai sirkulasi sistemik.
- Bobot molekulnya kurang dari 500 Dalton: bobot molekul obat yang lebih dari 500 Dalton akan sulit menembus stratum korneum.

## 2.8 Peningkatan Permeasi Obat

Molekul obat yang kontak dengan permukaan kulit bisa menembus kulit dengan tiga jalur potensial antara lain (Benson, 2005):

1. Melalui saluran keringat
2. Langsung melintasi stratum korneum
3. Melalui folikel rambut dan kelenjar sebaceous (secara kolektif disebut rute shunt atau appendageal).



Gambar 2.4. Representasi kulit yang sederhana menunjukkan rute penetrasi: 1. Melalui saluran keringat; 2. Langsung melintasi stratum korneum; 3. Melalui folikel rambut (Benson, 2005)

### A. Optimasi Sifat Fisikokimia Obat dan Pembawa

Permeasi obat melewati stratum korneum mengikuti hukum pertama Fick (Benson, 2005):

$$\frac{dm}{dt} = J = \frac{DC_0P}{h}$$

Berdasarkan hukum pertama Fick diketahui bahwa flux obat dipengaruhi oleh koefisien difusi (D) obat pada stratum korneum, ketebalan membrane (h), koefisien partisi (P) antara stratum korneum dan pembawa serta konsentrasi obat ( $C_0$ ). Molekul yang memiliki koefisien partisi intermediate yaitu  $\log P_{\text{octanol/water}}$  1 – 3 menunjukkan kelarutan yang cukup pada bagian lipid dari stratum korneum sehingga dapat berdifusi pada lapisan ini sedangkan sifat hidrofiliknya akan membuat molekul obat dapat berpartisi pada lapisan lain dari epidermis. Permeabilitas optimal suatu obat diketahui berhubungan dengan ukuran molekul (Potts, 1992), idealnya ukuran molekul yang kurang dari 500 kDa (Bos, 2000). Ukuran molekul dapat mempengaruhi koefisien difusi dan menurunkan titik leleh sehingga mempengaruhi kelarutan (Benson, 2005). Berikut ini merupakan beberapa usaha untuk meningkatkan permeasi (Benson, 2005):

#### 1. *Prodrug* dan Pasangan Ion

Prinsip peningkatan permeasi melalui teknik *prodrug* adalah dengan *promoity*. *Promoity* merupakan desain obat yang dibuat melalui suatu pertalian bahan kimia yang labil dengan molekul. *Promoity* digunakan untuk mengubah sifat fisika obat sehingga dapat meningkatkan kelarutan obat dalam air atau lemak atau memberikan penghantaran langsung pada stratum korneum. Setelah mencapai

epidermis, gugus esterase akan dilepaskan melalui proses hidrolisis sehingga obat akan larut pada bagian epidermis yang hidrofil (Benson, 2005). Prinsip teknik pasangan ion adalah penambahan ion dengan muatan yang berbeda dari obat sehingga antara obat yang bermuatan dengan ion yang ditambahkan akan berpasangan dan membentuk molekul yang netral. Molekul yang netral akan lebih mudah permeasi melalui stratum korneum. Pasangan ion tersebut kemudian akan terdisosiasi pada bagian epidermis yang hidrofil sehingga obat kembali bermuatan dan dapat berdifusi pada lapisan epidermal dan dermal (Benson, 2005).

2. Potensi Kimia Obat dalam Pembawa Larutan Jenuh dan Supersaturasi Tingkat penetrasi kulit maksimal diperoleh saat obat berada pada aktivitas termodinamika tertingginya seperti pada larutan lewat jenuh atau supersaturasi (Benson, 2005).

3. Sistem Eutektik

Titik leleh suatu obat berhubungan dengan kelarutannya. Semakin rendah titik lelehnya maka semakin mudah obat tersebut untuk larut dalam pelarut tertentu termasuk lipid pada kulit. Titik leleh suatu obat dapat diturunkan dengan menggunakan teknik eutektik yaitu suatu teknik dengan menambahkan bahan lain sehingga terbentuk campuran yang titik lelehnya lebih rendah daripada titik leleh masing-masing komponen (Benson, 2005).

4. Pembentukan Kompleks

Pembentukan kompleks antara obat dengan siklodekstrin telah banyak digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat.

Siklodekstrin mengandung 6,7 atau 8 molekul dekstrosa ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -siklodekstrin) yang terikat pada konfigurasi 1,4 dan membentuk cincin dalam berbagai diameter). Bagian luar dari cincin tersebut bersifat hidrofilik sedangkan bagian dalamnya bersifat lipofilik sehingga molekul organik dalam ukuran tertentu dapat membentuk kompleks inklusi nonkovalen dengan siklodekstrin. Kompleks ini dapat meningkatkan kelarutan ataupun stabilitasnya. Siklodekstrin merupakan molekul besar dengan berat molekul lebih dari 1000 Da, hal ini menyebabkan kompleks diperkirakan tidak akan dapat permeasi ke kulit secara langsung. Beberapa studi menyebutkan bahwa kompleks dengan siklodekstrin terbukti dapat meningkatkan sekaligus menurunkan penetrasi ke kulit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Loftsson dan Mason menunjukkan efek penetrasi pada kulit dipengaruhi oleh konsentrasi siklodekstrin. Semakin besar konsentrasi siklodekstrin maka akan secara langsung mengurangi fluks obat yang berpenetrasi (Benson, 2005).

##### 5. Liposom dan Vesikel

Salah satu keterbatasan penghantaran obat melalui rute transdermal yaitu obat harus memiliki sifat fisikokimia yang tepat untuk dapat menembus stratum korneum dan mencapai sirkulasi sistemik. Obat harus bersifat hidrofilik maupun lipofilik sehingga dilakukan modifikasi karakter obat dengan menggunakan suatu pembawa yang bersifat amfifilik seperti liposom, transfersom, etosom, atau niosom. Bahan obat yang bersifat hidrofilik akan disimpan pada bagian hidrofilik dan juga sebaliknya (Kwatra, 2012).

## 6. Nanopartikel Lipid Padat

SLN telah banyak digunakan untuk meningkatkan permeasi *sunscreen*, vitamin A, vitamin E, triptolid dan glukokortikoid.

Peningkatan permeasi ini disebabkan karena adanya peningkatan hidrasi kulit akibat efek oklusif dari lapisan film SLN pada permukaan kulit (Benson, 2005).

### A. Modifikasi Stratum Korneum

Mekanisme suatu bahan kimia memodifikasi kondisi stratum korneum untuk meningkatkan penetrasi suatu obat disebut dengan teori *lipid-protein partitioning* (LPP) yaitu (Benson, 2005):

- Disrupsi struktur lapisan lipid bilayer interselular
- Interaksi dengan protein intraselular stratum korneum
- Perbaikan partisi obat, *coenhancer* atau kosolven dalam stratum korneum

Beberapa teknik yang dapat digunakan untuk memodifikasi kondisi stratum korneum antara lain:

#### 1) Hidrasi

Penggunaan air merupakan metode yang paling aman dan banyak digunakan untuk meningkatkan penetrasi obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Adanya penambahan jumlah air pada stratum korneum dapat mengubah kelarutan obat sehingga menyebabkan partisi obat dari pembawa ke membran. Proses hidrasi pada kulit akan menyebabkan struktur dari stratum korneum menjadi mengembang dan terbuka dengan demikian obat akan lebih mudah untuk berpenetrasi. Hidrasi kulit dapat

ditingkatkan dengan dua cara yaitu dengan menggunakan formula yang bersifat oklusif atau dengan menggunakan formula sediaan yang mengandung banyak air seperti krim minyak dalam air ataupun gel sehingga kulit menjadi terhidrasi (Benson, 2005).

#### 2) Disrupsi Lipid

Beberapa bahan kimia yang berfungsi sebagai peningkat penetrasi seperti alcohol, terpen, asam lemak, DMSO, dan azon dapat meningkatkan penetrasi dengan merusak struktur lipid pada stratum korneum. Koefisien difusi obat akan meningkat saat molekul *enhancer* membentuk rongga mikro di lapisan ganda lipid sehingga meningkatkan volume fraksi. Pada beberapa kasus, *enhancer* berpenetrasi ke dalam dan bercampur secara homogen dengan lipid. Sedangkan untuk asam oleat dan terpen pada konsentrasi yang tinggi akan masuk ke dalam lipid dan membentuk pori sehingga mengurangi resistensi untuk molekul polar (Benson, 2005).

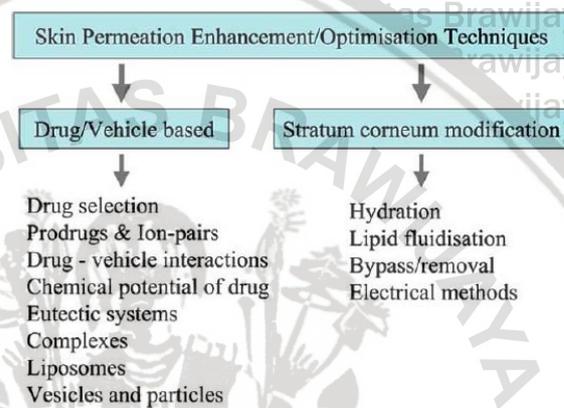
#### 3) Interaksi dengan Keratin

Selain bekerja pada bagian lipid stratum korneum, DMSO, desilmetilsulfoksid, urea dan surfaktan, juga berinteraksi dengan keratin pada korneosit. Interaksi ini menyebabkan disrupsi korneosit sehingga dapat meningkatkan koefisien difusi dan meningkatkan permeabilitas (Benson, 2005).

#### 4) Meningkatkan Partisi dan Kelarutan pada Stratum Korneum

Beberapa pelarut seperti etanol, propilenglikol dan N-metil pirolidin dapat meningkatkan partisi obat dan kelarutannya dalam stratum

korneum. Etanol adalah kosolven yang pertama digunakan dalam sistem sediaan transdermal. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan suatu pelarut yang mampu menggeser parameter kelarutan kulit ( $\delta$ ) mendekati nilai parameter kelarutan bahan obat sehingga kelarutan obat pada stratum korneum meningkat (Benson, 2005).



Gambar 2.5. Teknik untuk Mengoptimalkan Permeasi Obat di Kulit (Benson, 2005)

## 2.9 Liposom

Liposom merupakan salah satu modifikasi karakter obat menggunakan suatu pembawa yang bersifat amfifilik yang dapat membawa obat hidrofilik ataupun hidrofobik. Liposom berbentuk vesikel yang dindingnya tersusun atas molekul lipid (konstituen utamanya adalah fosfolipid) lapis ganda yang membungkus kompartemen cairan didalamnya (Jufri, 2004; Hamada, 2002).

Fosfolipid merupakan molekul yang memiliki kepala dan ekor. Bagian kepala merupakan bagian yang bersifat hidrofilik atau menarik air. Sedangkan bagian ekor merupakan bagian yang menolak air karena terbuat dari hidrokarbon. Saat membran fosfolipid terdispersi kedalam media cair, mereka dapat menyusun ulang dirinya sendiri menjadi partikel yang lebih kecil bentuk bulat yang

didalamnya terdapat droplet cairan dengan membran lapis ganda atau lapis tunggal. Inilah yang disebut sebagai liposoma (Hamada, 2002).

Liposom digunakan sebagai karier non toksik untuk alat diagnostik dan pembawa obat biokompatibel untuk meningkatkan potensi dan mengurangi toksisitas teurapeutik (Jufri, 2004). Liposom dapat dibuat dari bahan alami yang berupa turunan alami fosfolipid yang dicampur dengan rantai lemak (misalkan fosfatidilkolin) dengan cara didispersikan. Karena terbuat dari bahan alami, maka membran yang terbentuk menyerupai lipid membrane sel dan bersifat biokompatibel (biodegradasi, non toksik, dan tidak memicu respon imun) (Sjahbanar, 2000). Dalam fungsinya sebagai pengantar obat, selain meningkatkan efektifitas kerja obat dan biokompatibel, liposom juga melindungi jaringan sehat dari pengaruh obat toksik. Kelebihan inilah yang membuat liposom dijadikan pilihan yang aman dan efektif dalam pemanfaatan pada dunia medis (Darijanto, 2005).

### 2.10 Patch

*Patch* transdermal merupakan bentuk sediaan yang menghantarkan obat melalui kulit dengan mengendalikan pelepasan obat untuk pasien. Secara umum sediaan transdermal terbagi menjadi 2 macam sistem, yaitu sistem matrik dan sistem reservoir. Sistem matrik tersusun atas *backing layer*, campuran obat dan polimer, dan *adhesive layer*. Sedangkan dalam sistem reservoir tersusun atas *backing layer*, *adhesive layer*, larutan obat, dan *control rate*. Pada sistem matrik lapisan *patch* lebih sedikit dibandingkan dengan sistem reservoir, karena apabila dalam sistem reservoir perlu adanya *control rate* untuk mengatur pelepasan obat.

Sedangkan pada sistem matrik hanya bahan obat dicampur dengan polimer yang hidrofilik atau lipofilik kemudian diberi *adhesive layer* dan *patch* bisa dicetak.

