

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Mengkudu

1. Sistematika mengkudu (*Morinda citrifolia* (L.) Merr.)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rubiales
Family	: Rubiaceae
Genus	: Morinda
Species	: <i>Morinda citrifolia</i> L. (Sitepu dan Josua 2012).



Gambar 1. Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* (L.) Merr.) (Kemenkes 2017)

2. Nama lain

Tanaman Mengkudu memiliki beberapa nama lain lain seperti Bancudus Latifolia Rumph (Latin), Noni (Hawaii), Nono (Tahiti), Nonu (Tonga), ungoikan (Myanmar), Ach (Hindi) dan mempunyai nama daerah seperti keumeudee (Aceh), pace, kemudu, kudu (Jawa), cangkudu (Sunda) (Djauhariya *et al.* 2006).

3. Deskripsi tanaman

Ciri spesifik dari tanaman ini adalah pohonnya tidak terlalu besar, dengan tinggi 3-8 m. Batangnya bengkok-bengkok berdahan kaku, memiliki akar tunggang yang tertancap dalam. Kulit batang coklat kekuningan, beralur dangkal, tidak berbulu, anak cabangnya segi empat. Tajuknya hijau seperti daun. Batang mengkudu mudah dibelah setelah dikeringkan dan bisa digunakan sebagai kayu bakar dan tiang (Erfi dan Prasetyo 2001; Nuryati 2003).

Daun mengkudu berukuran besar dan tunggal. Daun kebanyakan bersilang berhadapan, bertangkai, bulat telur lebar hingga bentuk elips, kebanyakan dengan ujung runcing, sisi atas hijau tua mengkilat, sama sekali gundul, 5-17 cm. Daun penumpu bentuknya bervariasi, kadang bulat telur, bertepi rata, hijau kekuningan, gundul, dengan panjang 1,5 cm, di bawah karangan bunga selalu cukup tinggi dan tumbuh menjadi satu serta peruratan daun menyirip. Daun mengkudu dapat dimakan sebagai sayuran dan nilai gizinya tinggi karena banyak mengandung vitamin A (Nuryati 2003).

Perbungaan mengkudu bertipe bongkol dengan tangkai 1-4 cm, rapat, berbunga banyak, tumbuh di ketiak. Bunga berbau harum dan mahkotanya berbentuk tabung, terompet, putih, dalam lehernya berambut wol, panjangnya tabung bisa mencapai 1,5 cm. Benang sari berjumlah 5, tumbuh jadi satu dengan tabung mahkota hingga berukuran cukup tinggi, tangkai sari berambut wol (Erfi dan Prasetyo 2001; Nuryati 2003).

Kelopak bunga tumbuh menjadi buah yang bulat atau lonjong seperti telur ayam. Permukaan buah terbagi dalam sel-sel poligonal (bersegi banyak) yang berbintik-bintik atau berkulit. Bakal buah pada ujungnya berkelopak dan berwarna hijau kekuningan. Awalnya buah berwarna hijau ketika masih muda, dan menjadi putih kekuningan menjelang buahnya masak dan setelah benar-benar matang menjadi putih transparan dan lunak. Daging buah tersusun atas buah-buah batu yang berbentuk piramid atau bentuk memanjang segitiga dan berwarna coklat kemerahan (Steenis 1975).

Biji dari buah mengkudu berwarna hitam, memiliki albumen yang keras dan ruang udara yang tampak jelas. Bijinya tetap memiliki daya tumbuh tinggi, walaupun telah disimpan selama 6 bulan. Perkecambahannya 3-9 minggu setelah biji disemaikan. Pertumbuhan tanaman setelah biji tumbuh sangat cepat. Dalam waktu 6 bulan, tinggi tanaman dapat mencapai 1,2-1,5 m. Perbungaan dan pembuahan dimulai pada tahun ke-3 dan berlangsung terus-menerus sepanjang tahun. Umur maksimum dari tanaman mengkudu adalah sekitar 25 tahun (Djauhariya *et al.* 2006).

4. Khasiat tanaman

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L) banyak dimanfaatkan untuk pengobatan karena diyakini dapat meningkatkan daya tahan tubuh, menormalkan tekanan darah, antikanker, antitumor, analgesik, antiradang, antibakteri, dan mengatur siklus energi tubuh (Tadjudin dan Iswanto 2002). Oleh karena itu mengkudu sering digunakan sebagai obat batuk, asma, tuberculosis, gangguan pernapasan, radang tenggorokan, sakit gigi, sariawan, cacingan, diare, radang usus, radang sendi, keram saat menstruasi, datang bulan tidak lancar, membantu kesehatan saat hamil dan persalinan, penghilang rasa sakit kepala, kencing manis, maupun sebagai campuran makanan (Bangun dan Sarwono 2002).

5. Kandungan kimia

Daun mengkudu mengandung senyawa bioaktif yang terdiri dari senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan glikosida iridoid (Sabirin *et al.* 2013).

5.1. Alkaloid. Alkaloid kebanyakan berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu, tidak berwarna dan bersifat basa. Alkaloid dapat ditemukan di berbagai tumbuh-tumbuhan seperti pada biji, daun, ranting, dan kulit batang. Hampir semua alkaloid mempunyai efek biologis tertentu, ada yang beracun ada juga yang sangat berguna sebagai obat. Nitrogen merupakan senyawa yang mudah mengalami dekomposisi terutama oleh sinar, dengan adanya oksigen diakibatkan oleh kebiasaannya (Lenny 2006).

