

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Secara global, inflamasi/peradangan diidentifikasi sebagai penyebab utama morbiditas di seluruh populasi. Peradangan merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh yang berperan secara protektif terhadap adanya cedera jaringan, serangan benda asing dan kondisi berbahaya lainnya. Beberapa tanda terjadinya inflamasi, yaitu adanya pembengkakan, kemerahan, nyeri dan panas yang dapat diamati dalam beberapa menit setelah cedera terjadi (Ahmed et al., 2020).

Tujuan terapi untuk mengobati inflamasi/peradangan yaitu untuk menghilangkan rasa sakit yang sering dialami oleh pasien serta untuk memperlambat atau menghentikan proses kerusakan jaringan (Usman et al., 2022). Kelompok obat yang dapat diberikan untuk pengobatan inflamasi, yaitu kortikosteroid golongan glukokortikoid dan antiinflamasi non-steroid (AINS) (Pangemanan et al., 2024).

Penggunaan obat antiinflamasi kortikosteroid golongan glukokortikoid dan antiinflamasi non-steroid dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang terjadi pada berbagai organ tubuh terpenting seperti saluran cerna, jantung, dan ginjal. Salah satu contoh obat antiinflamasi yang kerap kali digunakan, yaitu natrium diklofenak yang memberikan efek samping berupa masalah pada gastrointestinal seperti pendarahan, ulserasi, dan perforasi lambung atau usus yang berakibat fatal (Salim et al., 2024). Natrium diklofenak banyak digunakan dalam penggunaan rheumatoid arthritis dan mengurangi rasa sakit, namun dosis terapeutik dari NSAID dapat menimbulkan efek samping yang ringan dan overdosis obat NSAID dapat menghasilkan toksisitas yang parah. Salah satu efek samping dari natrium diklofenak, yaitu terjadinya kerusakan pada organ ginjal.

Berdasarkan beberapa efek samping yang diberikan dari penggunaan obat steroid dan nonsteroid, maka pengembangan obat antiinflamasi multitarget yang baru dianggap sebagai strategi yang menarik untuk menemukan agen baru yang secara efektif mampu mengurangi hiperinflamasi serta mengurangi efek samping yang ditimbulkan (Sen'kova et al., 2023).

Salah satu alternatif pengobatan antiinflamasi yang dapat dikembangkan, yaitu pengobatan dari bahan alam seperti asam galat. Asam galat merupakan suatu golongan senyawa fenolik yang juga dikenal sebagai asam 3,4,5-trihidroksibenzoat yang merupakan metabolit sekunder alami yang ditemukan di beberapa tanaman sayuran, kacang-kacangan dan buah-buahan. Senyawa ini merupakan senyawa polifenol yang dapat menangkal radikal bebas dengan memberikan hidrogen pada radikal kemudian mengoksidasinya menjadi senyawa yang lebih stabil (Nouri et al., 2020). Asam galat



ti dalam menghambat sekresi mediator proinflamasi, seperti nitrit, pada pengujian secara *in vitro* (Bai et al., 2021). Pada penelitian secara *in vivo* pada mencit, diketahui bahwa asam galat secara kadar IL-6, Nf-kB, serta kadar serum beberapa sitokin dan kemokin induksi LPS (Choi et al., 2009).

am galat telah diketahui memiliki beberapa aktivitas farmakologis, ki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang baik dan telah terbukti

efektivitasnya. Akan tetapi, belum banyak penelitian yang dilakukan untuk menilai efek antiinflamasi dari obat konvensional yang dikombinasikan dengan antioksidan seperti asam galat. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai kombinasi pilihan terapi untuk inflamasi dan membandingkan efeknya dengan monoterapi obat antiinflamasi yang sering digunakan. Berdasarkan penelitian yang diperoleh pula, ditemukan bahwa pengobatan dengan asam galat dapat memberikan efek perbaikan terhadap cedera ginjal yang disebabkan oleh DIC pada model tikus melalui modulasi stres oksidatif dan penghambatan respons inflamasi (Moradi et al., 2021).