Keuntungan dari sistem matrik adalah dapat mengatur pelepasan bahan aktif obat dari sediaan *patch* (Kandavili, 2002).

## 2.11 Monografi Bahan Sediaan *Patch* Ekstrak Ciplukan (*Physalis minima* L)

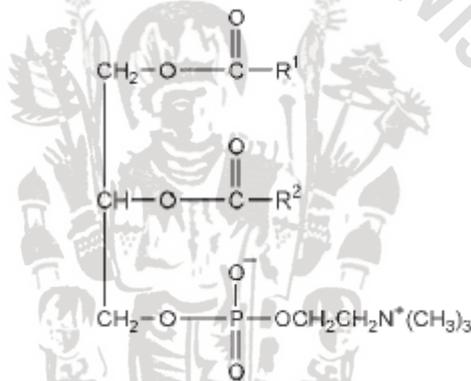
### 2.11.1 Ciplukan (*Physalis minima* L)

Secara umum kandungan yang terdapat pada akar, daun, dan batang ciplukan adalah withanone, sitosterol, stigmasterol, withaferin A, withanolide, withanolide A, physalin, physalin A, physalin B, physalin C, physalin D, physalin I, physalin L, physalindicanols, physalinicanol A withametelins, withangulatsins, vitasteroid, phygrine, withaphysalin A, withaphysalin B, withaphysalin C, withaphysalin D, dan withaphysalin E. Aktivitas farmakologi yang disebutkan dari beberapa hasil studi meliputi antiinflamasi, analgesic dan antipiretik, antiulser, antimalarial, antigonorrhea, antibakteri, antifertilitas dan sitotoksik (Chothani, 2012).

Withaphysalin A (WA) dan 2, 3-dihydrowithaphysalin C (WC) merupakan dua jenis senyawa utama dari withanolide, yang diperoleh dari fraksi antiinflamasi *P. minima* (Li *et al.*, 2016). Withanolide merupakan kelompok dari *oxygenated C28 ergostanetype steroidal lactones* yang sebagian besar terdapat pada genus *Physalis* (Alali *et al.*, 2014; Barthel *et al.*, 2016). Withanolide memiliki aktivitas biologis seperti aktivitas sitotoksik, anti-inflamasi, immunosupresif, antitumor, dan antifidan (Ma *et al.*, 2007; Choudhary *et al.*, 2010). Sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  berperan penting dalam peradangan (Qi, 2016, Liu *et al.*, 2016). WA dan WC secara signifikan menghambat produksi nitrit oksida (NO), iNOS, COX-2, prostaglandin E2 (PGE2), dan beberapa sitokin pro-inflamasi, seperti interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) yang dipicu oleh LPS pada makrofag RAW264.7 dengan cara menekan aktivasi

STAT3, translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan meningkatkan ekspresi HO-1 (Heme Oxygenase-1) (Li *et al.*, 2016). Peningkatan ekspresi HO-1 berkontribusi pada pencegahan respons inflamasi (Kim *et al.*, 2015) dan juga menekan translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan fosforilasi STAT3 sehingga menyebabkan penghambatan pada pelepasan mediator inflamasi pada tingkat protein dan mRNA (Liu *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016). Ekstrak kasar dan fraksi kloroform *Physalis minima* pada dosis 400 mg/kg per oral secara signifikan menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada tikus galur Wistar (Khan *et al.*, 2009).

### 2.11.2 Lesitin (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.6. Rumus Struktur Kimia Lesitin

Nama Kimia

: *Lecithin*

Pemerian

: *Lesitin memiliki bentuk fisik beragam, mulai dari semilikuid kental hingga serbuk, hal tersebut didasarkan pada kandungan asam lemak bebas di dalamnya. Warnanya juga bervariasi mulai dari coklat hingga kuning terang, berdasarkan pada tingkat kemurniannya. Lesitin praktis tidak berbau dan merupakan turunan dari sumber alami, serupa dengan minyak kedelai.*

**Kelarutan** : *Lesitin larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik, hidrokarbon halogenasi, minyak mineral, dan asam lemak. Lesitin praktis tidak larut dalam minyak hewan dan sayuran dingin, pelarut polar, dan air. Ketika dicampur dengan air, lesitin hidrat akan membentuk emulsi.*

**Fungsi** : *Sebagai emollient, emulsifying agent, solubilizing agent, pada liposom berfungsi mengenkapsulasi substansi obat dan merupakan sistem penghantaran obat potensial.*

**Densitas** : *0,97 g/cm<sup>3</sup> pada lesitin likuid; 0,5 g/cm<sup>3</sup> pada lesitin serbuk.*

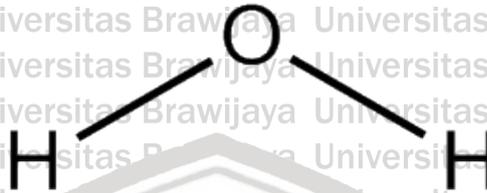
**Stabilitas** : *Lesitin terdekomposisi pada pH ekstrim dan bersifat higroskopis. Ketika dipanaskan lesitin teroksidasi, menjadi lebih gelap, dan terdekomposisi. Temperatur 160-180oC dapat menyebabkan degradasi dalam waktu 24 jam.*

**Inkompatibilitas** : *Inkompatibel dengan esterase yang menyebabkan hidrolisis.*

**Wadah dan Penyimpanan** : *Lesitin cair atau waxy harus disimpan pada suhu ruang atau lebih; suhu di bawah 10oC dapat menyebabkan pemisahan. Lesitin disimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan terindungi dari cahaya*

serta oksidasi.

### 2.11.3 Akuades (Rowe et al., 2009)



Gambar 2.7. Rumus Struktur Kimia Aquades

Nama Kimia	: <i>Water</i>
Sinonim	: <i>Aqua; aqua purificata; hidrogen oksida</i>
Rumus Molekul	: $\text{H}_2\text{O}$
Berat Molekul	: 18,02
Pemerian	: Cairan jernih, tidak berbau, tidak berwarna, dan tidak berasa.
Fungsi	: Digunakan secara luas sebagai <i>raw material</i> , pelarut, pembuatan produk farmasi, dan reagen analitik.
Titik Didih	: $100^\circ\text{C}$
Titik Leleh	: $0^\circ\text{C}$
Stabilitas	: Air secara kimia stabil baik dalam bentuk es, cairan, dan uap air.
Inkompatibilitas	: Air dapat bereaksi dengan obat dan eksipien lainnya yang mudah mengalami hidrolisis (terdekomposisi)

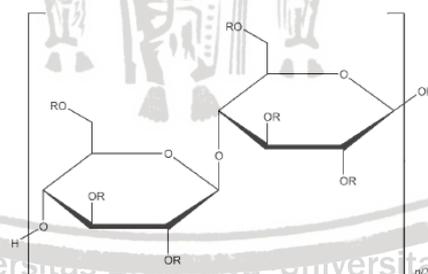
dengan adanya air atau kelembapan) pada suhu lingkungan dan suhu tinggi. Air dapat bereaksi dengan logam alkali dan logam alkalin serta oksidanya, seperti kalsium oksida dan magnesium oksida.

Wadah dan Penyimpanan : Sistem penyimpanan dan distribusi harus memastikan bahwa air terlindungi dari kontaminasi

ionik dan organik, dimana dapat menyebabkan meningkatnya konduktivitas dan total karbon organik.

Selain itu, juga harus terlindungi dari partikel asing dan mikroorganisme sehingga dapat mencegah atau meminimalkan tumbuhnya mikroba. Air dengan tujuan penggunaan khusus harus disimpan dalam wadah yang sesuai.

#### 2.11.4 HPMC (Hidroksipropil metilselulosa) (Rowe *et al.*, 2009)



where R is H, CH<sub>3</sub>, or CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>

Gambar 2.8. Rumus Struktur Kimia HPMC

Nama Kimia : *Cellulose hydroxypropyl methyl*

Sinonim : *MHPC; HPMC; hypromellose; Methocel; Metolose;*

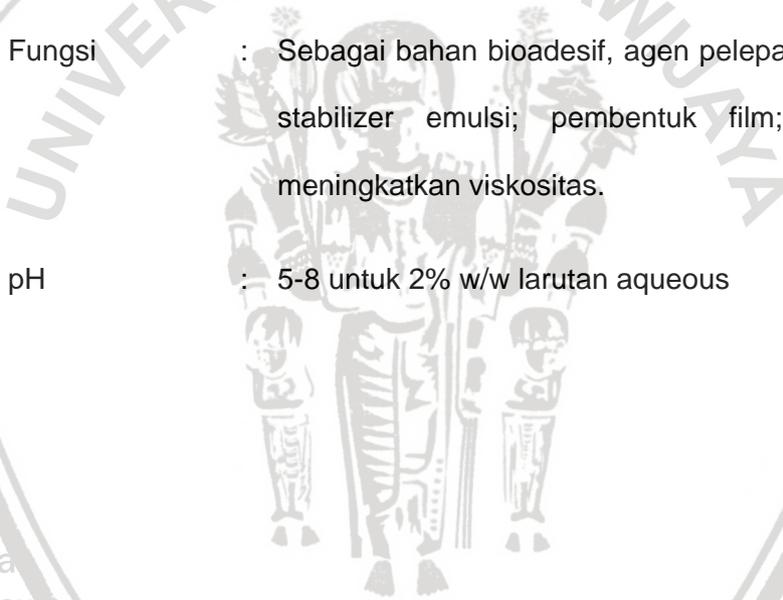
*Pharmacoat.*

Pemerian : Serbuk granul tidak berbau dan tidak berasa, berwarna putih atau krem berserat.

Kelarutan : Dapat larut dalam air dingin, membentuk larutan koloid kental; praktis tidak larut dalam air panas, kloroform, etanol (95%), dan eter, namun larut dalam campuran air dan alkohol, metanol dan diklorometana, serta etanol dan diklorometana.

Fungsi : Sebagai bahan bioadesif, agen pelepasan terkontrol; stabilizer emulsi; pembentuk film; agen yang meningkatkan viskositas.

pH : 5-8 untuk 2% w/w larutan aqueous



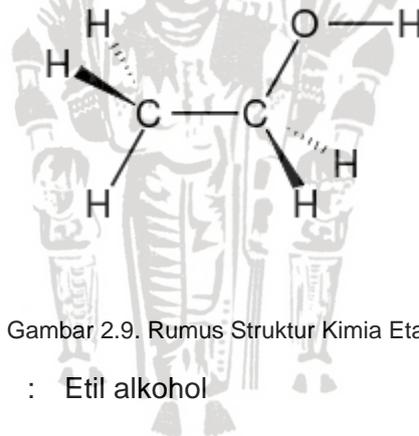
**Titik Leleh** : Kering (berwarna coklat) pada suhu 190-200°C;  
hangus pada suhu 225-230°C.

**Stabilitas** : HPMC merupakan bahan yang stabil, meskipun higroskopis setelah proses pengeringan. Larutan stabil pada pH 3-11.

**Inkompatibilitas** : Inkompatibel dengan beberapa agen oksidasi

**Wadah dan Penyimpanan** : Serbuk HPMC disimpan di wadah yang tertutup rapat pada tempat yang sejuk dan kering.

#### 2.11.5 Etanol (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.9. Rumus Struktur Kimia Etanol

**Nama Kimia** : Etil alkohol

**Sinonim** : Etil alkohol

**Rumus Molekul** : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

**Berat Molekul** : 46,0414

**Pemerian** : Cairan tidak berwarna, berbau alkohol dan berbau menyenangkan.

**Kelarutan** : Larut dalam air, eter, aseton, kloroform, minyak atau lemak, metanol, dan asam.

**Fungsi** : Pelarut

**Titik Didih** : 780C

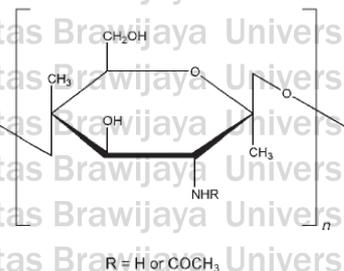
**Titik Leleh** : -1150C

**Stabilitas** : Bersifat higroskopis secara kimia, stabil di bawah temperatur normal.

**Inkompatibilitas** : Inkompatibel dengan agen oksidasi kuat, asam, logam alkali, amonia, peroksida, natrium, asam anhidrat, kalsium hipoklorit, kromil klorida, asam permanganat, dan kalium dioksida.

**Wadah dan Penyimpanan** : Dijauhkan dari pemanasan, cahaya, dan api. Disimpan dalam wadah tertutup rapat pada tempat yang sejuk, kering, dan area ventilasi yang baik, tidak boleh disimpan berdekatan dengan perklorat, peroksida, asam kromat atau asam nitrat.