5.2. Flavonoid. Flavonoid diketahui terdistribusi secara luas pada tanaman. Peranan senyawa ini di tanaman cukup beragam, mulai dari memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga, hingga sebagai penangkal terhadap mikroba dan insekta. Senyawa ini memiliki struktur dasar yang dibangun oleh 15 atom C (C₆-C₃-C₆) (Andarwulan dan Faradila 2012). Flavonoid merupakan turunan dari 2-fenilbenzopiren yang mengandung 3 cincin (A,B,C). Struktur dasar ini merupakan 2 cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan dengan cincin heterosiklik di tengah (C) (Simanjuntak 2012). Secara umum flavonoid dapat dibagi ke dalam tiga jenis berdasarkan perbedaan struktur C₃ yang mengikat dua gugus benzena. Ketiga jenis tersebut adalah kalkon, auron, dan flavonoid. Lebih lanjut, berdasarkan posisi cincin B terhadap cincin C pada flavonoid, senyawa

flavonoid dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu flavonoid (2-fenilbenzopiran), isoflavonoid (3-benzopiran), dan neoflavonoid. Berdasarkan tingkat oksidasi dan kejenuhannya pada cincin C pada flavonoid, flavonoid dapat dibagi menjadi delapan jenis, yaitu flavan, flavanon, flavon, flavonol, dihidroflavonol, flavan-3-ol, flavan-4-ol, flavan-3,4-diol (Andarwulan dan Faradilla 2012). Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker, antiviral, antiinflamasi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler dan penangkap radikal bebas (Amic *et al.* 2003).

5.3. Saponin. Saponin adalah suatu glikosida yang terdapat pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan dan sebagai pelindung terhadap serangan serangga (Sirait 2007).

5.4. Tanin. Tanin merupakan serbuk berwarna putih, kuning sampai kecoklatan dan berubah menjadi coklat tua jika terkena sinar matahari. Tanin terdiri dari tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi berasal dari reaksi polimerisasi (kondensasi) antar flavonoid. Tanin terhidrolisis terbentuk dari esterifikasi gula dengan asam fenolat sederhana (Heinrich *et al.* 2009).

B. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia dibagi menjadi tiga jenis, yang pertama simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan, yang kedua simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Ketiga yaitu serbuk simplisia nabati bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan derajat kehalusan tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus (DepKes 2008).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini berupa daun yang merupakan simplisia nabati yang berasal dari bahan baku budidaya atau tumbuhan liar. Keuntungan simplisia yang diperoleh dengan cara budidaya adalah keseragaman umur, waktu panen, dan galur (asal-usul dan garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Keuntungan simplisia yang diperoleh dari tanaman liar adalah kemungkinan zat yang terkandung masih sempurna belum mengalami modifikasi karena pengaruh pestisida. Akan tetapi pengambilan simplisia dari tanaman liar mempunyai banyak kendala dan variabilitas (asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh) yang tidak bisa dikendalikan (DepKes 2007).

3. Pengeringan

Tujuan pengeringan simplisia untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis sehingga mencegah penurunan waktu penyimpanan atau simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktifnya berubah. Pengeringan dapat dilakukan dengan dua macam cara yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan secara alamiah dilakukan dengan cara menjemur simplisia di bawah sinar matahari langsung dan sangat tergantung cuaca atau diangin-anginkan di udara terlindung dari sinar matahari langsung. Cara ini terutama digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun dan sebagainya. Pengeringan secara buatan dilakukan menggunakan mesin pengeringan seperti pemanas (oven) bertenaga listrik atau diesel. Panas yang dihasilkan mesin lebih stabil sehingga pengeringan lebih terkontrol, waktu pengeringan tidak tergantung cuaca, proses pengeringan lebih cepat dan kualitas yang dihasilkan lebih baik. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Sudewo 2009).

C. Ekstrak

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai

kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes 1995).

2. Metode ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Sarker *et al.* 2006). Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi, refluks, atau soxhletasi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda (Putra *et al.* 2014).

2.1. Maserasi. Maserasi merupakan metode yang sederhana, tetapi masih digunakan secara luas. Prosedurnya dilakukan dengan merendam bahan tanaman (simplicia) dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Metode ini sesuai baik untuk ekstraksi pendahuluan konsentrasi metabolit dalam ekstrak dan dalam bahan tanaman. Setelah ekstraksi, residu bahan tanaman (maserat) harus dipisahkan dari pelarut. Kelemahan utama dari maserasi adalah prosesnya cukup memakan waktu yang lama, dapat berlangsung beberapa jam sampai beberapa minggu. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut dan berpotensi dapat hilangnya metabolit. Selain itu, beberapa senyawa tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut dalam temperatur kamar. Dilain pihak, dikarenakan ekstraksi dilakukan pada temperatur kamar, maserasi tidak menyebabkan degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas, pengadukan sekali ataupun secara konstan (dengan menggunakan alat pengocok mekanik untuk menjamin kehomogenan) dapat meningkatkan ekstraksi (Ditjen POM 2000).

2.2. Perkolasi. Istilah perkolasi berasal dari kata '*percolare*' yang artinya penetesan. Merupakan ekstraksi yang dilakukan penetesan cairan penyari dalam wadah silinder atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar. Bahan ekstraksi yang dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir lambat melintasi simplicia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui pembaharuan terus-menerus bahan pelarut berlangsung sesuai suatu maserasi banyak tingkat. Jika

pada maserasi sederhana suatu ekstraksi sempurna dari simplisia tidak terjadi, karena kesetimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan di sekelilingnya dapat diatur, maka pada perkolasi melalui pemasukan bahan pelarut yang ekstraksi total secara teoritis adalah mungkin berkaitan dengan perbedaan konsentrasi pada posisi yang baru, secara praktek diperoleh sampai 96% bahan yang terekstraksi. Sebelum perkolasi dilakukan, simplisia terlebih dahulu direndam menggunakan pelarut dan dibiarkan membengkak agar mempermudah pelarut masuk ke dalam sel. Pembengkakan ini juga dapat menyebabkan pecahnya wadah itu sendiri. Dalam pengisian simplisia tidak boleh terdapat ruang rongga. Hal ini akan mengganggu keteraturan cairan dan menyebabkan berkurangnya hasil ekstraksi, namun suatu pengisian yang kompak dapat menghambat aliran pelarut atau malah menghentikannya (Voight 1994). Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak (DepKes 2000).