Pada penelitian ini, efek asam galat yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dikombinasikan dengan obat antiinflamasi konvensional, yaitu natrium diklofenak (NSAID) yang diturunkan dosisnya dan dinilai pada hewan coba untuk mengetahui efektivitas dari terapi kombinasi tersebut apakah dapat memberikan efek sebagai antiinflamasi yang lebih baik dari pengobatan monoterapi (Ahmed et al., 2020).

Edema kaki yang diinduksikan karagenan digunakan sebagai pemodelan untuk peradangan akut pada hewan coba untuk mengeksplorasi efek antiinflamasi dari agen baru (Zhang et al., 2020). Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode induksi karagenan merupakan metode yang sederhana dan sering digunakan. Penggunaan karagenan sebagai penginduksi memiliki keuntungan, yaitu tidak meninggalkan bekas dan tidak menimbulkan kerusakan jaringan serta memberi respons yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi (Zunnita et al., 2024).

Berdasarkan uraian diatas, belum pernah dilakukan penelitian mengenai efektivitas dari senyawa asam galat yang dikombinasikan dengan natrium diklofenak pada kaki mencit (*Mus musculus*) dengan metode induksi karagenan. Oleh karena itu, hal ini yang mendasari dilakukannya penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana efektivitas antiinflamasi dari asam galat yang dikombinasikan dengan natrium diklofenak dosis rendah terhadap mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan karagenan?
2. Berapa dosis asam galat yang efektif sebagai antiinflamasi ketika dikombinasikan dengan natrium diklofenak dosis rendah terhadap mencit (*Mus musculus*) yang mengalami edema setelah diinduksikan dengan karagenan?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian di atas, adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui efektivitas antiinflamasi dari asam galat yang dikombinasikan dengan natrium diklofenak dosis rendah terhadap mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan karagenan.
2. Untuk mengetahui dosis asam galat yang efektif sebagai antiinflamasi ketika dikombinasikan dengan natrium diklofenak dosis rendah terhadap mencit (*Mus musculus*) yang mengalami edema setelah diinduksikan dengan karagenan.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas kimia (*Pyrex*[®]), kanula/sonde mencit, pletismometer, spoit 1 cc, timbangan analitik (*Ohaus*[®]), dan timbangan hewan (*Hennerr*[®]).

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air raksa, air suling, asam galat 5 gram (*Merck*[®]), karagenan, larutan normal salin 0,9%, tablet natrium diklofenak 50 mg (*Phapros*), dan NaCMC.

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Pembuatan larutan koloidal natrium CMC 1% b/v

Suspensi NaCMC dibuat dengan memasukkan sebanyak 1 gram serbuk NaCMC ke dalam lumpang yang berisi air suling panas sebanyak 100 ml dengan suhu 70°C. Campuran tersebut kemudian dipindahkan ke dalam gelas piala dan diaduk hingga homogen dan membentuk larutan koloidal. Setelah itu, volume larutan dicukupkan dengan menggunakan aquadest hingga 100 ml.

2.2.2 Pembuatan suspensi asam galat

Timbang sejumlah serbuk asam galat berdasarkan hasil perhitungan pada setiap variasi dosis, yaitu dosis 20 dan 100 mg/kgBB, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur. Serbuk kemudian disuspensikan dengan NaCMC dan dicukupkan hingga tanda batas lalu dimasukkan ke wadah yang tertutup.