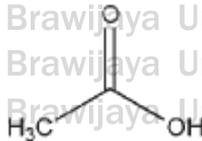
#### 2.11.6 Kitosan (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.10. Rumus Struktur Kimia Kitosan

- Nama Kimia : *Poly- $\beta$ -(1,4)-2-Amino-2-deoxy-D-glucose*
- Sinonim : *2-Amino-2-deoxy-(1,4)- $\beta$ -D-glucopyranan; chitosani hydrochloridum; deacetylated chitin; deacetylchitin;  $\beta$ -1,4-poly-D-glucosamine; poly-D-glucosamine; poly-(1,4- $\beta$ -D-glucopyranosamine)*
- Pemerian : Serbuk berwarna putih dan tidak berbau
- Kelarutan : Sedikit larut dalam air; praktis tidak larut dalam etanol (95%), pelarut organik lainnya, dan pelarut alkali pada pH di atas 6,5.
- Fungsi : Agen pembentuk film, mukoadesif, meningkatkan viskositas, dan disintegran.
- pH : 4-6 untuk 1% w/v larutan
- Stabilitas : Serbuk kitosan merupakan bahan stabil pada suhu ruang, bersifat higroskopis setelah proses pengeringan.
- Inkompatibilitas : Inkompatibel dengan agen oksidasi kuat
- Wadah dan Penyimpanan : Kitosan disimpan dalam wadah tertutup rapat pada tempat yang sejuk dan kering. PhEur 6.5 menetapkan bahwa kitosan harus disimpan pada suhu 2-8oC.

### 2.11.7 Asam Asetat (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.11. Rumus Struktur Kimia Asam Asetat

Nama Kimia : Asam etanolat

Sinonim : asam asetat glasial; E260; asam etanolat; asam vinegar; *methane carboxylic acid*.

Pemerian : Asam asetat glasial merupakan larutan jernih, tidak berwarna, dan volatil dengan bau yang tajam

Kelarutan : Dapat bercampur dengan etanol, eter, gliserin, air, dan minyak volatil.

Fungsi : *Acidifying agent*

Titik didih : 118°C

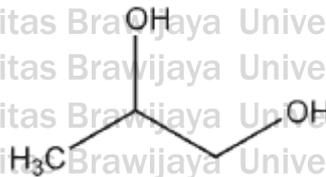
Titik Leleh : 17°C

Stabilitas : -

Inkompatibilitas : Asam asetat bereaksi dengan substansi alkalin.

Wadah dan Penyimpanan : Asam asetat disimpan dalam wadah tertutup rapat pada tempat yang sejuk dan kering.

### 2.11.8 Propilen Glikol (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.12. Rumus Struktur Kimia Propilen Glikol

Nama Kimia	: 1,2-Propanediol; (-)-1,2-Propanediol; (+)-1,2-Propanediol
Sinonim	: metil etilen glikol; metil glikol; propilenglikolum; 1,2-Dihidroksipropana; 2-hidroksipropanol.
Pemerian	: Cairan jernih, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, rasanya manis dan tajam seperti gliserin.
Kelarutan	: Dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air; larut pada 1 dalam 6 bagian eter; tidak bercampur dengan minyak mineral, namun dapat melarutkan beberapa minyak esensial.
Fungsi	: Plasticizer dalam formulasi salut film; Pengawet antimikroba, pelarut, agen penstabil.
Titik didih	: 188oC
Titik Leleh	: -59oC
Stabilitas	: Bersifat higroskopis. Propilen glikol stabil dalam wadah tertutup rapat pada suhu sejuk, namun pada

suhu tinggi dapat menyebabkan terjadinya oksidasi.

Propilen glikol secara kimia stabil ketika bercampur

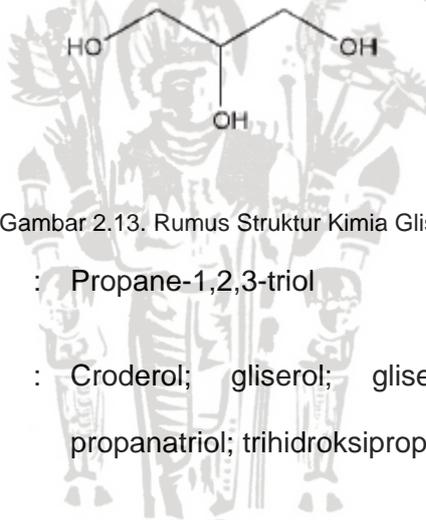
dengan etanol (95%), gliserin, atau air.

**Inkompatibilitas :** Inkompatibel dengan reagen oksidasi seperti kalium permanganat.

**Wadah dan :** Disimpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung dari

**Penyimpanan** cahaya pada tempat yang sejuk dan kering.

### 2.11.9 Gliserin (Rowe *et al.*, 2009)



Gambar 2.13. Rumus Struktur Kimia Gliserin

**Nama Kimia :** Propane-1,2,3-triol

**Sinonim :** Croderol; gliserol; gliserin; gliserolum; 1,2,3-propanatriol; trihidroksipropana gliserol.

**Pemerian :** Cairan jernih, kental, tidak berbau, higroskopis, dan memiliki rasa manis 0,6 kali lebih manis daripada sukrosa.

**Kelarutan :** Larut dalam etanol (95%) dan air; praktis tidak larut dalam minyak, benzena, dan kloroform; serta sukar larut dalam aseton.

**Fungsi :** Emollient, humektan, pelarut, plasticizer, kosolven,

dan pengawet antimikroba.

Titik didih : 290oC (dengan dekomposisi)

Titik Leleh : 17,8oC

Stabilitas : Gliserin bersifat higroskopis. Gliserin murni tidak mudah teroksidasi oleh udara di bawah kondisi penyimpanan biasa, namun dapat terdekomposisi pada pemanasan dengan evolusi akrolein toksik. Campuran gliserin dengan air, etanol (95%) dan propilen glikol secara kimia stabil.

Inkompatibilitas : Kontaminan besi pada gliserin responsibel menjadi berwarna gelap dalam campuran yang mengandung fenol, salisilat, dan tanin. Gliserin membentuk kompleks asam borat dan asam gliseroborat, dimana merupakan asam yang lebih kuat dibanding asam borat.

Wadah dan Penyimpanan : Disimpan pada wadah kedap udara, tempat yang sejuk dan kering.

## 2.12 Complete Freund's Adjuvant (CFA)

Complete Freund's Adjuvant (CFA) merupakan emulsi air-dalam-minyak mengandung mikobakteri yang telah dibunuh dengan pemanasan (*heat-killed*), atau komponen dinding sel mikobakteria, efektif dalam menginduksi respon antibody selular dan humoral. CFA dapat menyebabkan inflamasi lokal dan reaksi granuloma pada tempat injeksi, inflamasi kronik, luka pada kulit, abses

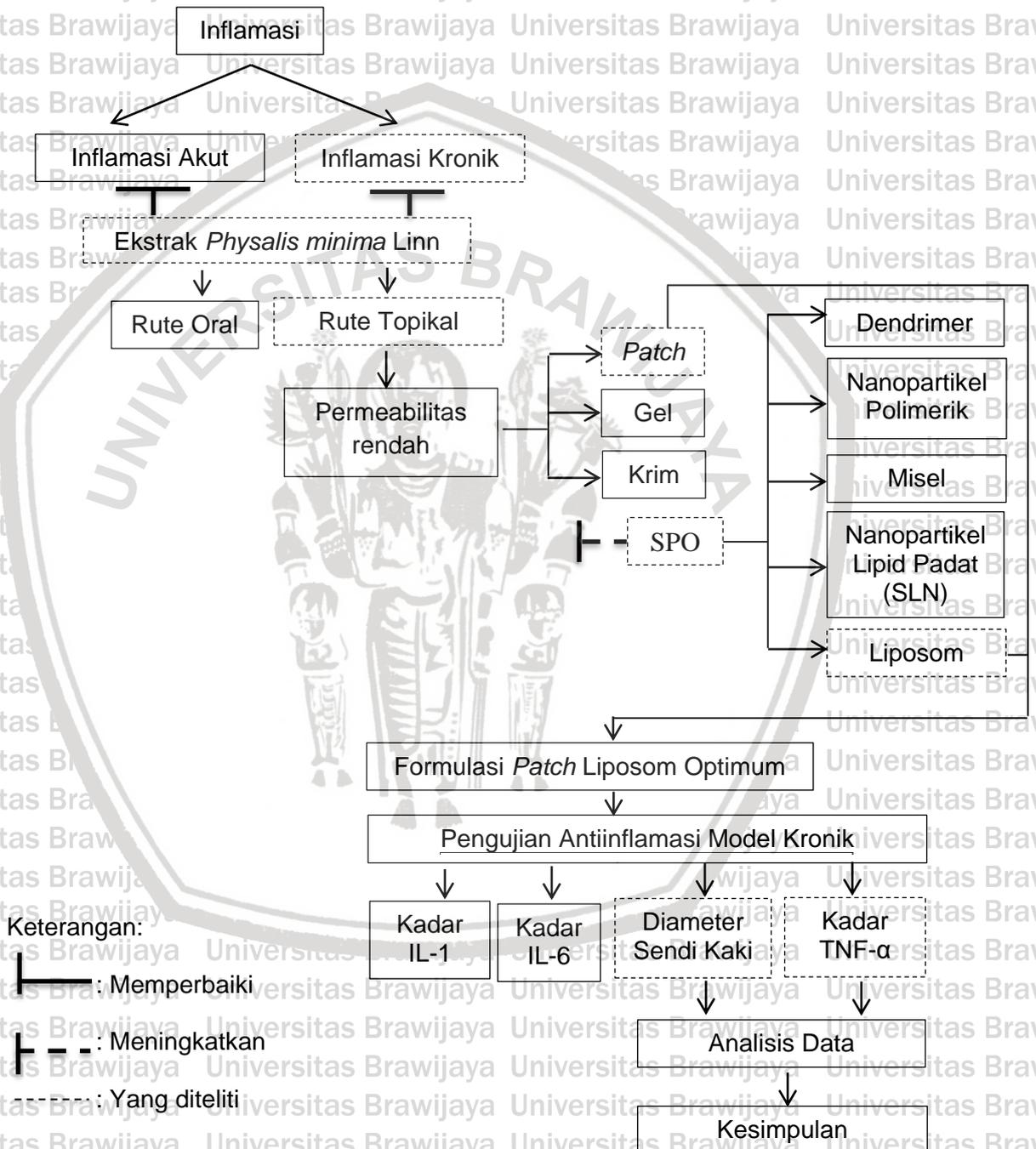
lokal atau kerusakan jaringan, difusi granuloma sistemik akibat migrasi emulsi minyak dan arthritis akibat *adjuvant*. Formulasi CFA yang tersedia secara komersial mencapai 0,5 mg/ml mikobakteria dan telah sukses digunakan dalam model arthritis pada tikus sebagai hewan uji, konsentrasi < 0,1 mg/ml direkomendasikan untuk meminimalisasi inflamasi dan nekrosis akibat konsentrasi yang tinggi (Guidelines for the Research Use of Adjuvants, 2005).



### BAB III

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka, dan kerangka konsep diatas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Ekstrak daun dan tangkai ciplukan (*Physalis minima* L.) yang diformulasi dalam sediaan *patch* liposom memiliki efek untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter pada model tikus inflamasi kronik dengan metode *adjuvant induced arthritis*
2. Dosis ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) 600 mg/kgBB tikus dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.



## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium secara *in-vivo* dengan rancangan eksperimen sebenarnya (*True Experimental Design*) jenis *pre & post-test control group design*.

### 4.2 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini digunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Jenis hewan coba yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah hewan coba yang memiliki kriteria sebagai berikut:

Kriteria inklusi :

- Tikus putih *Rattus norvegicus* strain Wistar
- Berbadan sehat
- Jenis kelamin jantan
- Usia 8-12 minggu
- Berat badan antara 200-350 gram
- Gerak aktif dan lincah
- Tidak memiliki kecacatan

Kriteria eksklusi :

- Tikus yang sebelumnya pernah menjadi subjek penelitian
- Tikus dengan arthritis sebelum dilakukan induksi arthritis
- Tikus yang mengalami infeksi sebelum perlakuan ditandai dengan pembengkakan pada nodus limfe, adanya luka, dan timbul kemerahan pada daerah luka.

Penentuan kriteria-kriteria tersebut ditetapkan berdasarkan:

1. Secara anatomis dan fisiologi tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar memiliki sistem imunologi yang mirip dengan manusia.
2. Berbadan sehat karena apabila tikus yang digunakan sedang sakit maka pemeriksaan TNF- $\alpha$  akan menjadi bias.
3. Tikus yang digunakan berjenis kelamin jantan agar tidak terganggu oleh adanya pengaruh hormon.

Subjek penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok inflamasi kronik yang dibagi menjadi

3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Jumlah masing-masing

kelompok dihitung menggunakan rumus Federer (Federer, 1995):

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20 \quad r \geq 4$$

Keterangan:

t : Jumlah perlakuan

r : Jumlah tiap kelompok

Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan bahwa jumlah tiap kelompok

minimal adalah 4 untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini

digunakan 5 tikus untuk masing-masing kelompok sehingga jumlah total

tikus yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 30 tikus. Pembagian

kelompok dari 30 tikus dilakukan secara acak ke dalam 6 kelompok.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah sediaan *patch* liposom ekstrak *Physalis minima* L dalam berbagai dosis.

#### 4.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah Ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki kanan tikus.

### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Brawijaya yaitu Laboratorium Farmasi, dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian berlangsung antara bulan November 2017 hingga Desember 2017.