2.3. Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya dalam jangka waktu tertentu di mana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu. Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kekurangan yang utama dari metode ini adalah terdegradasinya komponen yang tidak tahan panas (Ditjen POM 2000).

2.4. Soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi kontinu menggunakan alat soxhlet dimana pelarut akan terkondensasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel dan mengisi bagian tengah alat soxhlet. Tabung sifon juga terisi dengan larutan ekstraksi dan ketika mencapai bagian atas tabung sifon, larutan tersebut akan kembali ke dalam labu (Ditjen POM 2000). Pada ekstraksi ini, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (*thimble*) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat soxhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondensor. Embunan pelarut ini akan mengalir turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif

terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini akan berlangsung terus-menerus dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan. Keuntungan proses ini jika dibandingkan dengan proses lainnya yaitu dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Endarini 2016).

3. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses pemisahan ekstrak harus selektif yaitu pelarut yang digunakan mampu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan. Beberapa faktor penting yang dapat dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah mudah diperoleh, harga relatif murah, stabil secara fisika dan kimia serta bereaksi netral (DepKes 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena bersifat universal dan selektif terhadap metabolit sekunder (Nur dan Astawan 2011). Pelarut etanol 96% mampu mengekstraksi senyawa fenol dan flavonoid lebih baik daripada pelarut heksan (Yuswi 2017). Menurut Wypych (2001) pelarut polar seperti metanol dan etanol mampu mengekstrak senyawa fenol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etilasetat, heksan, dan air. Pelarut metanol dan etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan dengan gugus fenol yang ada dan meningkatkan kelarutannya.

Menurut Markham (1988), aglikon flavonoid adalah aglikon yang mempunyai sifat kimia senyawa fenol. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam terbesar, karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetil formamida, air dan lain-lain.

D. Hewan Percobaan

Dalam pelaksanaan penelitian, peneliti harus membuat dan menyesuaikan protokol dengan standar yang berlaku secara ilmiah dan etik penelitian kesehatan. Etik penelitian kesehatan secara umum tercantum dalam *World Medical Association*, yaitu: *respect* (menghormati hak dan martabat makhluk hidup, kebebasan memilih dan berkeinginan, serta bertanggungjawab terhadap dirinya, termasuk di dalamnya hewan coba), *beneficiary* (bermanfaat bagi manusia dan makhluk lain, manfaat yang didapatkan harus lebih besar dibandingkan dengan resiko yang diterima), dan *justice* (bersikap adil dalam memanfaatkan hewan percobaan) (Ridwan 2013).

1. Sistematika mencit

Sistematika mencit menurut Itis (2015), sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Deuterostomia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Infraphylum	: Gnathostomata
Superclass	: Tetrapoda
Class	: Mamalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Family	: Muridae
Subfamily	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

2. Deskripsi mencit

Mencit laboratorium merupakan turunan dari mencit liar yang telah mengalami pembiakan secara selektif. Mencit dikelompokkan ke dalam kingdom

animalia, phylum chordata. Hewan ini termasuk hewan yang bertulang belakang dan menyusui sehingga dimasukkan ke dalam subphylum vertebrata dan kelas mamalia. Selain itu hewan ini juga memiliki kebiasaan mengerat (ordo rodentia), dan merupakan famili muridae, dengan nama genus *Mus* serta memiliki nama spesies *Mus musculus* L (Priyambodo 2003).

Mencit secara biologis memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit merupakan hewan nokturnal yang sering melakukan aktivitasnya pada malam hari. Perilaku mencit dipengaruhi oleh faktor internal seperti seks, perbedaan umur, hormon, kehamilan, penyakit, dan faktor eksternal seperti makanan, minuman, lingkungan disekitarnya. Mencit dapat bertahan hidup selama 1-2 tahun dan dapat juga mencapai umur 3 tahun. Lama bunting 19-21 hari sedangkan umur untuk siap dikawinkan 8 minggu dan perkawinan mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Satu induk dapat menghasilkan 6-15 ekor anak (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Mencit memiliki berat badan yang bervariasi. Berat badan ketika lahir berkisar antara 2-4 gram, berat badan mencit dewasa berkisar antara 20-40 g untuk mencit jantan dan 25-40 g untuk mencit betina dewasa. Sebagai hewan pengerat mencit memiliki gigi seri yang kuat dan terbuka. Susunan gigi mencit adalah $\frac{1}{2}$, caninus 0/0, premolar 0/0, dan molar 3/3 (Setijono 1985).

3. Karakteristik utama mencit

Berat badan mencit bervariasi, umumnya pada umur empat minggu berat badannya mencapai 18-20 g. Mencit liar dewasa beratnya antara 30-40 g pada umur 6 bulan atau lebih. Mencit laboratorium mempunyai berat badan yang hampir sama dengan mencit liar, tetapi setelah ditenakkan secara selektif selama dua puluh tahun. Saat ini terdapat berbagai warna bulu dan timbul banyak galur dengan warna yang berbeda-beda (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Karakteristik dan keutamaan dari mencit antara lain pembauannya sangat peka yang memiliki fungsi untuk mendeteksi pakan, deteksi predator dan deteksi signal (*feromon*). Penglihatannya jelek karena sel conus sedikit sehingga tidak dapat melihat warna, sistem sosial nya bersifat soliter atau berkelompok dan tingkah laku nya untuk

jantan dewasa dengan jantan dewasa akan berkelahi, betina dewasa dengan jantan dewasa bersifat damai dan betina dewasa dengan betina dewasa bersifat damai (Rasyaf 1990).