2.2.3 Pembuatan larutan karagenan 1% v/v

Sebanyak 100 mg karagenan dilarutan dengan menggunakan NaCl 0,9% 10 mL kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2.2.4 Pembuatan suspensi natrium diklofenak

Sejumlah 20 tablet natrium diklofenak 50 mg ditimbang. Tablet lalu digerus dan ditimbang dengan perhitungan dosis pada mencit dengan dua dosis, yaitu 50 mg dan 20 mg (perhitungan terlampir), setelah itu serbuk disuspensikan dengan larutan koloidal NaCMC dan diaduk hingga homogen.



ewan uji

anakan dalam penelitian ini yaitu mencit (*Mus musculus*) strain lisi sehat yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan kriteria bobot sekitar 18-35 gram sebanyak 25 ekor. Aklimatisasi selama 7 hari sebelum perlakuan sebagai bentuk adaptasi

lingkungan percobaan. Hewan uji juga diberikan perawatan berupa pemberian pakan standar dan penggantian bedding secara rutin sebanyak 3 kali seminggu (Rahman et al., 2018).

2.2.6 Perlakuan hewan uji

Perlakuan hewan uji, telah melewati proses pengajuan protokol penanganan dan perlakuan pada hewan uji ke komite etik FF UH. Hewan uji sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Sebelum diberikan perlakuan, mencit dipuasakan selama ± 8 jam sebelum diberikan perlakuan. Hewan uji diambil secara acak lalu ditimbang, kemudian dikelompokkan menjadi:

1. Kelompok I : hewan uji tidak diberikan perlakuan sebagai kontrol normal
2. Kelompok II: hewan uji diberikan larutan koloidal NaCMC 1% secara PO (peroral) + karagenan diberikan secara subplantar pada kaki kanan belakang sebanyak 0,1 mL.
3. Kelompok III: hewan uji diberikan larutan natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB secara PO (peroral) + karagenan diberikan secara subplantar pada kaki kanan belakang sebanyak 0,1 mL.
4. Kelompok IV : hewan uji diberikan larutan natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB secara PO (peroral) + karagenan diberikan secara subplantar pada kaki kanan belakang sebanyak 0,1 mL.
5. Kelompok V: hewan uji diberikan kombinasi larutan uji asam galat dengan dosis 20 mg/kgBB secara PO (peroral) + larutan natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB secara PO (peroral) + karagenan diberikan secara subplantar pada kaki kanan belakang sebanyak 0,1 mL.
6. Kelompok V: hewan uji diberikan larutan uji asam galat dengan dosis 100 mg/kgBB secara PO (peroral) + larutan natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB secara PO (peroral) + karagenan diberikan secara subplantar pada kaki kanan belakang sebanyak 0,1 mL.

Volume kaki diukur menggunakan pletismometer pada jam ke-1,2,3, dan 4 setelah induksi.

2.2.7 Pengukuran radang mencit

Setiap mencit ditandai dengan spidol pada sendi kaki belakang kiri agar pemasukan kaki ke dalam pletismometer air raksa setiap kali selalu sama. Volume radang diukur setiap 60 menit setelah pemberian injeksi karagenan 1% (Amri et al., 2023; Susanto et al., 2023).



2.2.8 Perhitungan persentase radang dan persen hambatan inflamasi

Persentase radang tiap waktunya ditentukan dengan menggunakan rumus (Zunnita et al., 2024) :

$$\% \text{ Radang} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100\%$$

Untuk perhitungan persen hambatan inflamasi digunakan rumus sebagai berikut (Putri et al., 2024)

$$\% \text{ Hambatan inflamasi} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

V_t = Volume telapak kaki mencit pada waktu t

V_o = Volume telapak kaki mencit sebelum pemberian injeksi

a = Persen inflamasi kelompok kontrol negatif

b = Persen inflamasi kelompok perlakuan bahan uji atau obat pembanding

2.2.9 Analisis data

Data hasil yang diperoleh kemudian dikumpulkan dari masing-masing pengujian dan dianalisis secara statistik menggunakan bantuan *GraphPad Prism 9* menggunakan pendekatan *two-way ANOVA* lalu dilanjutkan dengan pengujian *Dunnet's multiple comparisons test* dan *Tukey's multiple comparisons test* untuk dibahas dan kemudian ditarik kesimpulan.