### 4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak *Physalis minima* L. (UPT Materia Medica Batu), propilen glikol, gliserin (PT. Brataco Chemika), hidroksipropil metilselulosa (Sinnebord Rafine Product), etanol 70% (PT. Brataco Chemika), asam asetat (PT. Brataco Chemika), lesitin kedelai (Fischer Scientific), akuades (Hydrobatt), kitosan (Bio Chitosan Corp Asia), tikus wistar jantan, pakan dan minum tikus, Complete Freund's Adjuvant 0,1% (*Sigma-Aldrich*), natrium diklofenak (CV. Cipta Anugrah), TNF- $\alpha$  ELISA Kit with Pre-coated Plates (*LEGEND MAX<sup>TM</sup> Rat*).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (Mettler Toledo), magnetic stirrer (Arec Velp Scientific), stirring hotplate (Fisher Scientific), sonikator (SONICA), refrigerator, ultraturrax (IKA), jangka sorong digital, vortex (QLS MX-2500), centrifuge (Gyrozen 1730R), ELISA Reader

(ZENIX-320 Microplate Reader), micropipet multichannel (Gilson), shaker-mixer (WINA Instruments Type 207), spuit 1 ml, spuit 10 ml, kawat yang dilengkapi dengan bak plastik, tempat makanan dan tempat minuman.

#### 4.6 Definisi Istilah / Operasional

1. *Physalis minima* L. atau yang lebih dikenal dengan tanaman ciplukan merupakan tanaman obat penting yang secara tradisional digunakan sebagai obat herbal di China dan India untuk pengobatan inflamasi. Kandungan ekstrak *Physalis minima* L. diketahui berpengaruh dalam menurunkan respon inflamasi.
2. Liposom merupakan suatu vesikel berair yang dikelilingi oleh membran lipid ganda unilamellar atau multilamellar, terbentuk secara spontan ketika forfolipid dihidrasi dengan sejumlah air. Dalam penelitian ini liposom dibuat dengan menggunakan lesitin.
3. *Complete Freund's Adjuvant* merupakan agen yang mengandung bakteri *heat-killed Mycobacterium tuberculosis* yang disuspensikan dalam minyak mineral. CFA yang digunakan diperoleh dari Sigma-Aldrich dengan nomor produk F5881-10ML.
4. Parameter Inflamasi yang diamati pada penelitian ini adalah ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik.
5. Ekspresi TNF- $\alpha$  dalam penelitian ini merupakan hasil kuantifikasi menggunakan *LEGEND MAX™ Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kit with Pre-coated Plates* dengan nomor Lot B233166.
6. *Patch* merupakan bentuk sediaan yang menghantarkan obat melewati kulit dengan kecepatan yang dapat dikontrol. Patch dalam penelitian ini

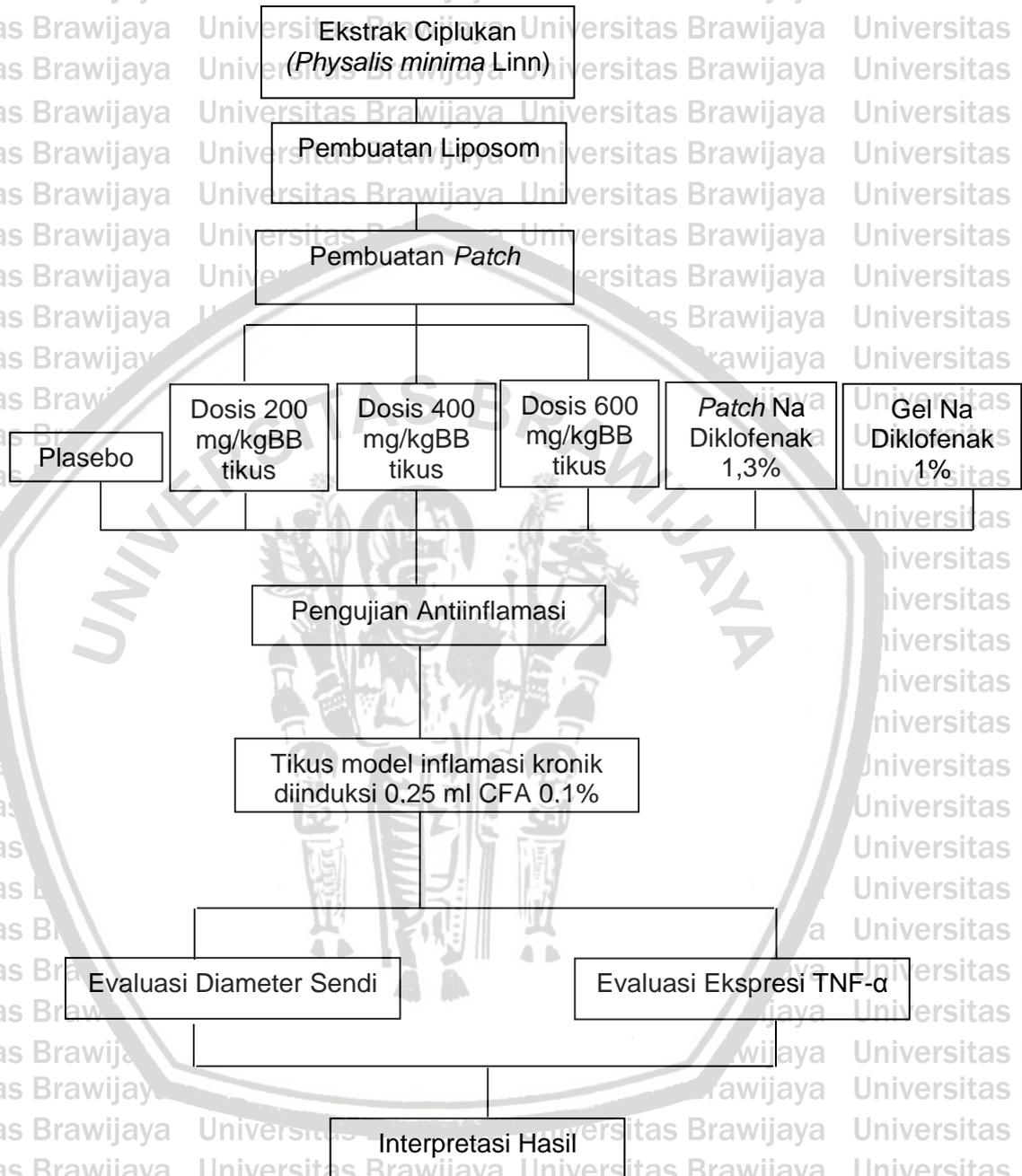
dibuat dengan menggunakan liposom ekstrak, chitosan, HPMC, gliserol, propilen glikol, asam asetat glasial dan larutan air : etanol.

7. Diameter sendi kaki diukur menggunakan jangka sorong digital dengan satuan milimeter untuk mengukur perkembangan inflamasi yang terjadi.

Pengukuran dilakukan dengan mengambil diameter terbesar pada daerah sendi kaki tikus.



#### 4.7 Skema Kerja



## 4.8 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

### 4.8.1 Pembuatan dan Analisis Kandungan Ekstrak Daun dan Tangkai

#### *Physalis minima*

Simplisia daun dan tangkai *Physalis minima* diperoleh dari UPT Materia Medica Kota Batu, Jawa Timur. Proses identifikasi dan verifikasi dilakukan oleh UPT Materia Medica Kota Batu, Jawa Timur. Simplisia daun dan tangkai *Physalis minima* dikeringkan dan ditimbang sejumlah 200 gram dan dimasukkan ke dalam *thimble extractor*. Kemudian *thimble extractor* dipasang dalam kolom tempat bahan. Dimasukkan 2 L etanol 95%. Air pendingin dijalankan, pemanas listrik dihidupkan dan ekstraksi secara soxhletasi dimulai. Dibutuhkan waktu 8 jam untuk prosedur ekstraksi. Ekstraksi diakhiri jika warna ekstrak yang nampak pada sifon berhenti berubah. Setelah ekstraksi *soxhlet* berakhir, labu penampung berisi ekstrak dilepas, dan ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 1 jam sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 118 ml (UPT Materia Medica Batu, 2016).

### 4.8.2 Pembuatan liposom ekstrak *Physalis minima* L

Pembuatan liposom ekstrak ciplukan menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Ekstrak *Physalis minima* L diperoleh dari materia medika, Batu. Ekstrak dicampurkan dengan lesitin sesuai dengan perbandingan yang telah ditetapkan yaitu 1:2 menggunakan aquades sebagai pelarutnya. Pengadukan memakai *magnetic stirrer* selama 40 menit dengan kecepatan 700 rpm. Kemudian diaduk menggunakan ultraturrax selama 30 menit dengan kecepatan 15000 rpm untuk memperkecil dan menghomogenkan campuran ekstrak dan lesitin. Tahap terakhir yaitu sonikasi selama 30 menit untuk memperoleh ukuran dibawah 100

mikrometer (Dwiastuti, 2016). Dilakukan formulasi liposom dengan perbandingan jumlah lesithin dan ekstrak seperti dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1. Perbandingan Jumlah Komponen Pembentuk Liposom Ekstrak *Physalis minima* L.

RASIO (mg)
Lesithin : Ekstrak
100 : 50

#### 4.8.3 Pembuatan *Patch* Liposom Ekstrak *Physalis minima* L.

Pembuatan *patch* liposom ekstrak *Physalis minima* L dilakukan dengan menggunakan kombinasi chitosan dan HPMC sebagai polimer yang berfungsi dalam mengontrol laju pelepasan obat serta gliserol sebagai plasticizer. Tahap awal pembuatan *patch* dilakukan dengan mencampurkan 1 gram chitosan dalam 30 ml larutan asam asetat glasial 1% kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 350 rpm selama 13 menit. Kemudian larutan air : etanol (4 : 1) ditambahkan kedalam 1 gram HPMC lalu diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm selama 2 menit. Selanjutnya larutan HPMC ditambahkan kedalam larutan chitosan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 350 rpm selama 3 menit. Setelah itu ditambahkan 3 gram gliserol, 0,3 gram propilen glikol dan liposom 1500 mg ekstrak *Physalis minima* L dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 700 rpm selama 6 menit. Campuran tersebut kemudian dituang ke dalam cawan petri dan disimpan dalam oven suhu 40°C sampai bobot *patch* konstan (Madhulata, 2013). *Patch* kemudian disimpan dalam desikator sampai waktu penggunaan. Perbedaan formula *patch* yang akan dibuat seperti yang dijelaskan dalam tabel 4.2. dibawah ini.

Tabel 4.2. Formula *Patch* Liposom Ekstrak *Physalis minima* L

Bahan	Formula 1 <i>Patch</i>	Formula 30 <i>Patch</i>
Liposom ekstrak	34,5 ml (1500 mg)	1035 ml (45 g)

	ekstrak)	ekstrak)
Chitosan	1 gram	30 gram
HPMC	1 gram	30 gram
Gliserol	3 gram	90 gram
Propilen glikol	0,3 gram	9 gram
Asam asetat glasial	30 ml	900 ml
Larutan Air : Etanol	4 ml : 1 ml	120 ml : 30 ml

#### 4.8.4 Pengkondisian Hewan Coba

Tikus jantan galur wistar berusia 8-12 minggu dengan bobot 200-350 gram yang diberi pakan dan minum secara normal serta dipelihara di ruang pemeliharaan dengan sirkulasi udara yang baik.

#### 4.8.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi *Patch* Liposom Ekstrak *Physalis minima* L.

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) terhadap tikus wistar pada penelitian ini dinyatakan laik etik dan memperoleh persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yaitu No. 306 / EC / KEPK / 08 / 2017.

##### 4.8.5.1 Pembagian Kelompok Tikus

Pengujian aktivitas *patch* liposom ekstrak *Physalis minima* L sebagai antiinflamasi dilakukan dengan menggunakan model inflamasi kronik dengan metode *adjuvant induced arthritis*. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok eksperimen. Kelompok kontrol dibagi menjadi kontrol positif (2 kelompok) dan kontrol negatif. Kelompok kontrol positif diberikan *patch* dengan bahan aktif na diklofenak yang sudah diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat enzim COX-2 dalam bentuk *patch* 1,3% na diklofenak dan gel 1% na diklofenak. Kelompok kontrol negatif yaitu yang tidak mendapatkan terapi namun tetap diberikan *patch placebo*. Kelompok eksperimen

dibagi menjadi 3 dengan perbedaan dosis ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L) pada masing-masing kelompok.

#### 4.8.5.2 Penentuan Dosis

Dosis ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L) yang dapat menurunkan inflamasi pada tikus secara signifikan adalah 400 mg/kgBB dengan rute oral (Khan *et al*, 2009) sehingga pada 3 kelompok eksperimen digunakan 3 dosis yang berbeda yaitu 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 600 mg/kgBB.