4. Kondisi ruang dan pemeliharaan hewan uji

Menempatkan hewan pengerat di laboratorium sesuai dengan lingkungannya akan mengoptimalkan kesejahteraan hewan dan merupakan hal penting yang perlu dipertimbangkan. Pengaturan perkandangan yang ideal harus mempertimbangkan aspek sosial, alat gerak, fisiologis, dan persyaratan perilaku spesies tertentu. Suhu ruangan untuk pemeliharaan mencit berkisar antara 20-25°C, dengan kelembaban berkisar 79%. Secara teori mencit dapat dipelihara dengan baik pada suhu 70-80°F setara 21,11-26,67°C. Kelembaban ruangan berkisar 45-55% (Marbawati dan Ikawati 2008). Luas kandang untuk mencit berupa kotak sebesar kotak sepatu yang terbuat dari bahan plastik (polipropilen atau polikarbonat), aluminium atau baja tahan karat. Syarat kandang mudah dibersihkan, tahan lama, tahan gigitan dan aman. Agar tidak becek, bagian alas kandang diberikan sekam atau serutan kayu yang diganti setiap seminggu sekali. Mencit liar makan segala macam makanan (*omnivorus*) dan mau mencoba makan apapun makanan yang tersedia bahkan bahan yang tidak bisa dimakan. Makanan yang diberikan untuk mencit biasanya berbentuk pelet secara tanpa bata (*ad libitum*). Air minum dapat diberikan dengan botol-botol gelas atau plastik dan mencit dapat minum air dari botol tersebut melalui pipa gelas. Mencit liar lebih suka suhu lingkungan tinggi, namun juga dapat terus hidup dalam suhu rendah (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh zat-zat makanan yang terkandung dalam makanan (nutrisi) hal ini terbukti bahwa apabila seekor hewan kekurangan nutrisi atau mengalami defisiensi suatu zat makanan maka laju pertumbuhan hewan tersebut akan terhambat. Menurut Rasyaf (1990) pertumbuhan berjalan normal apabila ransum yang diberikan mengandung zat-zat makanan dalam kualitas dan kuantitas yang baik.

5. Cara pemberian obat

Cara pemberian senyawa pada hewan coba yang lazim adalah per-oral, namun yang paling tepat adalah mempertimbangkan kemungkinan cara pemberian

senyawa tersebut pada manusia. Pemberian zat kimia melalui oral secara cepat akan diabsorpsi oleh saluran cerna, zat kimia akan dimetabolisme di hati sesuai dengan kadar yang tertelan dan hal ini tidak terjadi pada jalur pemberian lainnya. Cairan obat diberikan menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit mulut atas mencit, kemudian perlahan dimasukkan sampai ke eksofagus dan cairan obat dimasukkan (Danneman *et al.* 2013).

6. Cara pemegangan dan penandaan hewan uji

Penanganan dan pengendalian merupakan prosedur yang penting bagi petugas yang bekerja dengan hewan uji. Petugas kandang harus memahami bagaimana cara yang benar dalam menangani hewan, meminimalisasi rasa takut dan tertekan. Idealnya dalam memegang mencit, ekor mencit dipegang di daerah tengah ekor dengan tangan kiri, leher dipegang dengan tangan kanan dan ibu jari memegang kuduk dan jari kelingking menjepit ekor (Marbawati dan Ikawati 2008).

Tujuan dari pemberian tanda pada hewan coba di samping untuk mencegah kekeliruan hewan dalam sistem pembiakannya juga untuk mempermudah dalam percobaan. Berbagai macam cara yang dipakai dalam identifikasi tergantung kepada selera dan lama tidaknya hewan tersebut dipelihara. Beberapa penandaan hewan uji diantaranya *marking*, *ear puching*, *too clipping*, *ear tags*, *tattocing*, dan *coat colors* (Sulaksono 1992).

7. *Forced swim test*

Pengukuran waktu imobilitas dilakukan dengan mengamati aktivitas motorik mencit yang ditempatkan di bejana air. Sebuah silinder kaca berdiameter 25 cm, tinggi 23 cm, diisi air hingga ketinggian 12 cm, suhu air $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Pengukuran dilakukan selama delapan menit; dua menit pertama hewan diizinkan untuk menyesuaikan diri dengan kondisi baru, setelah dua menit tersebut, waktu imobilitas yang bergantian dengan kondisi aktivitas motorik diukur. Waktu imobilitas diukur dengan *stopwatch* untuk enam menit selanjutnya (Istriningsih *et al.* 2018). Waktu imobilitas adalah waktu dimana binatang mengapung di permukaan dengan kaki depan bersama-sama dan hanya membuat gerakan-gerakan yang diperlukan untuk tetap bertahan (Bach 2004).

8. Pengukuran kadar gula darah

Pengukuran kadar glukosa darah mencit melalui vena ekor dengan alat “*Blood Glucosemeter Smartscan*”, alat ini sebelum digunakan untuk penentuan kadar gula dikalibrasi terlebih dahulu dengan nomor kode disesuaikan dengan *test strip* yang akan digunakan. Untuk setiap pengukuran diperlukan selembar *test strip*. Larutan baku untuk kalibrasi alat telah tersedia dalam kit. Setelah *test strip* diselipkan pada tempat khusus pada alat tersebut, pada layar akan muncul gambar “tetesan darah” yang menandakan alat siap digunakan. Mencit dimasukkan kedalam kandang individual yang berukuran tepat untuk satu tubuh mencit dengan ekor menjuntai keluar. Setelah ekor mencit didesinfektan dengan etanol 70%, ujung ekor digunting secara aseptik, tetesan darah pertama dibuang, tetesan berikutnya diserapkan pada test strip yang terselip pada alat. Sejumlah tertentu darah akan terserap sesuai dengan kapasitas serap test strip, setelah itu perdarahan ekor mencit dihentikan. Dalam waktu 15 detik pada layar tertera kadar gula dalam satuan mg/dL (Soemardji 2004).