BAB III

HASIL DAN PEMBAHASAN

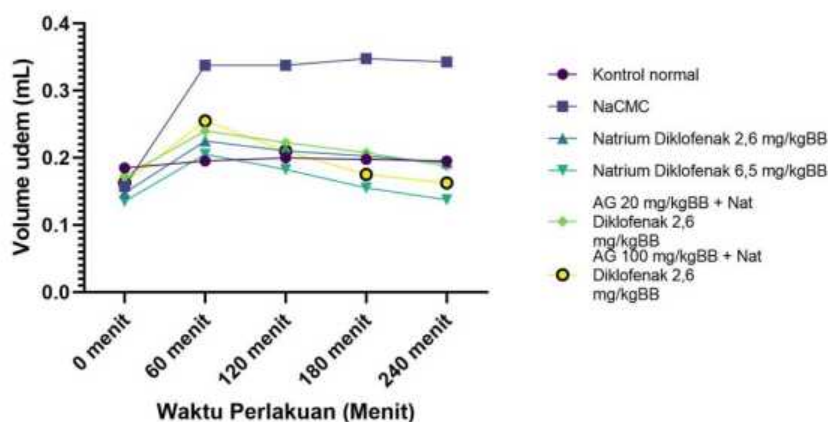
3.1 Hasil

3.1.1 Pengujian antiinflamasi

Pengujian antiinflamasi melalui perhitungan volume edema menggunakan 24 ekor mencit jantan yang diinduksikan dengan karagenan 1% lalu dilakukan pengukuran volume kaki mencit dengan menggunakan alat *plethysmometer* setiap 60 menit selama 4 jam. Pengujian ini dilakukan untuk dapat mengetahui efek antiinflamasi yang dimiliki oleh kelompok perlakuan kombinasi asam galat 20 mg/kgBB + natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan asam galat 100 mg/kgBB + natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan membandingkannya dengan kelompok kontrol negatif, yaitu NaCMC 1%, kontrol positif yaitu natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan 6,5 mg/kgBB yang diberikan pada mencit dengan penginduksian karagenan 1%, serta membandingkannya dengan kelompok kontrol normal.