#### 4.8.5.3 Model Inflamasi Kronik

CFA dapat menyebabkan inflamasi lokal dan reaksi granuloma pada tempat injeksi, inflamasi kronik, luka pada kulit, abses lokal atau kerusakan jaringan, difusi granuloma sistemik akibat migrasi emulsi minyak dan arthritis akibat *adjuvant*. CFA yang diinduksi pada tikus wistar jantan 0,1 ml melalui intradermal pada hari ke-0 kurang adekuat dalam menyebabkan peradangan (Widodo, 2016) sehingga dosis yang digunakan untuk penelitian ini adalah 0,25 ml.

#### 4.8.5.4 Pengukuran Diameter Sendi Kaki Tikus

Sebelum pengujian dilakukan, bobot tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Tikus kondisikan terlebih dahulu selama 7 hari. Dilakukan pengukuran diameter awal kaki tikus sebagai Do. Kemudian setiap tikus diinduksi dengan menggunakan suspensi *complete Freund's adjuvant* (CFA) 0,1% sebanyak 0,25 ml secara *intraplantar* yang berfungsi untuk menginduksi inflamasi kronik pada kaki kanan tikus. Pengamatan terhadap diameter sendi kaki tikus dilakukan sampai hari ke-29. Mulai hari ke-8 pengamatan, pada kaki tikus diaplikasikan *patch* dengan ukuran *patch* 2,5 cm x 2 cm untuk dosis 40 mg/200 gramBB tikus, 80 mg/200 gramBB tikus, dan 120

mg/200 gramBB tikus. Pengukuran sendi dilakukan tiap hari pada hari ke 1 hingga 8 dan 3 hari sekali pada hari ke 8 hingga 29 dengan menggunakan jangka sorong digital dengan satuan milimeter untuk mengukur inflamasi yang terjadi. Pengukuran dilakukan dengan mengambil diameter terbesar pada daerah sendi kaki tikus (Khan, 2012).

#### 4.8.5.5 Evaluasi Kadar TNF- $\alpha$

Evaluasi kadar TNF- $\alpha$  dilakukan pada masing-masing hewan yang telah diambil sampel plasma dari darah yang diambil melalui mata pada hari ke-0 (T0), pada hari ke-5 (T5) dan darah dari jantung pada hari ke-29 (T42) dengan menggunakan teknik ELISA. Keuntungan pengambilan sampel darah melalui mata tikus yaitu dapat menghasilkan volume darah dalam jumlah sedang sampai besar, cepat karena sejumlah besar hewan dapat berdarah dalam waktu singkat, koleksi sampel steril mungkin dilakukan, kualitas sampel bagus (IACUC Blood Collection Subcommittee, 2014; Sharma, 2014).

#### 4.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini diolah dengan menggunakan program SPSS 20. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang didapatkan dari hasil penelitian terdistribusi normal atau tidak. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *Shapiro Wilk Test*, dimana jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 menunjukkan data yang dihasilkan terdistribusi normal (Field, 2009). Pada penelitian ini digunakan nilai  $\alpha$  sebesar 0,05. Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah variasi data antar kelompok sampel memiliki varians yang homogen atau tidak. Pengujian dilakukan menggunakan *Levene's Test*, dimana jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 menunjukkan data antar kelompok tidak homogen (Field, 2009).

Pada penelitian ini digunakan nilai  $\alpha$  sebesar 0,05. Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada pemberian *patch* liposom ekstrak ciplukan dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter pada model tikus inflamasi kronik. Syarat melakukan uji statistik ini yaitu variabel terikat dari kelompok yang diuji adalah numerik, data terdistribusi normal, dan varians harus homogen (Gaur and Gaur, 2009). Jika salah satu persyaratan tidak terpenuhi, dapat dilakukan analisa statistik nonparametrik yaitu *Kruskal-Wallis Test*. Apabila nilai  $F_{hitung}$  sama atau lebih besar dari  $F_{tabel}$  pada nilai  $\alpha$  yang ditentukan maka terdapat sedikitnya satu kelompok yang berbeda dari lainnya (Bolton and Bon, 2010). Apabila nilai signifikansi dari hasil uji *One Way ANOVA* kurang dari 0,05 menunjukkan rata-rata antar kelompok berbeda secara signifikan (Field, 2009). Pada penelitian ini digunakan nilai  $\alpha$  sebesar 0,05. Kemudian dilakukan uji *Post Hoc* yaitu *Tukey's Multiple Range Test* untuk mengetahui nilai perbedaan rata-rata antar kelompok (Gaur & Gaur, 2009). Jika nilai signifikansi dari hasil uji ini kurang dari 0,05 maka rata-rata antar kelompok yang dibandingkan berbeda (Field, 2009).

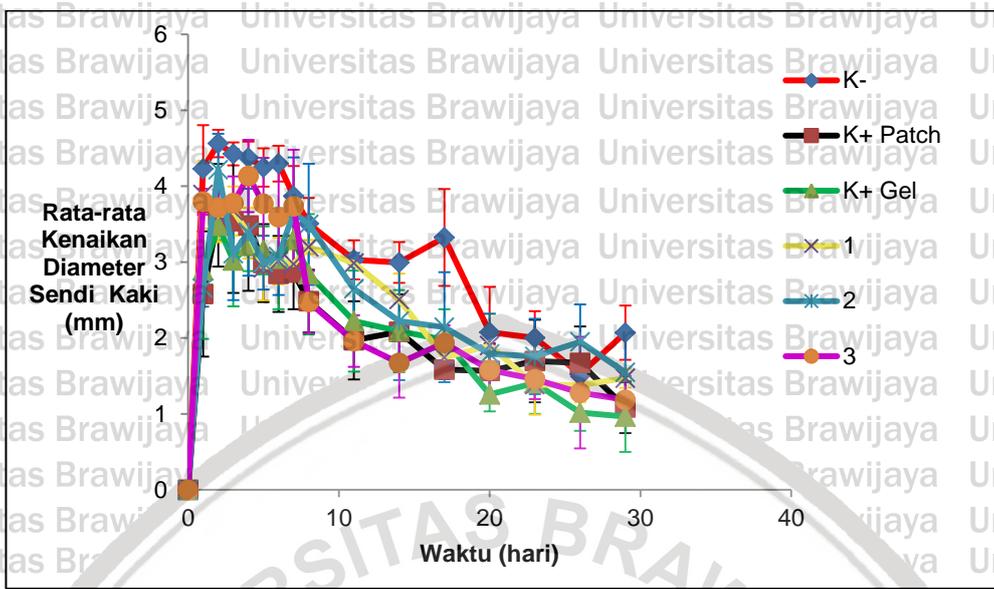
## **BAB V**

### **HASIL DAN ANALISIS DATA**

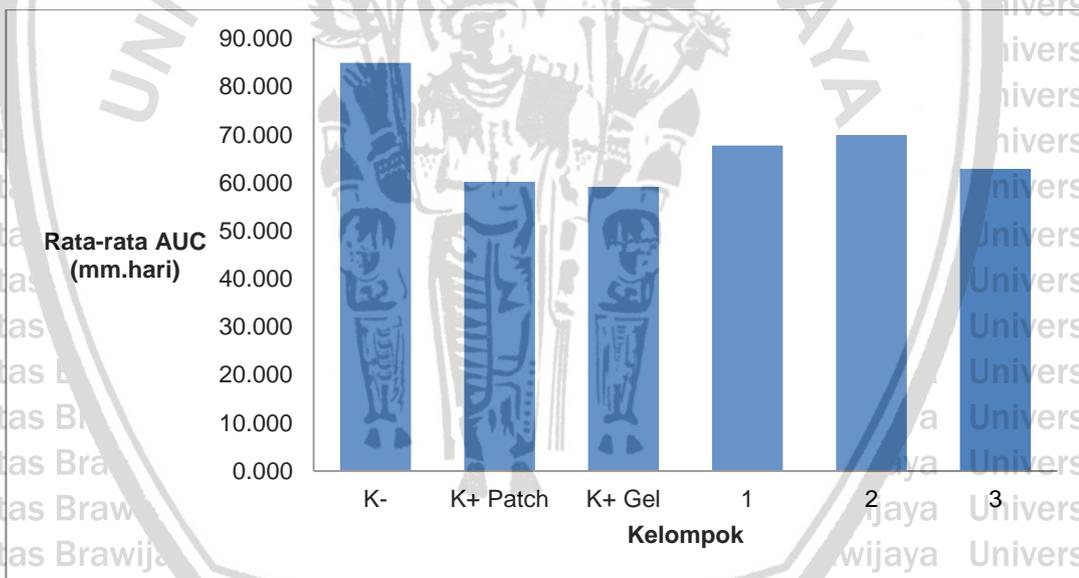
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek pemberian *patch* liposom ciplukan terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada tikus yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Dalam penelitian ini sampel dibagi dalam enam kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak, kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak, kelompok perlakuan 1 (200 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (400 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan 3 (600 mg/kgBB). Terapi diberikan sehari sekali secara transdermal sampai hari ke-29.

#### **5.1 Hasil Pengukuran Diameter Sendi Kaki Tikus**

Pengukuran kenaikan diameter sendi kaki tikus dilakukan dengan tujuan untuk melihat terjadinya inflamasi kronik. Grafik rata-rata kenaikan diameter sendi kaki kanan tikus terdapat pada Gambar 5.1. dan grafik rata-rata AUC diameter sendi kaki tikus yang telah diterapi selama 29 hari terdapat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.1. Grafik Rata-rata Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29



Gambar 5.2. Grafik Rata-rata AUC Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29

Tabel 5.1. Tabel Rata-rata AUC Kenaikan Diameter Sendi Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29

	K-	K+ Patch	K+ Gel	1	2	3
Rata-rata AUC (mm.hari)	84,98	60,23	59,16	67,78	69,96	62,91

Berdasarkan Gambar 5.1. dapat dilihat grafik rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus pada semua kelompok. Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok kontrol negatif terjadi pada hari ke-2 dan ke-6 yaitu sebesar  $4,56 \pm 0,18$  mm dan  $4,30 \pm 0,24$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus menjadi  $2,07 \pm 0,36$  mm.

Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak terjadi pada hari ke-2 dan ke-7 yaitu sebesar  $3,62 \pm 0,68$  mm dan  $2,86 \pm 0,48$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak menjadi  $1,09 \pm 0,34$  mm.

Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok kontrol positif natrium diklofenak terjadi pada hari ke-3 dan ke-7 yaitu sebesar  $3,48 \pm 0,86$  mm dan  $3,30 \pm 0,45$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak menjadi  $0,97 \pm 0,47$  mm.

Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 1 terjadi pada hari ke-1 dan ke-8 yaitu sebesar  $3,89 \pm 0,45$  mm dan  $3,20 \pm 0,09$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 1 menjadi  $1,47 \pm 0,13$  mm.

Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 2 terjadi pada hari ke-2 dan ke-7 yaitu sebesar  $4,22 \pm 0,47$  mm dan  $3,66 \pm 0,72$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 2 menjadi  $1,55 \pm 0,48$  mm.

Puncak rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 3 terjadi pada hari ke-4 dan ke-7 yaitu sebesar  $4,14 \pm 0,48$  mm dan  $3,75 \pm 0,75$

mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus kelompok perlakuan 3 menjadi  $1,19 \pm 0,32$  mm.

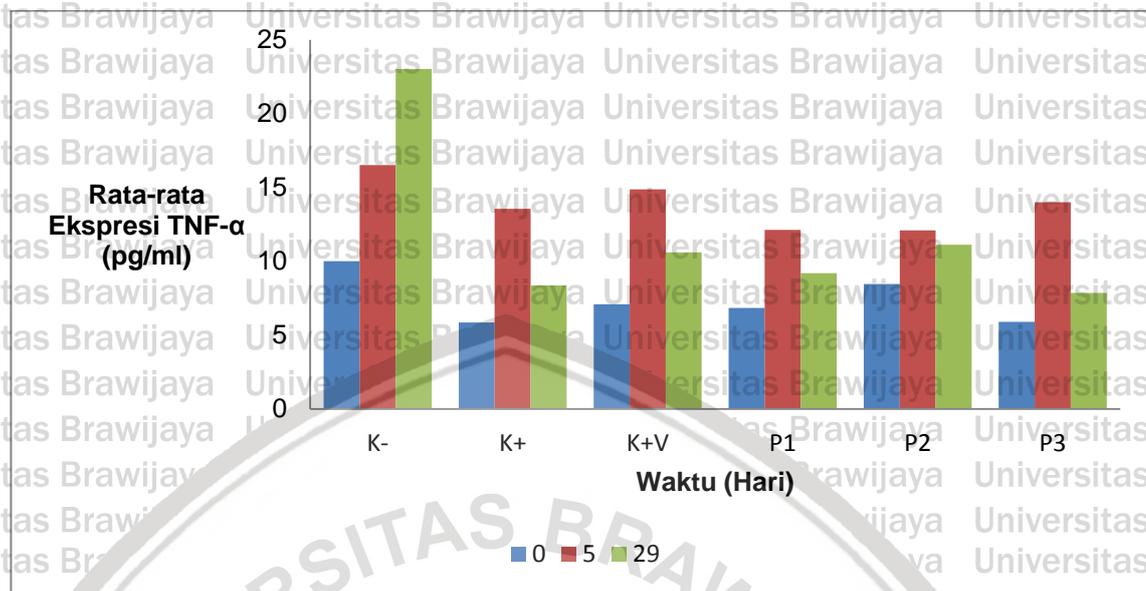
Analisa data dilakukan dengan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa data rata-rata AUC diameter sendi kaki tikus memiliki sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,265$ ) dan homogen ( $p = 0,282$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*.

Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa setelah pemberian terapi selama 29 hari pada kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak, kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak, dan kelompok perlakuan 3 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif ( $p = 0,011$ ;  $p = 0,008$ ;  $p = 0,027$ ). Kelompok perlakuan 3 tidak berbeda signifikan dengan kelompok positif gel natrium diklofenak ( $p = 0,990$ ) maupun kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak ( $p = 0,998$ ) sedangkan kelompok kontrol negatif tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 1 ( $p = 0,167$ ) dan 2 ( $p = 0,212$ ).

Berdasarkan Gambar 5.2. kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak merupakan perlakuan yang paling baik yaitu dengan nilai rata-rata AUC diameter sendi kaki tikus paling rendah.

## 5.2 Hasil Ekspresi TNF- $\alpha$

Pengukuran ekspresi TNF- $\alpha$  dilakukan dengan menggunakan sampel plasma darah tikus wistar jantan dan diuji menggunakan ELISA kit. Ekspresi TNF- $\alpha$  yang diperoleh pada masing-masing kelompok terdapat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Grafik Rata-rata Ekspresi TNF- $\alpha$  Tikus Semua Kelompok pada Hari ke-0, ke-5 dan ke-29

Tabel 5.2. Tabel Rata-rata Ekspresi TNF- $\alpha$  Tikus Semua Kelompok pada Hari ke-0, ke-5 dan ke-29

Waktu	Rata-rata Ekspresi TNF- $\alpha$ (pg/ml)					
	K-	K+ Patch	K+ Gel	1	2	3
Hari ke-0	10,02	5,87	7,10	6,85	8,47	5,91
Hari ke-5	16,52	13,57	14,89	12,13	12,10	14,00
Hari ke-29	23,04	8,38	10,61	9,20	11,14	7,86

Berdasarkan grafik 5.3. dapat dilihat pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  semua kelompok pada hari ke-0, ke-5 dan ke-29. Pola ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol negatif hari ke-0 sampai hari ke-29 mengalami peningkatan. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol negatif mempunyai sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,799$ ) dan homogen ( $p = 0,056$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,149$ ), antara hari ke 5 dan

hari ke-29 (0,148), namun terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,006$ ).

Pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena pemberian terapi *patch* natrium diklofenak dimulai pada hari ke-9 setelah kaki kanan tikus diinduksi dengan CFA. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa kelompok kontrol positif mempunyai sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,469$ ) dan homogen ( $p = 0,281$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,006$ ), antara hari ke-5 dan hari ke-29 ( $p = 0,046$ ), namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,392$ ).

Pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok gel natrium diklofenak antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena pemberian terapi gel natrium diklofenak dimulai pada hari ke-9 setelah kaki kanan tikus diinduksi dengan CFA. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*. Diperoleh hasil bahwa sebaran data bersifat normal ( $p = 0,806$ ), namun tidak homogen ( $p = 0,014$ ).

Oleh karena itu, dilakukan transformasi data kedalam bentuk  $\text{Log}_{10}$  sehingga diperoleh hasil bahwa sebaran data kelompok gel natrium diklofenak bersifat

normal ( $p = 0,942$ ) dan homogen ( $p = 0,214$ ). Pengujian data kadar TNF- $\alpha$  dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *One Way ANOVA* dengan uji *Post Hoc Test* menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,002$ ) dan antara hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,040$ ), namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-5 dan hari ke-29 ( $p = 0,118$ ).

Pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan 1 antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa sebaran data kelompok perlakuan 1 bersifat normal ( $p = 0,286$ ) dan homogen ( $p = 0,332$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,005$ ), namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-5 dan hari ke-29 ( $p = 0,064$ ), dan antara hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,132$ ).

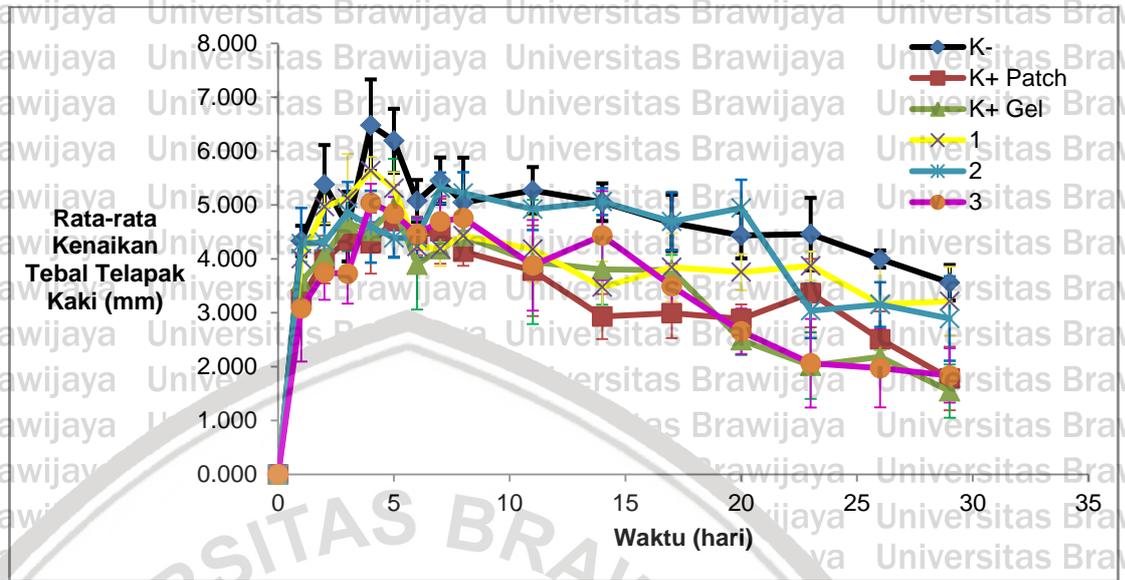
Pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan 2 antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa kelompok perlakuan 2 mempunyai sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,850$ ) dan homogen ( $p = 0,724$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*.

Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,007$ ), dan antara hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,038$ ), namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-5 dan hari ke-29 ( $p = 0,552$ ).

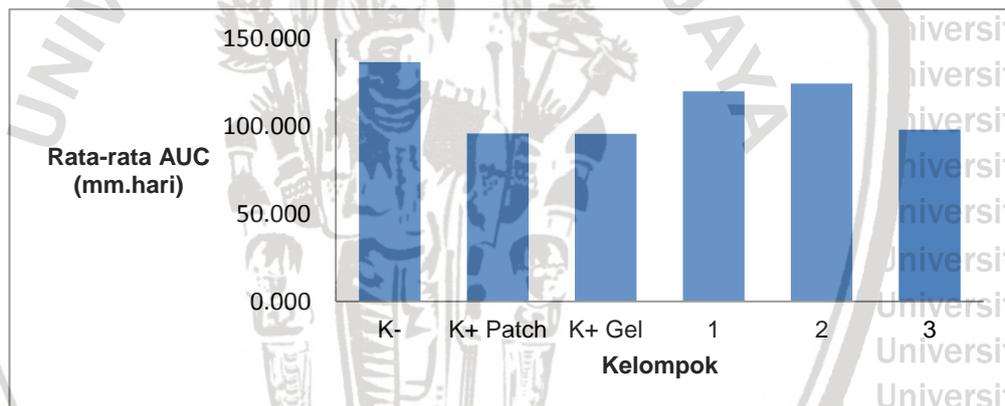
Pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  pada perlakuan 3 antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Analisa data dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa kelompok perlakuan 3 mempunyai sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,933$ ) dan homogen ( $p = 0,524$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5 ( $p = 0,003$ ), dan hari ke-5 dan hari ke-29 ( $p = 0,015$ ), namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-0 dan hari ke-29 ( $p = 0,520$ ).

### 5.3 Hasil Pengukuran Tebal Telapak Kaki Tikus

Selain data kenaikan diameter sendi kaki tikus dan ekspresi TNF- $\alpha$ , pada penelitian ini juga diperoleh data tambahan berupa kenaikan tebal telapak kaki tikus pada semua perlakuan. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa terjadi inflamasi kronik pada kaki kanan tikus yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Grafik rata-rata kenaikan tebal telapak kaki kanan tikus terdapat pada Gambar 5.4. dan grafik rata-rata AUC tebal telapak kaki tikus pada Gambar 5.5.



Gambar 5.4. Grafik Rata-rata Kenaikan Tebal Telapak Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29



Gambar 5.5. Grafik Rata-rata AUC Kenaikan Tebal Telapak Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29

Tabel 5.3. Rata-rata AUC Kenaikan Tebal Telapak Kaki Tikus dari Hari ke-0 sampai Hari ke-29

	K-	K+ Patch	K+ Gel	1	2	3
Rata-rata AUC (mm.hari)	136,58	95,85	95,69	119,94	124,36	98,09

Berdasarkan Gambar 5.4, dapat dilihat grafik rata-rata kenaikan tebal telapak kaki tikus pada semua perlakuan. Puncak rata-rata kenaikan tebal telapak kaki tikus pada perlakuan kontrol negatif terjadi pada hari ke-4 dan ke-7

yaitu sebesar  $6,48 \pm 0,85$  mm dan  $5,45 \pm 0,43$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus menjadi  $3,56 \pm 0,33$  mm.

Puncak kenaikan tebal telapak kaki perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak terjadi pada hari ke-5 dan ke-7 yaitu sebesar  $4,710 \pm 0,663$  mm dan  $4,51 \pm 0,60$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak menjadi  $1,78 \pm 0,59$  mm.

Puncak kenaikan tebal telapak kaki perlakuan kontrol positif gel natrium diklofenak terjadi pada hari ke-5 dan ke-8 yaitu sebesar  $4,95 \pm 0,91$  mm dan  $4,42 \pm 0,33$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan kontrol positif gel natrium diklofenak menjadi  $1,55 \pm 0,50$  mm.

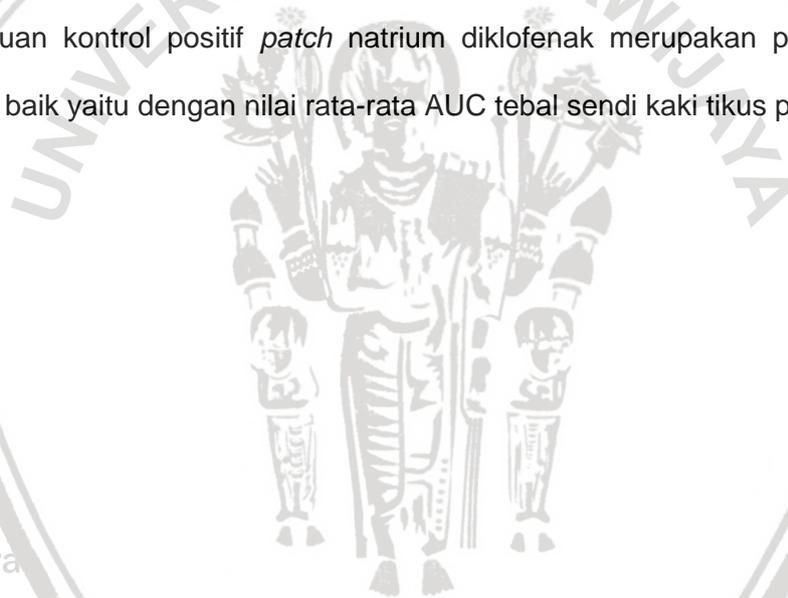
Puncak kenaikan tebal telapak kaki tikus perlakuan 1 terjadi pada hari ke-4 dan ke-8 yaitu sebesar  $5,64 \pm 0,25$  mm dan  $4,43 \pm 0,29$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan 1 menjadi  $3,21 \pm 0,64$  mm.

Puncak kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan 2 terjadi pada hari ke-3 dan ke-7 yaitu sebesar  $4,86 \pm 0,57$  mm dan  $5,31 \pm 0,29$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan 2 menjadi  $2,89 \pm 0,78$  mm.

Puncak kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan 3 terjadi pada hari ke-4 dan ke-8 yaitu sebesar  $5,040 \pm 0,356$  mm dan  $4,758 \pm 0,240$  mm. Pada hari ke-29 rata-rata kenaikan diameter sendi kaki tikus perlakuan 3 menjadi  $1,835 \pm 0,503$  mm.