E. Sistem Depresi

1. Pengertian

Depresi adalah salah satu dari lima penyakit yang paling umum di dunia. Pada tahun 2020, diharapkan menjadi penyebab utama kedua kecacatan secara global. Depresi biasanya disajikan sebagai diturunkan suasana hati, kesulitan dalam berpikir, kehilangan minat dan fisik keluhan seperti sakit kepala, tidur terganggu, kehilangan energi dan berubah dalam dorongan seks (Dwyer *et al.* 2011; Tegegne *et al.* 2015). Depresi dapat mempengaruhi tingkat kortikosteron. Kortikosteron merupakan glukokortikoid yang diproduksi oleh adrenal cortex sebagai respon terhadap ACTH (*corticotropic hormon*) dan merupakan pendahulu untuk aldosterone. Karenanya, produksi glukokortikoid meningkat di bawah berbagai tekanan (Goymann *et al.* 2002).

Depresi memiliki ciri-ciri umum yang dapat diamati, yaitu terjadinya perubahan pada kondisi emosional dan *mood* (periode terus menerus dari perasaan terpuruk, depresi, sedih atau muram). Penuh dengan air mata atau menangis serta

meningkatnya *iritabilitas* (mudah tersinggung), kegelisahan atau kehilangan kesadaran. Depresi juga menyebabkan terjadinya perubahan dalam motivasi serta perasaan tidak termotivasi atau memiliki kesulitan untuk memulai (kegiatan) di pagi hari atau bahkan sulit bangun dari tempat tidur, menurunnya tingkat partisipasi sosial atau minat pada aktivitas sosial serta kehilangan kenikmatan atau minat dalam aktivitas yang menyenangkan. Depresi juga membuat menurunnya minat pada seks serta gagal untuk merespon pada pujian atau *reward*. Perubahan kognitif maupun dalam fungsi dan perilaku motorik, gejala-gejala motorik yang dominan dan penting dalam depresi adalah retardasi motor yakni tingkah laku motorik yang berkurang atau lambat, bergerak atau berbicara dengan lebih perlahan dari biasanya. Depresi juga dapat menyebabkan perubahan dalam kebiasaan tidur (tidur terlalu banyak atau terlalu sedikit, bangun lebih awal dari biasanya dan merasa kesulitan untuk tidur kembali), perubahan dalam selera makan (makan terlalu banyak atau terlalu sedikit), perubahan dalam berat badan (bertambah atau kehilangan berat badan). Depresi juga menyebabkan aktivitas menjadi kurang efektif atau energik dari pada biasanya, orang-orang yang menderita depresi sering duduk dengan sikap yang terkulai dan tatapan yang kosong tanpa ekspresi, kesulitan berkonsentrasi atau berpikir jernih, berpikir negatif mengenai diri sendiri dan masa depan, perasaan bersalah atau menyesal mengenai kesalahan di masa lalu, kurangnya *self-esteem* atau merasa tidak adekuat serta berpikir kematian atau bunuh diri (Nevid *et al.* 2003).

2. Jenis-jenis depresi

Menurut Lubis (2009) jenis-jenis depresi berdasarkan arah penyakitnya yaitu, depresi unipolar dan bipolar. Depresi unipolar adalah gangguan depresi yang di cirikan oleh suasana perasaan depresif saja. Penderita dalam jangka waktu yang lama hanya mengalami perasaan sedih berkepanjangan. Pada depresi bipolar, dulunya gangguan ini disebut depresif manik. Tidak seperti gangguan depresif yang lainnya, gangguan bipolar meliputi lingkaran depresi dengan perasaan gembira berlebihan atau maniak. Kadang-kadang suasana perasaan tersebut berubah secara drastis dan cepat, tetapi sebagian besar berlangsung secara gradual.

Berdasarkan perkiraan pencetus depresi menurut Katzung (2010), depresi reaktif atau sekunder singkat, terjadi sebagai respon terhadap rangsangan yang nyata, seperti kesedihan, maupun penyakit. Pada depresi melankolik berulang, yakni suatu gangguan biokimiawi berdasarkan genetik yang ditandai dengan ketidakmampuan seseorang menikmati hidup atau menghadapi masalah sehari-hari serta depresi yang berkaitan dengan gangguan afektif bipolar.

Berdasarkan tingkat penyakitnya menurut WHO (*World Health Organization*) (2016), adalah sebagai berikut:

a. *Mild Depression / Minor Depression* dan *Dysthymic Disorder*

Pada depresi ringan, *mood* yang rendah datang dan pergi dan penyakit datang setelah kejadian *stressful* yang spesifik. Perubahan gaya hidup biasanya dibutuhkan untuk mengurangi depresi jenis ini. Bentuk depresi yang kurang parah disebut *distimia*. Depresi ini menimbulkan gangguan *mood* ringan dalam jangka waktu yang lama sehingga seseorang tidak dapat bekerja optimal.

b. *Moderate Depression*

Pada depresi dengan *mood* yang rendah dan berlangsung terus serta individu mengalami simtom fisik juga walaupun berbeda-beda setiap individu. Perubahan gaya hidup saja tidak cukup dan bantuan diperlukan untuk mengatasinya.

c. *Severe Depression / Major Depression*

Dalam depresi berat individu akan mengalami gangguan dalam kemampuan untuk bekerja, tidur, makan, dan menikmati hal yang menyenangkan. Penting untuk mendapatkan bantuan medis secepatnya.