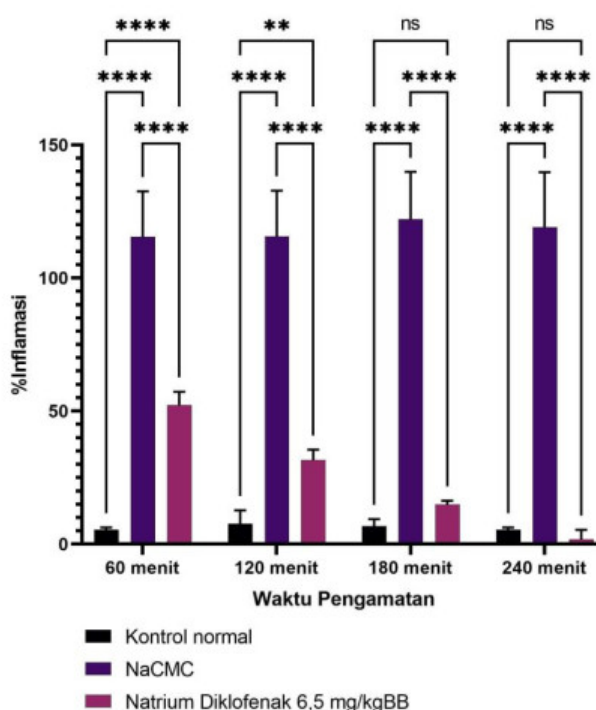
Tabel 1. Hasil Pengukuran Volume Edema

Kelompok Perlakuan	V_0	V_t			
		60 menit	120 menit	180 menit	240 menit
Kontrol Normal	0,185±0,024	0,195±0,024	0,200±0,034	0,198±0,025	0,195±0,024
NaCMC	0,158±0,017	0,338±0,015	0,338±0,010	0,348±0,010	0,343±0,005
Natrium Diklofenak 2,6 mg/kgBB	0,148±0,013	0,225±0,017	0,210±0,018	0,203±0,017	0,193±0,017
Natrium Diklofenak 6,5 mg/kgBB	0,135±0,013	0,205±0,013	0,178±0,015	0,155±0,013	0,138±0,015
AG 20 mg/kgBB + Nat Diklofenak 2,6 mg/kgBB	0,173±0,022	0,240±0,032	0,223±0,029	0,208±0,028	0,188±0,021
AG 100 mg/kgBB + Nat Diklofenak 2,6 mg/kgBB	0,163±0,026	0,255±0,031	0,210±0,022	0,175±0,024	0,163±0,026



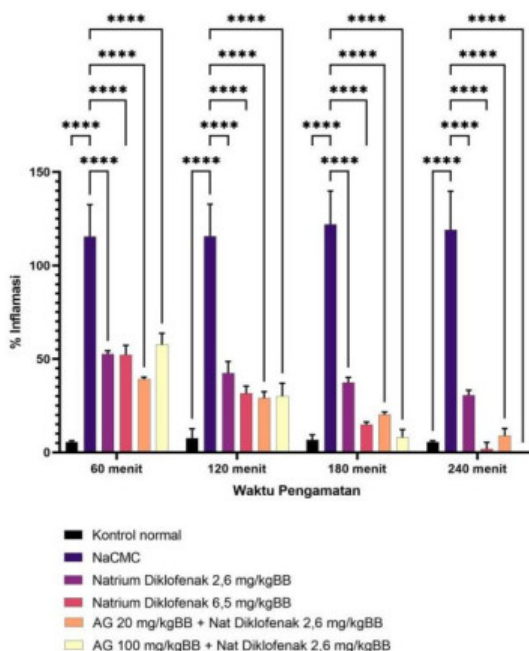
Perubahan volume udem pada kaki mencit setiap kelompok diinduksikan karagenan selama 4 jam

Kelompok Perlakuan	Rata-rata persen Inflamasi (%)			
	60 menit	120 menit	180 menit	240 menit
Kontrol normal	5,482±0,79	7,632±5,09	6,798±2,60	5,482±0,79
NaCMC	115,561±17,00	115,66±17,13	122,068±17,80	119,1177±20,60
Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB	52,628±1,76	42,476±6,22	37,324±2,85	30,505±2,79
Natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB	52,212±5,02	31,621±3,87	14,918±1,43	1,786±3,57
AG 20 mg/kgBB+ Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB	39,097±1,18	29,028±3,52	20,243±1,44	8,924±3,94
AG 100 mg/kgBB+ Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB	57,634±6,05	30,074±6,96	8,051±4,21	0,000±0,00

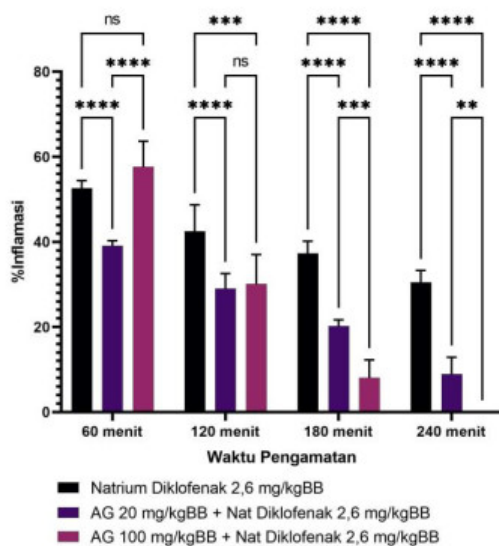


Gambar 2. Histogram rata-rata persen inflamasi untuk kontrol normal, kontrol negatif dan kontrol positif (Natrium Diklofenak 6,5 mg/kgBB) (n=4, ns: *not significant*, ** *significant* (p<0,01), **** *significant* (p<0.0001), *Two-way ANOVA*, *Tukey's multiple comparisons test*)