Analisa data dilakukan dengan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan *Levene's Test*, diperoleh hasil bahwa data tebal sendi kaki tikus memiliki sebaran data yang bersifat normal ( $p = 0,067$ ) dan homogen ( $p = 0,084$ ) sehingga dapat dilakukan pengujian parametrik dengan *One Way ANOVA*

dan *Post Hoc Test* dengan menggunakan *Tukey*. Setelah dilakukan pengujian *One Way ANOVA* dan *Tukey*, diperoleh hasil bahwa setelah pemberian terapi selama 29 hari pada perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak, perlakuan kontrol positif gel natrium diklofenak, dan perlakuan 3 berbeda signifikan dengan perlakuan kontrol negatif ( $p = 0,000$ ;  $p = 0,000$ ;  $p = 0,000$ ). Perlakuan 3 tidak berbeda signifikan dengan perlakuan positif gel natrium diklofenak ( $p = 0,999$ ) maupun perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak ( $p = 1,000$ ). Sedangkan perlakuan kontrol negatif tidak berbeda signifikan dengan perlakuan 1 ( $p = 0,124$ ) dan 2 ( $p = 0,215$ ). Berdasarkan Gambar 5.5, perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak merupakan perlakuan yang paling baik yaitu dengan nilai rata-rata AUC tebal sendi kaki tikus paling rendah.



## BAB VI PEMBAHASAN

Inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh. Sistem kekebalan tubuh akan mengenali sel yang rusak, iritasi, maupun patogen, sehingga terjadi proses penyembuhan. Inflamasi menandakan bahwa tubuh sedang berusaha untuk melindungi diri dari rangsangan berbahaya dan memulai proses penyembuhan. Jika kondisi yang menyebabkan inflamasi akut tidak dapat diatasi, inflamasi akut dapat masuk ke fase kronis jangka panjang. Inflamasi pada dasarnya merupakan sebuah mekanisme pertahanan terhadap infeksi dan perbaikan jaringan tetapi jika terjadi secara terus-menerus (kronis) maka dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan berperan pada mekanisme beberapa penyakit dan kondisi, seperti beberapa jenis kanker dan rheumatoid arthritis (Abbas dkk., 2010; Nordqvist, 2017). Inflamasi pada fase kronik menyebabkan terjadinya pelepasan sitokin ke dalam aliran darah yang dikenal sebagai peradangan sistemik sehingga diharapkan obat untuk inflamasi kronik dapat masuk hingga pembuluh darah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *patch* liposom ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L) terhadap ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada hewan model inflamasi kronik. Dalam penelitian ini model inflamasi kronik yang digunakan adalah tikus galur wistar jantan yang diinduksi CFA 0,1% sehingga mengalami inflamasi kronik. Menurut Bendele (2001), sendi pergelangan kaki tikus pada hari ke-9 sampai hari ke-15 atau lebih setelah diinduksi CFA akan mengalami peradangan periartikular dengan edema yang parah ditandai dengan adanya daerah yang mengalami resorpsi tulang.

Selain itu, meningkatnya perlakuan 1 dan 2 tidak berbeda signifikan dengan

perlakuan kontrol negatif. Kelompok perlakuan 3 menunjukkan adanya perbaikan yang sebanding dengan kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak maupun gel natrium diklofenak selama pemberian terapi.

Hasil pengukuran tebal telapak kaki tikus selama 29 hari menunjukkan penurunan rata-rata diameter sendi kaki pada kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak, kontrol positif gel natrium diklofenak, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Secara statistik hasil pengukuran tebal telapak kaki tikus menunjukkan penurunan rata-rata AUC tebal sendi pada hari ke-29 setelah pemberian terapi pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3, kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak dan kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak namun penurunan rata-rata AUC pada perlakuan 1 dan 2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan 3 menunjukkan adanya perbaikan yang sebanding dengan kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak maupun *patch* natrium diklofenak selama pemberian terapi.

Berdasarkan dua parameter pemeriksaan fisik pada kaki tikus yang diinduksi CFA menunjukkan bahwa dosis 3 (600 mg/kgBB tikus) memiliki efektifitas yang sebanding dengan perlakuan kontrol positif *patch* natrium diklofenak dan kontrol positif gel natrium diklofenak. Menurut Khan *et al* (2009), ekstrak *Physalis minima* pada dosis 400 mg/kgBB tikus per oral secara signifikan menghambat edema pada kaki kanan tikus yang diinduksi 0.1 mL karagenan melalui injeksi subplantar sehingga dapat diketahui bahwa *Physalis minima* L memiliki aktivitas antiinflamasi pada inflamasi akut tikus jawar wistar.

Sedangkan pada penelitian ini dosis optimum ekstrak *Physalis minima* L. dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal untuk menurunkan

ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi kaki pada tikus wistar model inflamasi kronik adalah 600 mg/kgBB tikus.

Berdasarkan hasil rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  yang diperoleh dapat dilihat bahwa pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  kelompok kontrol negatif pada hari ke-0 sampai hari ke-29 mengalami peningkatan. Secara statistik pada kelompok kontrol negatif diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5, namun terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-29. Akan tetapi pada kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak, kontrol positif gel natrium diklofenak, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 menunjukkan bahwa pola rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  antara hari ke-0 dengan hari ke-5 mengalami peningkatan, sedangkan antara hari ke-5 dengan hari ke-29 mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena pemberian terapi dimulai pada hari ke-9 setelah kaki kanan tikus diinduksi dengan CFA.

Secara statistik pada kelompok perlakuan 2, dan kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dengan hari ke-5, dan antara hari ke-0 dengan hari ke-29, namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-5 dengan hari ke-29. Sedangkan pada perlakuan 1 diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dengan hari ke-5, namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-5 dengan hari ke-29, dan antara hari ke-0 dan hari ke-29. Pada kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dengan hari ke-5 dan antara hari ke-0 dengan hari ke-29, namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara

hari ke-5 dengan hari ke-29. Pada perlakuan 3 terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata ekspresi TNF- $\alpha$  hari ke-0 dan hari ke-5, dan hari ke-5 dan hari ke-29, namun tidak ada perbedaan yang bermakna antara hari ke-0 dan hari ke-29. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) memiliki efek antiinflamasi.

Withaphysalin A (WA) dan 2, 3-dihydrowithaphysalin C (WC) merupakan dua jenis senyawa utama dari withanolide, yang diperoleh dari fraksi antiinflamasi *P. minima* (Li *et al.*, 2016). WA dan WC secara signifikan menghambat produksi nitrit oksida (NO), iNOS, COX-2, prostaglandin E2 (PGE2), dan beberapa sitokin pro-inflamasi, seperti interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, dan tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) yang dipicu oleh LPS pada makrofag RAW264.7 dengan cara menekan aktivasi STAT3, translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan meningkatkan ekspresi HO-1 (*Heme Oxygenase-1*) (Li *et al.*, 2016). Peningkatan ekspresi HO-1 berkontribusi pada pencegahan respons inflamasi (Kim *et al.*, 2015) dan juga menekan translokasi NF- $\kappa$ B p65 dan fosforilasi STAT3 sehingga menyebabkan penghambatan pada pelepasan mediator inflamasi pada tingkat protein dan mRNA (Liu *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016).

Salah satu kerugian dari penghantaran obat melalui rute transdermal yaitu keterbatasan permeabilitas obat pada kulit sehingga dosis obat yang dibutuhkan lebih besar dibanding dengan pemberian secara oral. Obat yang diberikan melalui rute transdermal juga harus memiliki sifat fisikokimia yang tepat untuk dapat menembus stratum korneum dan mencapai sirkulasi sistemik sehingga perlu dilakukan modifikasi karakter obat dengan menggunakan suatu pembawa yang bersifat ampifilik (Kwatra, 2012). Dalam penelitian ini digunakan liposom sebagai pembawa yang bersifat ampifilik sehingga dapat membawa obat

hidrofilik ataupun hidrofobik untuk meningkatkan permeasi obat melalui stratum korneum. Dengan adanya pembawa diharapkan obat dapat masuk kedalam pembuluh darah. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penghantaran obat melalui *patch* liposom pada dosis 600 mg/kgBB tikus memiliki pengaruh yang sebanding dengan kelompok kontrol positif *patch* natrium diklofenak maupun kelompok kontrol positif gel natrium diklofenak sebagai pembanding.

Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu belum dilakukan uji invitro untuk mengetahui waktu maksimum pelepasan obat dari sediaan *patch* transdermal dan pada penelitian ini tidak membandingkan efektivitas antara *patch* ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) dan *patch* liposom ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.) pada dosis yang sama sehingga belum dapat diketahui apakah sistem penghantaran liposom berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas antiinflamasi dari ekstrak ciplukan (*Physalis minima* L.). Akan tetapi secara teori pelepasan obat berlangsung cepat karena polimer kitosan dan HPMC merupakan polimer hidrofilik yaitu ketika kontak dengan air maka kitosan akan membentuk gel dan ketika kontak dengan air maka HPMC akan mengembang sehingga menyebabkan integritas polimer matriks melemah dan terjadi erosi pada lapisan yang mengembang (Siddaramaiah *et al.*, 2006).

## BAB VII PENUTUP

### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak *Physalis minima* L. memiliki pengaruh yaitu dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi pada tikus wistar model inflamasi kronik.
2. Dosis optimum ekstrak *Physalis minima* L. dalam sediaan *patch* yang diberikan melalui rute transdermal untuk menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan diameter sendi pada tikus wistar model inflamasi kronik adalah 600 mg/kgBB tikus.

### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji *invitro* untuk mengetahui waktu maksimum pelepasan obat dari sediaan *patch* transdermal sehingga dapat diketahui berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk menggunakan *patch* pada kulit.
2. Perlu penelitian lanjutan untuk membuktikan pengaruh sistem penghantaran obat menggunakan liposom dalam meningkatkan efek atau aktivitas antiinflamasi dengan cara membandingkan efektivitas antara *patch* ekstrak kasar dan *patch* liposom ekstrak *Physalis minima* L. pada dosis yang sama.

### DAFTAR PUSTAKA

Abbas, AK., Lichtman, AH., Pillai, S. 2010. *Cellular and Molecular Immunology*, 6<sup>th</sup> Ed. W.B Saunders Company. Philadelphia.

Alali, F.Q., C.S.M. Amrine, T. El-Elimat, A. Alkofahi, K. Tawaha, M. Gharaibah, S.M. Swanson, J.O. Falkinham, M. Cabeza, A. Sánchez, M. Figueroa, and N.H. Oberlies. Bioactive withanolides from *Withania obtusifolia*. *Phytochemistry Letters*. 2014; 9: 96–101.

Aprianto. 2016. *Mengenal Kortikosteroid Sang Obat Dewa*. Tribun Jogja. 18 September 2016.

Awang, DVC. 2009. *Tyler's Herbs of Choice : The Therapeutic Use of Phytomedicinals*, 3rd Ed. 2-5. CRC Press. Boca Raton.

Baratawidjaja, KG. 2002. *Imunologi Dasar*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. Hal 3, 28-31, 33-34, 50-52.

Barthel, A., H. Vogel, Y. Pauchet, G. Pauls, G. Kunert, A.T. Groot, W. Boland, D.G. Heckel, and H.M. Heidel-Fischer. 2016. Immune modulation enables a specialist insect to benefit from antibacterial withanolides in its host plant. *Nature Communications* 7: 12530.

Bendele. AM. Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact*. 2001; 1(4):377-385

Benesch, MGK, Ko, YM, McMullen, TPW, Brindley, DN. Autotaxin in the crosshairs: Taking aim at cancer and other inflammatory conditions. *FEBS Letters*. 2014; 588(16): 2712–2727.

Benson, HAE. Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery*, 2005; 2: 23-33.

Bolton, S, Bon, C. 2010. *Pharmaceutical Statistics Practical and Clinical Applications*. Informa Healthcare USA Inc. New York.

Bos, J.D.; Meinardi, M.M. *Exp. Dermatol.*, 2000, 9, 165-9.

Bradley, JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008;214(2):149-60.

Carswell, E., Old, L., Kassel, R., Green, N., Fiore, N., Williamson, B. 1975. An Endotoxin-Induced Serum Factor that Causes Necrosis of Tumors. *Proceedings of the National Academy of Science*. 72 (9): 3666-3670.

Chothani, DL, Vaghasiya, HU. A phyto-pharmacological overview on *Physalis minima* Linn. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2012; 3(4): 477-482.

Choudhary, M.I., S. Hussain, S. Yousuf, A. Dar, Mudassar, and R Atta ur. 2010. Chlorinated and diepoxy withanolides from *Withania somnifera* and their cytotoxic effects against human lung cancer cell line. *Phytochemistry* 71: 2205–2209.

Darijanto, ST. *Pengembangan Sistem Penghantaran Obat Skopolamin HBR dalam Bentuk Liposom*. Disertasi Program Studi Ilmu Farmasi ITB, Program Doktor ITB, 2005. Diakses pada 25 Juli 2008. [http://www.accessmylibrary.lib.itb.ac.id/com2/summary\\_2086-27312686\\_ITM](http://www.accessmylibrary.lib.itb.ac.id/com2/summary_2086-27312686_ITM)

Daud, R. Diagnosis dan Penatalaksanaan Arthritis Reumatoid. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 129, 2000: 9-13.

De Poll, T., Marchant A., & Van Deventer S.J.H., 1997. *The Role of Interleukin-10 in The Pathogenesis of Bacterial Infection*, *Clinical Microbiology Infection*, 3, 605–607.

Detrick, B, Nagineni, CN, Hooks, J. *Cytokines: Regulators of Immune Responses and Key Therapeutic Targets*. IN: Gorman MRG, Donnenberg AD. (Eds).

Handbook of Human Immunology. 2 nd ed. CRC Press, 2008.