3. Antidepresan

Antidepresan adalah semua hal yang digunakan untuk mengobati depresi. Antidepresan terutama digunakan untuk mengobati depresi, gangguan obsesif-kompulsif, gangguan ansietas menyeluruh, gangguan panik, gangguan fobik pada kasus tertentu, enuresis nokturnal dan bulimia nervosa (Katzung 2010). Berikut adalah berbagai jenis antidepresan yang sering digunakan:

3.1. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs)*

Mekanisme kerja dari SSRI adalah menghambat pengambilan 5-HT ke dalam neuron presinaptik. Sering digunakan sebagai lini pertama karena efek samping yang cenderung aman (Santarsieri dan Schwartz 2014). Obat jenis ini memiliki afinitas tinggi terhadap reseptor monoamine tetapi tidak memiliki afinitas terhadap adrenoreseptor α , histamin, muskarinik atau asetilkolin yang terdapat juga pada obat antidepresan trisiklik (Katzung *et al.* 2012). Beberapa contoh obat yang termasuk ke dalam golongan SSRI adalah Citalopram, Fluvoxamine, Paroxetine, Fluoxetine, Sertraline (Kauffman 2009). Efek samping dari SSRI adalah sakit kepala, insomnia, kelelahan, kecemasan, disfungsi seksual, peningkatan berat badan (Santarsieri dan Schwartz 2014). SSRI dilaporkan berinteraksi dengan 40 obat lainnya menyebabkan serotonin sindrom. Ciri ciri dari sindrom ini adalah kekakuan, tremor, demam, kebingungan, atau agitasi. SNRI juga dapat menyebabkan sindrom serotonin. Namun, obat trisiklik tidak memiliki efek samping tersebut kecuali Amitriptyline. Penelitian terbaru menyebutkan terdapat obat golongan SSRI yaitu Vortioxetine yang dapat ditoleransi dengan baik dan prevalensi efek samping kecil. Vortioxetine dapat meningkatkan kualitas hidup pasien yang menderita depresi dengan signifikan (Dziwota dan Olajossy 2016).

3.2. *Serotonine Norepinephrine Reuptake Inhibitors (SNRIs)*

SNRI bekerja dengan melakukan pengangkutan serotonin dan norepinefrin. Pengangkutan norepinefrin secara struktur mirip dengan pengangkutan serotonin. Pengangkutan norepinefrin memiliki afinitas ringan terhadap dopamine. Afinitas sebagian besar SNRI cenderung lebih besar untuk pengangkut serotonin daripada norepinefrin (Tjay dan Rahardja 2010). Beberapa contoh obat yang termasuk ke dalam golongan SNRI adalah Venlafaxine, Duloxetine, Desvenlafaxine, Milnacipran, Levomilnacipran (Sansone 2014).

3.3. *Tricyclic Antidepressants (TCAs)*

Obat golongan trisiklik seperti Amitriptyline, Clomipramine, Doxepin dan Imipramine efektif untuk penyakit depresi, tetapi penggunaannya telah

berkurang karena telah tersedia obat yang mempunyai efektivitas terapi yang sama tetapi mempunyai dosis yang lebih aman dan lebih toleransi. Mekanisme obat golongan trisiklik ini bekerja adalah dengan menghambat reuptake dari norepinefrin dan 5-HT, memblokir adrenergik, kolinergik, dan reseptor histaminergik (Wells *et al.* 2009).

3.4. *Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)*

Bekerja dengan mekanisme meningkatkan konsentrasi norepinefrin, 5-HT, dan dopamine dalam neuron sinaps melalui penghambatan sistem enzim *monoamine oxidase* (MAO) (Wells *et al.* 2009). Monoamin oksidase dalam tubuh memiliki fungsi deaminasi oksidatif katekolamin di mitokondria. Proses ini dihambat oleh MAOI karena terbentuknya suatu kompleks antara MAOI dan MAO sehingga mengakibatkan peningkatan kadar epinefrin, norepinefrin, dan serotonin. MAOI tidak hanya menghambat MAO, tetapi menghambat juga enzim lain yang mengakibatkan terganggunya metabolisme obat di hati (Tjay dan Rahardja 2010). Penggunaan obat golongan MAOI sudah sangat jarang dikarenakan efek toksik. Efek samping yang sering terjadi adalah hipotensi dan hipertensi. Contoh obat MAOI adalah Isocarboxazid, Phenelzine, Tranylcypromine, Selegiline (Santarsieri dan Schawrtz 2015).

4. **Indikasi Klinis**

Indikasi utama antidepresan adalah untuk mengobati depresi, melalui berbagai pengalaman klinis dan uji terkontrol, ditemukan juga kegunaan lainnya dari antidepresan (Katzung 2000):

4.1. Depresi Mayor

Indikasi ini telah disalahartikan secara luas untuk segala macam depresi, karena bukti klinis yang ada menunjukkan bahwa obat ini hanya berguna untuk episode depresi mayor. Episode depresi mayor terutama didiaognosis berdasar derajat dan kualitas hilangnya *mood*, minat, dan kesenangan melakukan kebanyakan aktivitas yang persisten, biasanya disertai dengan gangguan tidur, nafsu makan, gairah seksual, gangguan dan kemampuan untuk berkonsentrasi. Diagnosis depresi mayor mungkin tidak jelas pada pasien tertentu sehingga kelainan ini sering kali terlewatkan dan tidak diobati. Fase depresi dalam

gangguan bipolar harus diterapi menggunakan terapi farmakologik karena tingginya angka bunuh diri pada pasien.

4.2. Panik, Ansietas Umum dan Fobia Sosial

Imipramine pertama kali dibuktikan bermanfaat menangani episode ansietas akut, suatu gangguan yang saat ini dikenal sebagai serangan panik. SSRI, Venlafaxine dan Duloxetine juga terbukti efektif mengatasi panik, *generalized anxiety disorder* (GAD), dan fobia sosial, tapi obat-obat ini perlu diberikan selama 6-8 minggu. Karena terdapat komorbiditas yang besar antara depresi dan gangguan ansietas, akan sangat bermanfaat bagi sebagian besar pasien untuk mendapatkan terapi yang dapat mengatasi kedua kondisi ini. Pada beberapa keadaan, karena ditoleransi dengan baik dan efek klinisnya muncul dengan cepat, Benzodiazepine tetap menjadi obat pilihan untuk gangguan ansietas meskipun penggunaan jangka panjangnya mengakibatkan ketergantungan fisiologik.