Gambar 3. Histogram rata-rata % inflamasi untuk setiap kelompok yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif NaCMC ($n=4$, ns: *not significant*, ** *significant* ($p<0,01$), *** *significant* ($p<0,001$), **** *significant* ($p<0.0001$), Two-way ANOVA, Tukey's multiple comparisons test)



n rata-rata % inflamasi untuk 2 kelompok perlakuan kombinasi Natrium dikolfenak dosis rendah yang dibandingkan dengan liklofenak dosis rendah ($n=4$, ns: *not significant*, ** *significant*

($p < 0,01$), *** *significant* ($p < 0,001$), **** *significant* ($p < 0,0001$), *Two-way ANOVA, Tukey's multiple comparisons test*)

Tabel 3. Rata-rata Persen Hambatan Inflamasi

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Persen Hambatan Inflamasi (%)			
	60 menit	120 menit	180 menit	240 menit
NaCMC	0	0	0	0
Natrim diklofenak 2,6 mg/kgBB	53,566	62,565	68,829	73,709
Natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB	54,010	71,816	87,550	98,109
AG 20 mg/kgBB+ Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB	65,584	74,269	83,121	91,893
AG 100 mg/kgBB+ Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB	49,049	73,535	93,367	100,000

3.2 Pembahasan

Inflamasi merupakan salah satu reaksi perlindungan tubuh terhadap adanya ancaman seperti infeksi atau cedera. Respon inflamasi bertindak dengan menghilangkan rangsangan yang dapat merugikan dan mempersiapkan proses penyembuhan. Inflamasi biasanya ditandai dengan beberapa gejala klinis, seperti kemerahan (*rubor*), panas (*kalor*), nyeri (*dolor*), dan gangguan fungsi (*function laesa*). Gejala klinis yang terjadi ini disebabkan oleh adanya proses biokimia dan seluler yang diaktifkan selama respon terhadap inflamasi (Mutiara et al., 2024).

Pengobatan inflamasi biasanya dilakukan dengan pemberian obat antiinflamasi golongan steroid maupun nonsteroid, namun penggunaannya dalam jangka panjang dapat menyebabkan beberapa efek samping. Salah satu obat antiinflamasi yang sering digunakan adalah natrium diklofenak. Natrium diklofenak merupakan obat antiinflamasi nonsteroid dari derivat fenil asetat yang mempunyai efek farmakologis dalam menghambat sintesis prostaglandin (Saputri et al., 2016). Natrium diklofenak dalam penggunaan secara peroral banyak menimbulkan efek samping seperti nyeri gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal, dan ulserasi gastrik (Padanun et al., 2021). Natrium diklofenak pada dosis yang tinggi diketahui dapat menyebabkan efek toksik pada banyak jaringan termasuk hati dan ginjal, serta pada sistem kardiovaskular (Dolanbay et al., 2021). Ditemukan juga bahwa natrium diklofenak memberikan efek toksik pada hati yang dikaitkan dengan disfungsi lisosom, cedera mitokondria, dan mekanisme terkait imun. Toksisitas ginjal yang disebabkan juga oleh natrium diklofenak disebabkan oleh mekanisme seperti penghambatan prostaglandin ginjal (Amanullah et al., 2022). Berdasarkan hal tersebut, maka penggunaan natrium diklofenak dalam jangka lama perlu dibatasi karena memiliki efek samping gastrointestinal yang serius (Aulia et al., 2024).



aktivitas anti-inflamasi dari suatu bahan obat merupakan kemampuan obat dalam menekan derajat udem yang dihasilkan oleh hewan uji yang diberikan efek antiinflamasi dilakukan dengan menggunakan alat uji yang memiliki prinsip berdasarkan hukum Archimedes, bahwa apabila benda yang memiliki berat tertentu dimasukkan ke dalam zat cair maka akan menimbulkan gaya atau tekanan ke atas yang besarnya sama dengan berat benda yang tenggelam (Sulistyono et al., 2015). Penginduksi edema yang digunakan adalah karagenan. Karagenan adalah senyawa polisakarida yang banyak digunakan sebagai koagulan, koagulum, dan dapat menyebabkan peradangan pada hewan uji.