Depkes. 1995. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Farmakope*

*Indonesia*. Edisi IV. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

Jakarta.

Docke, W., Felix, R., Uta, S., Dietmar, K., Khusru A., Petre, R., Hans-Dieter, V.,

Wolfgang, K. Monocyte Deactivation in Septic Patients: Restoration by

IFN- $\gamma$  Treatment. *Nature Medicine*. 1997; 3: 678-681.

Drugfree.org. 2017. *Steroids*. <https://drugfree.org/drug/steroids/>

Dwiastuti, R., Sri, N., Enade, P.I., Marchaban.2016. Metode Pemanasan dan

Sonikasi Menghasilkan Nanoliposom dari Fosfolipid Lesitin Kedelai (Soy

*Lecithin*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2016; 13(1): 23-27.

Field, A. 2009. *Discovering Statistics using SPSS Third Edition*. Sage

Publications. London.

Gaur, AS, Gaur, SS. 2009. *Statistical Methods For Practice And Research: A*

*Guide To Data Analysis Using SPSS. Second Edition*. Response Books.

New Delhi.

Guidelines for the research use of adjuvant. 2005.

<http://oacu.od.nih.gov/ARAC/freunds.pdf>

Hamada, A, Kawaguchi, T, Nakano, M. *Clinical Pharmacokinetics of Cytarabine*

*Formulations*. *Clin Pharmacokinet*, 2002; 41(10):705-771.

IACUC Blood Collection Subcommittee. 2014. Blood Collection. Emory

University. Document EU-IACUC 355 v.20140507

[http://www.iacuc.emory.edu/documents/355\\_Blood\\_Collection.pdf](http://www.iacuc.emory.edu/documents/355_Blood_Collection.pdf)

Irawati, L. Hubungan Tumor Necrosis Factor-Alfa (TNF-A) dengan Kadar Hemoglobin dan Parasitemia pada Infeksi Malaria Falciparum. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2014; 3(2): 98-101.

Ivashkiv, LB. 2003. The History, Basic Science and Biology of TNF. *HSS*.

[https://www.hss.edu/professional-conditions\\_the-history-basic-science-biology-tnf.asp](https://www.hss.edu/professional-conditions_the-history-basic-science-biology-tnf.asp)

Janeway, c., Travers, P., Walport, M., Capra, J. *Immunobiology : The Immune System in Health and Disease*. New York, N.Y : Garland Publishers. 1999.

Judarwanto, W. & Dewi, N., 2012, *Kortikosteroid Topikal, Jenis Penggolongan*

*dan Efek Sampingnya*.

<http://allergyclinic.wordpress.com/2012/06/04/kortikosteroid-topikal-jenis-penggolongan-dan-efek-sampingnya/>, 28 Mei 2013.

Jufri, M. Arah dan Pengembangan Liposom: Drug Delivery Systems. *Majalah*

*Ilmu Kefarmasian*, 2004;1(2):59-68.

Kalsum, U. 2013. Efek Antiinflamasi Senyawa Steroid Ekstra Metanol *Physalis*

*minima* L. (Ciplukan) Melalui Hambatan Ekspresi Phospholipase A2 serta

Penurunan TNF- $\alpha$  dan IL-6. Prasetya Online.

<https://prasetya.ub.ac.id/berita/Manfaat-Ciplukan-Sebagai-Antiinflamasi-14039-id.html>

Kaltsonoudis E, Charalampos P, Alexandros AD. Current and future role of

methotrexate in the therapeutic armamentarium for rheumatoid arthritis.

*Int J Rheum*. 2012;7(2):179–89.

Kandavili S, V. Nair, R. Panchagnula. 2002. Polymer in Transdermal Drug

Delivery System. *Pharmaceutical Technology*. 62-80.

Katzung, BG. 1998. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 4. Penerjemah: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika. Surabaya.

Katzung, BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, edisi II. Jakarta, Salemba Medika. Halaman 671, 677-678.

Katzung, BG. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 8. Penerjemah dan editor: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika. Surabaya.

Katzung, BG. 2006. *Basic & Clinical Pharmacology*. 10th ed. McGraw-Hill Companies. New York.

Kaur, Loveleenpreet., Kaur, Prabhjot., Khan, MU. Liposome as A Drug Carrier- A Review, *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2013; 3(1), 121 – 128.

Khan, H.M., Ashraf, M., Hashmi, A.S., Ahmad, M.U.D., Anjum, A.A. 2012. Clinical Assessment of Experimentally Induced Osteoarthritis Rat Model in relation to Time. *J. Anim. Plant Sci.* 22(4).

Khan, MA, Khan, H, Khan, S, Mahmood, T, Khan, PM, Jabar, A. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Physalis minima* Linn. *J. Enzyme Inhib Med Chem.* 2009 Jun;24(3):632-7. doi: 10.1080/14756360802321120.

Kim, S., M.H. Oh, B.S. Kim, W.I. Kim, H.S. Cho, B.Y. Park, C. Park, G.W. Shin, and J. Kwon. 2015. Upregulation of heme oxygenase-1 by ginsenoside Ro attenuates lipopolysaccharide induced inflammation in macrophage cells. *Journal of Ginseng Research* 39: 365–370.

Kumar, V, Abbas, AK, Nelson, F, Mitchell, RN. 2007. Robbins *Basic Pathology*. 1st ed. Philadelphia.

Kwatra, S, Taneja, G, Nasa, N. Alternative Routes of Drug Administration- Transdermal, Pulmonary and Parenteral, *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 2(4): 409-426.

Lelo A, DS Hidayat, S Juli. 2004. *Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik*. Fakultas Kedokteran Bagian Farmakologi dan Terapeutik Universitas Sumatera Utara. Medan.

Li, RJ, Gao, CY, Guo, C, Zhou, MM, Luo, J, Kong, LY. The Anti-inflammatory Activities of Two Major Withanolides from *Physalis minima* Via Acting on NF- $\kappa$ B, STAT3, and HO-1 in LPS-Stimulated RAW264.7 Cells. *Inflammation*. 2016; 40(2): 401-413. doi: 10.1007/s10753-016-0485-1.

Limanto, K. 2012. *Review Jurnal Kimia Medisinal Methotrexate Sebagai Obat Alternatif dalam Pengobatan Rheumatoid Arthritis*. <https://www.scribd.com/doc/70899057/Review-Kimia-Medisinal-Methotrexate-sebagai-obat-alternatif-dalam-pengobatan-rheumatoid-arthritis> diakses tanggal 20 November 2017.

Liu, C.W., H.W. Lin, D.J. Yang, S.Y. Chen, J.K. Tseng, T.J. Chang, and Y.Y. Chang. 2016. Luteolin inhibits viral-induced inflammatory response in RAW264.7 cells via suppression of STAT1/3 dependent NF- $\kappa$ B and activation of HO-1. *Free Radical Biology and Medicine* 95: 180-189.

Ma, L., X.W. Gan, Q.P. He, H.Y. Bai, M. Arfan, F.C. Lou, and L.H. Hu. Cytotoxic withaphysalins from *Physalis minima*. *Helvetica Chimica Acta*. 2007; 90: 1406-1419.

Madhulata, A, Naga, T. Formulation and Evaluation of Ibuprofen Transdermal Patches. *IJPBS*. 2013; 4(1): 351-362.

Moghimpour, E, Salimi, A, Eftekhari, S. *Design and Characterization of Microemulsion Systems for Naproxen*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2013; 3(1):63-71.

Mutschler, E. 1986. *Dinamika Obat: Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*.

Diterjemahkan oleh Widiyanto, MB dan Ranti, AS. Edisi Kelima. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta: Widya Medika; 2001: 407-415.

Nabilah, H. 2016. *Hubungan Antara Berat Badan Berlebih dengan Terjadinya Sindrom Syok Dengue pada Anak di RSD dr. Soebandi Jember*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jember.

Neal, MJ. 2006. *Farmakologi Medis*. Edisi V. Erlangga. Jakarta.

Nordqvist, C. 2017. Everything you need to know about inflammation. *Medical News Today*. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/248423.php>.

Opal S.M., Cross A.S., & Jhung J. Potential Hazards of Combination Immunotherapy in the Treatment of Experimental Sepsis. *Journal of Infection Disease*. 1996; 173: 1415–1421.

Patel, DP, Setty, CM, Mistry, GN, Patel, S, Patel, TJ, Mistry, PC, Rana, AK, Patel, PK, dan Mishra, RS. Development and Evaluation of Ethyl Cellulose-Based Transdermal Films of Furosemide for Improved In Vitro Skin Permeation. *Pharm. Sci. Tech*. 2009; 10(2): 437-442.

Patel, T, Shah, K, Jiwan, K, Shrivastava, N. Study on the Antibacterial Potential of *Physalis Minima* Linn. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

2011; 73 (1): 111-115.

Popa, C., Mihai GN., Piet LCM., Jos, WM., Anton, FHS. The Role of TNF- $\alpha$  in Chronic Inflammatory Conditions, Intermediary Metabolism, and Cardiovascular Risk. *Journal of Lipid Research*. 2007; 48: 751-762.

Potts, R.O.; Guy, R.H. *Pharm. Res.*, 1992, 9, 663-9.

Qi, Z., S. Qi, L. Ling, J. Lv, and Z. Feng. 2016. Salidroside attenuates inflammatory response via suppressing JAK2-STAT3 pathway activation and preventing STAT3 transfer into nucleus. *International Immunopharmacology* 35: 265–271.

Rowe, RC., Paul, JS., Marian EQ. 2009. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6<sup>th</sup> Ed. The Pharmaceutical Press. London.

Sargowo, D, Seniorita, A, Widodo, A. 2012. *Peranan Ekstrak Kulit Manggis Dalam Penurunan Kadar TNF- $\alpha$  DAN IL-1 Pada Dislipidemia*. Universitas Brawijaya. Malang.

Shanfari, MA. 2011. *Physalis minima* L. <https://www.flickr.com/photos/shanfari/6114037450> Diakses pada 16 Oktober 2017.

Sharma A, Fish BL, Moulder JE, Medhora M, Baker JE, Mader M and Cohen EP. Safety and blood sample volume and quality of a refined retro-orbital bleeding technique in rats using a lateral approach. *Lab Animal* (2014) 43(2): 63-66.

Siddaramaiah, KP., Divya, KH., Mhemavathi, BT. Manjula, DS. Chitosan/HPMC Polymer Blends for Developing Transdermal Drug Delivery Systems.

*Journal of Macromolecular Science*. 2006; 43: 601-607.

Sino Biological Inc. 2017. *What is ELISA*. [http://www.elisa-antibody.com/ELISA-](http://www.elisa-antibody.com/ELISA-introduction)

introduction Diakses pada 13 Oktober 2017.

Sjahbanar, SZ, Setiadi, E(ed). Stryer L. *Biokimia* Vol 1. Edisi 4. Jakarta: EGC 2000:264-277.

Suwalie, ER, Mita, SR. Terpen Sebagai Peningkat Penetrasi Pada Sediaan Transdermal. *Farmaka*. 2017; 15(3): 102-110.

Tarannita, C, Nur, P, Sudiarto. Efek Hambatan Ekstrak Daun Ceplukan (*Physalis minima* L) Terhadap Kontraktilitas Otot Polos Usus Halus Terpisah Marmut Dengan Stimulasi Metakolin Eksogen. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2006; 22(1): 18-22.

Tracey, K., Cerami, A. 1994. Tumor Necrosis Factor : A Pleiotropic Cytokine and Therapeutic Target. *Annual Review of Medicine*. 45 : 491-503.

UPT Materia Medika Batu. 2016. *Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Ciplukan*. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Malang.

Walters, K.A. 2004. *Dermatological and Transdermal Formulation*. Marcel Dekker. New York. 18, 25-26, 33, 103-105, 210, 337-338.

Westendorp, RG., Langermans, JA., Huizinga, TW., Elouali, AH., Verweij, CL., Boomsma, DI., Vandenbroucke, JP. Genetic Influence on Cytokine Production and Fatal Meningococcal Disease. *The Lancet Journals*. 1997; 349(9046): p170-173.

Widodo, F, Diana, L, Bagus, PPS. Potential of Topical Curcumin in Reduction of TNF- $\alpha$  expression and Synovium Hyperplasia on Wistar Rats of

Rheumatoid Arthritis Model. *Research Journal of Life Science*. 2016; 3(1): 40-48.

Wilmana, F, Gan, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5: Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan Gangguan Sendi Lainnya*.

Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Wu, S, Lean-Teik N, Ching-Hsein C, Doung-Liang L, Shyh-Shyan W, Chun-Ching L. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Sciences* 74, 2005: 2061-2073.

Zen. 2012. *Penderita Arthritis Rheumatoid Di Indonesia*. Tersedia di <http://www.kompas/news.html> diakses tanggal 10 Maret 2015.

Zhang, B., S. Xie, Z. Su, S. Song, H. Xu, G. Chen, W. Cao, S. Yin, Q. Gao, and H. Wang. 2016. Heme oxygenase-1 induction attenuates imiquimod-induced psoriasiform inflammation by negative regulation of Stat3 signaling. *Scientific Reports* 6.