4.3. Gangguan Obsesif Kompulsif

SSRI kuat secara efektif mengobati kelainan ini. Penelitian-penelitian terbaru memusatkan perhatian mereka pada Fluoxetine dan SSRI lainnya, meskipun Clomipramine, yakni penghambat campuran transporter norepinephrine dan serotonin yang paling kuat, mungkin juga sangat efektif. Fluvoxamine dipasarkan secara eksklusif untuk gangguan ini di Amerika Serikat.

4.4. Enuresis

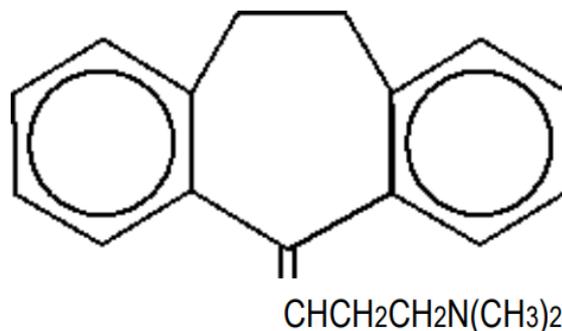
Enuresis adalah indikasi utama penggunaan trisiklik. Bukti-bukti efektivitas antidepressan untuk indikasi ini cukup banyak, tetapi sebenarnya penggunaan obat tidak dianjurkan karena adanya resiko kardiovaskular dan bahaya *overdose*.

4.5. Nyeri Kronik

Para dokter di klinik menemukan bahwa trisiklik bermanfaat mengobati berbagai keadaan nyeri kronik yang sering kali tidak dapat di diagnosis secara pasti. Trisiklik dan penghambat transporter serotonin-norepinephrine lainnya kemungkinan bekerja langsung pada jalur nyeri dan tidak hanya mengatasi depresi yang ditimbulkan oleh nyeri kronik tersebut.

5. Amitriptyline

Amitriptyline termasuk obat golongan antidepresan trisiklik dengan mekanisme kerja mengatur penggunaan neurotransmitter norepinefrin dan serotonin pada otak. Manfaat klinis dengan riwayat jantung yang dapat diterima dan gambaran EKG (Elektrokardiogram) dalam batas normal, terutama bagi pasien di atas usia 40 tahun, aman dan efektif dalam pengobatan penyakit depresi akut dan jangka panjang. Reaksi yang merugikan dan pertimbangan keperawatan, perawat harus mampu mengetahui efek samping umum dari antidepresan dan mewaspadaikan efek toksik serta pengobatannya (Mutchler dan Ernst 1991).



Gambar 2. Struktur kimia Amitriptyline (Muatawa 2012).

Lebih dari 50% penderita depresi mengalami remisi dengan antidepresan trisiklik, tetapi kekambuhan terjadi jika obat dihentikan terlalu cepat dan diperlukan dosis pemeliharaan. Semua golongan senyawa trisiklik memerlukan 3 minggu untuk menimbulkan efek antidepresinya, tetapi efek samping muncul seketika. Efek samping dari obat Amitriptyline berupa mulut kering dan kesulitan dalam memusatkan pikiran (efek antikolinergik), berkeringat banyak dan *flushing* (efek adrenergik), dan hipotensi postural. Dalam dosis besar (lebih dari 150 mg per hari) bisa timbul tremor kedutan otot dan epilepsi (1%). Pada pria usia dewasa dan tua, dosis sedang bisa menyebabkan retensi urin akut dan glaukoma akut, serta dapat muncul takikardia dan aritmia. Dosis awal Amitriptyline 25 mg tiga kali per hari atau dosis tunggal 50-100 mg malam hari, ditingkatkan dalam seminggu ke 150 mg per hari dan diteruskan paling kurang selama sebulan. Kemudian berikan dosis pemeliharaan 50-100 mg per hari diteruskan selama 9 bulan dapat mengurangi angka kekambuhan (Ingram *et al.* 1993).

F. Landasan Teori

Teori monoamine menunjukkan sebagai penyebab depresi yaitu terganggunya keseimbangan antara neurotransmitter di otak. Khususnya akibat terutama kekurangan serotonin (=5HT) dan atau noradrenalin di saraf-saraf otak. Selain neurotransmitter juga faktor keturunan merupakan pemeran penting pada terjadinya depresi. Serotonin atau 5-hidroksitriptamin (5HT) berfungsi sebagai neurotransmitter pada komunikasi antara neuron-neuron otak. Zat ini berkhasiat antara lain memperbaiki suasana jiwa, menghambat nafsu makan, juga meningkatkan rasa kantuk dan ambang nyeri, hingga rasa sakit lebih mudah diatasi (Tjay dan Rahardja 2010).

Serotonin disintesa secara enzimatis dari triptofan, terutama di sel-sel tertentu dari saluran cerna. Di samping itu dalam jumlah ringan juga di saraf otak dan saraf perifer, mastcells dan jaringan ginjal. Dari usus serotonin diserap ke dalam darah dan untuk sebagian besar dirombak di dalam hati. Sisanya yang sedikit diserap oleh sel-sel endotel dari paru-paru dan dinaktifkan oleh metiltransferase dan MAO-A (*Monoamine Oxidase-A*) menjadi *5-hydroxyindoleacetaldehyde* (Tjay dan Rahardja 2010).

Menurut Pratiwi *et al.* (2014), stres pada pasien DM dapat berakibat gangguan pada pengontrolan gula darah. Dalam keadaan stres akan terjadi peningkatan ekskresi hormon katekolamin, glukagon, glukokortikoid, endorfin dan hormon pertumbuhan. Stres menyebabkan produksi berlebih pada kortisol, yang berfungsi melawan efek insulin dan menyebabkan kadar glukosa darah tinggi, jika seorang mengalami stres berat yang dihasilkan dalam tubuhnya, maka kortisol yang dihasilkan akan semakin banyak dan dapat mengurangi sensitifitas tubuh terhadap insulin. Kortisol merupakan penghambat dari fungsi insulin sehingga membuat glukosa lebih sulit untuk memasuki sel dan meningkatkan glukosa darah. Stres dapat meningkatkan kandungan glukosa darah karena stres menstimulus organ endokrin untuk mengeluarkan ephinefrin, ephinefrin mempunyai efek yang sangat kuat dalam menyebabkan timbulnya proses glukoneogenesis di dalam hati, sehingga akan melepaskan sejumlah besar glukosa ke dalam darah dalam beberapa

menit. Hal inilah menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah saat stres atau tegang.