(Widyasti & Kurniasari., 2024). Histamin (5-HT), bradikinin, dextran, dan lipopolisakarida (LPS) merupakan penginduksi edema pada kaki hewan yang juga dapat digunakan dalam pembentukan model antiinflamasi akut (Patil et al., 2019).

Respon inflamasi yang diinduksi karagenan akan menyebabkan infiltrasi neutrofil dan produksi dari radikal bebas seperti hidrogen peroksida, superoksida dan radikal hidroksil meningkat (Tsai et al., 2015). Pembentukan edema akibat penginduksian karagenan terdiri atas 3 fase. Fase pertama, yaitu terjadi pelepasan histamin dan serotonin yang akan berlangsung selama 90 menit, fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi selama 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi dan fase ketiga yaitu pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi dan akan berkurang hingga 24 jam. Karagenan digunakan sebagai penginduksi karena sifatnya yang dapat memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi, tidak meninggalkan bekas bahkan menimbulkan kerusakan jaringan. Sehingga hal ini menunjukkan bahwa karagenan mampu untuk memberikan efek inflamasi pada hewan coba (Muhsin et al., 2024). Respon inflamasi yang diinduksi karagenan akan menyebabkan infiltrasi neutrofil dan produksi dari radikal bebas seperti hidrogen peroksida, superoksida dan radikal hidroksil meningkat. Edema merupakan kondisi adanya penumpukan cairan dalam jaringan tubuh dan terjadi ketika cairan pembuluh darah keluar ke jaringan yang ada disekitarnya. Cairan tersebut kemudian akan menumpuk dan membuat jaringan tubuh membengkak (Lisnawati et al., 2023).

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian untuk dapat mengetahui efek antiinflamasi yang dimiliki oleh kelompok perlakuan kombinasi asam galat 20 mg/kgBB + natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan asam galat 100 mg/kgBB + natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan membandingkannya dengan kelompok kontrol negatif, yaitu NaCMC 1%, serta kontrol positif yaitu pengobatan monoterapi natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB dan dosis lazim 6,5 mg/kgBB yang diberikan pada mencit dengan penginduksian karagenan 1%, serta membandingkannya dengan kelompok kontrol normal. Adapun tujuan dari kombinasi antara asam galat dengan dua variasi dosis dengan natrium diklofenak dosis rendah adalah untuk melihat apakah terdapat aktivitas antiinflamasi yang baik. Hasil pengukuran volume edema kaki mencit kemudian menjadi dasar perhitungan rata-rata persen inflamasi dan rata-rata persen hambatan inflamasi.

Kontrol normal merupakan kontrol yang tidak diberikan perlakuan (Sugihartini et al., 2020) yang bertujuan untuk menjaga lingkungan uji agar tidak terdapat faktor lain yang dapat menyebabkan inflamasi pada kaki mencit. Pada kontrol normal menunjukkan tidak adanya perubahan persen inflamasi yang meningkat secara signifikan, sehingga hal ini membuktikan bahwa tidak ada pengaruh lain selain penginduksian karagenan yang dapat menyebabkan edema pada hewan uji. Kelompok kontrol negatif NaCMC menunjukkan persen inflamasi yang tidak menurun secara signifikan selama 4 jam dan bahkan terjadi peningkatan diantara semua kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan NaCMC yang digunakan sebagai kontrol negatif yang memiliki sifat inert sehingga tidak akan mempengaruhi aktivitas dari zat aktif serta diharapkan tidak akan memberi pengaruh terhadap hasil nilai parameter uji. NaCMC juga digunakan sebagai pembawa a sifat kejernihan yang tinggi serta stabil. Penggunaan kontrol negatif nemastikan bahwa penekanan inflamasi hanya disebabkan oleh uji dan obat pembanding, bukan karena faktor lain (Fratwi et al.,



natrium diklofenak 2,6 mg diujikan untuk dapat melihat efektivitas um diklofenak dosis rendah. Hal tersebut terlihat pada gambar 2 bahwa natrium diklofenak dosis 2,6 mg/kgBB mengalami penurunan a 60 menit hingga 240 menit dan memperoleh persen hambatan

inflamasi sebesar 73,709%. Nilai yang diperoleh ini menunjukkan nilai persen hambatan inflamasi yang lebih kecil jika dibandingkan dengan natrium diklofenak dosis 6,5 mg/kgBB (50 mg pada dosis manusia). Oleh karena itu, pemberian monoterapi natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB menunjukkan persen inflamasi yang sedikit, sehingga hal inilah yang mendasari pemberian kombinasi asam galat dengan dosis 20 dan 100 mg/kgBB dengan natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB. Pemberian monoterapi natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB menunjukkan persen inflamasi yang menurun secara signifikan dari menit ke-60 hingga menit ke-240.

Pemberian kombinasi AG 20 mg/kgBB + Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB menunjukkan penurunan inflamasi yang signifikan pada menit ke-60 hingga menit ke-240 dengan persen hambatan inflamasi sebesar 91,893% (240 menit), serta kombinasi AG 100 mg/kgBB + Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB menunjukkan penurunan inflamasi yang sangat signifikan pada menit ke-60 hingga menit ke-250 dengan persen penghambatan 100,00% (240 menit). Hasil yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa efektivitas antiinflamasi yang kuat dari natrium diklofenak 6,5 mg/kgBB dan kombinasi AG 100 mg/kgBB + Natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB. Hal ini disebabkan karena monoterapi natrium diklofenak merupakan obat antiinflamasi yang bekerja pada tingkat molekuler dengan menghambat COX dan menghentikan sintesis prostaglandin pada peradangan yang diinduksi oleh karagenan, serta dengan adanya penambahan asam galat mempotensiasi efektifitas yang dimiliki, sehingga dapat diketahui bahwa potensi antiinflamasi yang dimiliki oleh kombinasi AG 100 mg/kgBB + natrium diklofenak 2,6 mg/kgBB cukup baik. Sehingga berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa semakin besar dosis asam galat yang digunakan, maka penghambatan udem pada kaki mencit juga semakin besar. Semakin tinggi rata-rata persen hambatan inflamasi dari kelompok uji atau obat pembanding yang digunakan menunjukkan kemampuannya dalam menekan udem kaki hewan. Terlihat bahwa semakin tinggi dosis kelompok uji yang diberikan, maka persentase hambatan antiinflamasi semakin tinggi (Ernoviya & Afriadi., 2023).

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar 2, terlihat bahwa analisis dengan *two-way ANOVA* yang menunjukkan hasil yaitu terdapat perbedaan yang signifikan (nilai signifikansi $p < 0,0001$) antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai persen inflamasi pada kelompok perlakuan lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yang berarti bahwa metode uji yang digunakan valid dan prosedur pengujian yang dilakukan sudah benar.

Hasil penelitian yang diperoleh ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa asam galat telah terbukti dalam mengurangi stres oksidatif dan peroksidasi lipid, serta dapat mengurangi ekspresi mediator pro-inflamasi seperti TNF- α , NOS, IL2, IL-6, IL-5, IL-4, INF-y dan COX-2. Asam galat juga dapat memberikan efek sitotoksik dan antitumor melalui modulasi keseimbangan antioksidan sehingga dapat mengendalikan ROS melalui peningkatan aktivitas superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) < *glutathione reductase* (GR) dengan mengurangi peroksida lipid dan produksi ROS (Kahkeshani et al., 2019).