Menurut Evacuasiy (2010), daun mengkudu mengandung zat-zat aktif seperti flavonoid, xeronin, dan asam-asam amino. *Epigallocatechin gallate* (EGCg) merupakan antioksidan golongan flavonoid polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas. Xeronin merupakan alkaloid penting untuk mengatur fungsi dan bentuk protein spesifik sel-sel tubuh manusia. Pada daun mengkudu juga terdapat asam-asam amino yang berpengaruh dalam proses glikolisis yang dapat membantu dalam menurunkan kadar glukosa darah. Flavonoid juga bekerja dalam menghambat enzim alfa-glucosidase di dalam saluran cerna, akibatnya daya absorpsi karbohidrat berkurang sehingga menurunkan glikemik dan menciptakan efek hemat insulin. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mengkudu dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan dan potensi penurunan kadar glukosa darah pada dosis 1,6 g/kg BB setara dengan Glibenklamid.

G. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dalam penelitian ini dapat disusun hipotesa sebagai berikut:

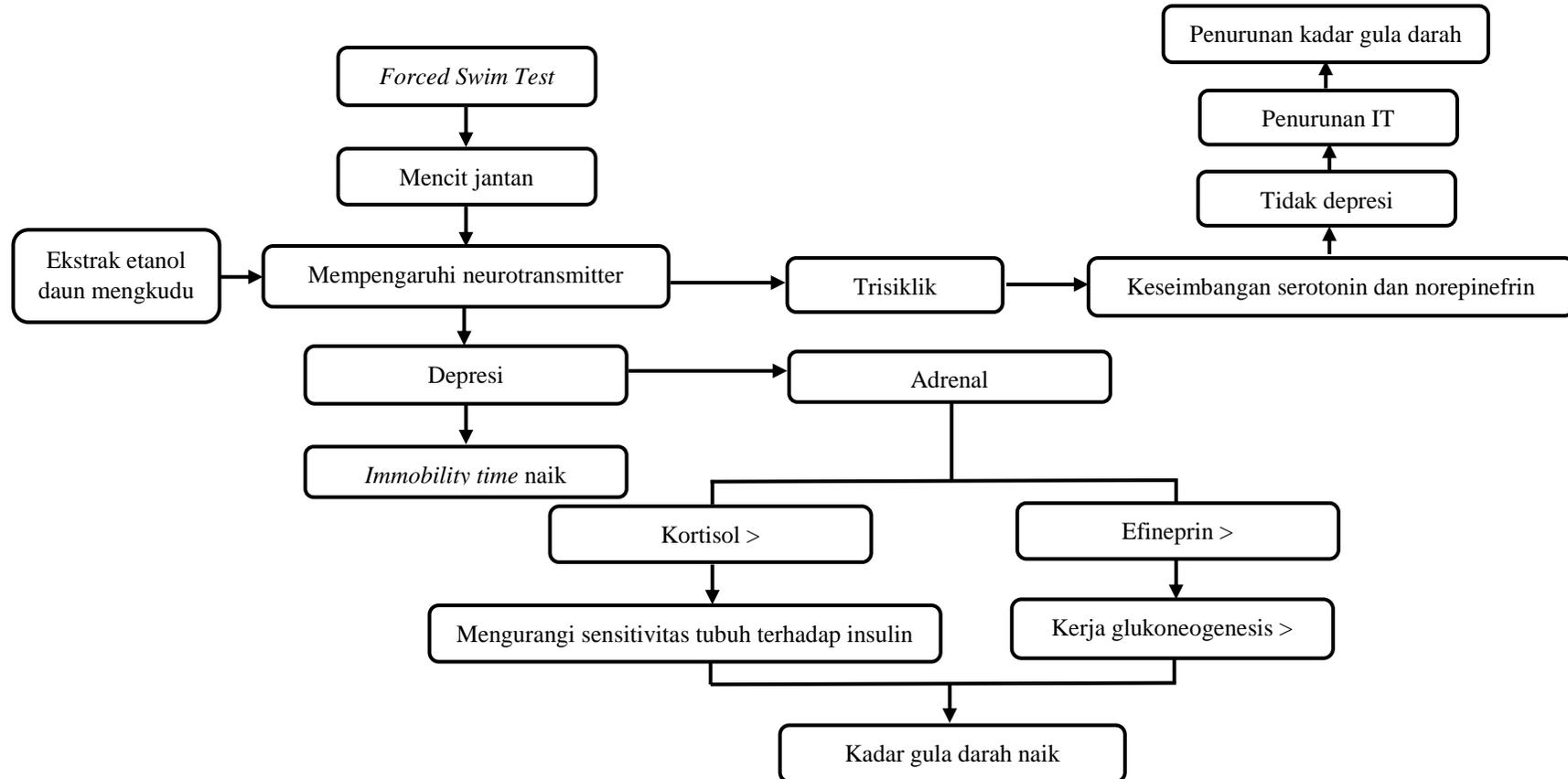
Pertama, pemberian ekstrak etanol daun mengkudu dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat menurunkan *immobility time* pada mencit yang diinduksi depresi dengan FST.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun mengkudu dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit yang diinduksi depresi dengan FST.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun mengkudu memiliki dosis efektif sebesar 400 mg/kg BB yang dapat menurunkan *immobility time* dan kadar gula darah secara signifikan pada mencit yang diinduksi depresi dengan FST.

H. Kerangka Konsep Penelitian

Adapun kerangka konsep penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Skema kerangka konsep penelitian.