

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.)

1. Deskripsi Tanaman Alpukat

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) bukan termasuk tanaman asli Indonesia, tetapi keberadaannya sudah tidak asing bagi masyarakat. Tanaman ini berasal dari dataran rendah dan tinggi dari Amerika Tengah. Tanaman alpukat tumbuh didaerah tropis dan subtropis dengan curah hujan antara 1.800-4.500 mm/tahun. Tumbuh dengan iklim sejuk dan basah, serta tidak dapat hidup pada suhu rendah maupun tinggi. Tanaman alpukat masuk ke Indonesia diperkirakan abad ke-18. Tanaman ini tumbuh kokoh, tinggi, dan cukup rindang. Pada habitat alam tropis, tanaman alpukat dapat ditanam di lahan-lahan kering karena dapat memperbaiki lingkungan dan mencegah erosi. Di Indonesia, tanaman alpukat dapat tumbuh pada ketinggian 1-1.000m di atas permukaan laut (Rukhmana, 1997; Lindyanasari, 2016).

2. Klasifikasi Tanaman Alpukat

Klasifikasi tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Division	: Embryophyta
Subdivision	: Tracheophyta
Infra division	: Spermatophyta
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Magnolianaes
Order	: Laurales
Family	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Species	: <i>Persea americana</i> Mill. (Nasution, 2016)

3. Morfologi Tanaman Alpukat

Tanaman alpukat memiliki akar tunggang dan tumbuhnya sangat cepat. Akar tunggang memiliki akar pokok yang tumbuh lurus ke dalam tanah dan dari akar pokok akan menjadi cabang akar yang akan bercabang-cabang lagi. Cabang akar paling terakhir biasanya

lembut dan tipis sehingga disebut rambut akar (Indriani dan Sumiarsih, 1993 ; Lindyanasari, 2016).

Tanaman alpukat adalah tipe pohon berkayu dan bercabang banyak yang memiliki tinggi mencapai 3-10 m. Batang yang telah tua akan mengalami keretakan sehingga terlihat beralur adalah ciri-ciri khas yang dimiliki tanaman alpukat. Sedangkan pada batang muda lebih licin terlebih pada cabang-cabang yang muda. Warna batang yang masih muda adalah hijau tua dan akan berubah menjadi coklat tua (Indriani dan Sumiarsih, 1993 ; Lindyanasari, 2016).

Pada tanaman alpukat daun yang dimiliki adalah daun tunggal yang tumbuh berhimpitan di ujung ranting. Daun berbentuk jorong sampai bundar telur memanjang, bertulang menyirip, pada bagian ujung dan pangkal daun berbentuk runcing, tepi daun pada umumnya berbentuk rata dan sebagian bergelombang. Daun alpukat memiliki panjang sekitar 12-25 cm. daun alpukat muda berwarna kemerahan dan berambut rapat, sedangkan daun tua berwarna hijau tua dan gundul (Hermanto *et al.*, 2013; Nasution, 2020).

Tanaman alpukat pada umumnya memiliki bunga yang berwarna kuning kehijauan, memiliki aroma yang sedap yang bersifat *hermaprodit* tetapi sifat pembungaannya *dichogamy*, yaitu bunga menutup dan mekar dalam waktu yang berbeda. Garis tengah dari tenda bunga 1-15, berambut serupa dengan vilt, tabung pendek dan 6 taji yang terbentang, serta 3 taju yang terletak pada bagian terluar memiliki ukuran terkecil, benang sari berjumlah 12 terdapat 4 lingkaran, 3 lingkaran tereduksi menjadi staminodia berwarna orange atau coklat. Pada saat proses pembungaan bunga betina akan berfungsi ketika di hari pertama mekar. Sedangkan bunga jantan berfungsi saat hari mekar berikutnya. Penyerbukan silang bunga dapat berasal dari bunga tanaman lain dan terjadi pada putik bunga. Benang sari dan putik tidak masak secara bersamaan pada proses pembungaan alpukat (Kuswandi *et al.*, 2017).

Alpukat masuk dalam kelas dicotyledoneae, yaitu memiliki biji berkeping dua. Biji alpukat berbentuk bulat atau lonjong sedangkan keping biji berwarna putih kemerahan. Kepingan biji alpukat akan terlihat ketika kulit bijinya dikupas. Saat buah masih muda kulit biji menempel pada daging buah dan ketika buah telah tua biji akan terlepas dari daging buah dengan sendirinya. Sifat ini umumnya dijadikan salah satu tanda kematangan buah (Marlinda *et al.*, 2012 ; Nasution 2016).

4. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Daun Alpukat

Daun adalah bagian dari tanaman alpukat yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Berdasarkan penelitian Tingo (2012), daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antioksidan dan dapat membantu mencegah atau memperlambat berbagai oksidatif stress yang berhubungan dengan penyakit.

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin, dan gula alkohol persiit (Wientarsi et al., 2012 ; Lindyanasari, 2016). Hal ini diperkuat oleh penelitian Tingo (2012) dari uji aktivitas hipoglikemik (kadar gula darah rendah) ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) senyawa yang ditemukan melalui uji fitokimia adalah saponin, tannin, flavonoid, alkaloid, dan polisakarida.

Di bawah ini merupakan uraian senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun alpukat (*Persea americana* Mill.) :

4.1 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa larut dalam air dan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid bersifat antimikroba yang memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut dan dinding sel mikroba. Senyawa flavonoid bersifat lipofilik, sifat ini dapat merusak membran mikroba. Flavonoid juga memiliki sifat antiinflamasi yang mampu mengurangi peradangan dan rasa sakit (Haryani *et al.*, 2012 ; Nasution, 2016).

4.2 Alkaloid. Alkaloid merupakan golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Sebagian besar alkaloid berasal dari berbagai jenis tumbuhan. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan bagian dari cincin heterosiklik. Senyawa alkaloid juga bersifat sebagai antibakteri (Wijaya *et al.*, 2014).

4.3 Saponin. Saponin adalah senyawa glikosida triterpene dan sterol. Saponin telah ditemukan di lebih dari 90 suku tumbuhan. Senyawa saponin memiliki sifat aktif dan seperti sabun yang mampu membentuk busa dan menghemolisis darah (Haryani *et al.*, 2012 ; Nasution, 2016). Saponin dapat memacu pembentukan kolagen yaitu protein struktur yang memiliki peran dalam proses penyembuhan luka. Saponin berperan sebagai surfactant agent yang kuat seperti sabun karena dapat menurunkan tegangan permukaan antar sel. Senyawa saponin akan meningkatkan permeabilitas membrane dengan adanya adsorpsi pada permukaan antar sel (Ayu, 2012 ; Galomat *et al.*, 2021). Menurut Wijaya (2014) saponin bersifat sebagai pembersih dan

antiseptik yang dapat membunuh kuman dan mencegah tumbuhnya mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi berat.

4.4 Tanin. Tanin bersifat polar dan strukturnya tersusun atas atom-atom yang berbeda serta memiliki gugus hidroksil lebih dari satu dan memiliki momen dipol tidak sama. Tanin bersifat antibakteri melalui reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim, dan destruksi materi genetik (Wijaya *et al.*, 2014).

4.5 Steroid. Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tak terhidrolisis dan hasil reaksi dari turunan terpena atau skualena (Prasetyo *et al.*, 2015 ; Nasution, 2016). Senyawa steroid bersifat antibakteri dengan menghambat mikroba. Steroid dapat merusak membran plasma sel mikroba yang mengakibatkan sitoplasma keluar sel dan menyebabkan kematian sel (Wiyanto, 2010 ; Nasution, 2016).

B. Simplisia

1. Definisi Simplisia

1.1 Simplisia. Simplisia adalah bahan alam yang sudah dikeringkan dan digunakan untuk pengobatan serta belum mengalami pengolahan. Pengeringan simplisia pada suhu tidak lebih dari 60°C, kecuali dinyatakan lain.

1.2 Simplisia Nabati. Simplisia nabati merupakan simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel keluar secara spontan dari suatu tumbuhan atau dikeluarkan dengan cara tertentu dari selnya.

1.3 Serbuk Simplisia Nabati. Ini adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati dengan derajat kehalusan tertentu. Serbuk simplisia nabati berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus sesuai dengan derajat kehalusannya. Serbuk ini tidak boleh mengandung fragmen jaringan atau benda asing yang bukan komponen asli dari simplisia tersebut seperti nematode, bagian dari serangga atau hama serta sisa tanah (FHI, 2017).

2. Pembuatan Serbuk Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017), pembuatan serbuk simplisia adalah proses awal pembuatan ekstrak. Simplisia terbuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang

dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk simplisia dengan derajat kehalusan tertentu. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan serbuk simplisia halus seperti tertera pada pengayak dan derajat halus serbuk, kecuali dinyatakan lain.

C. Inflamasi

1. Definisi Inflamasi

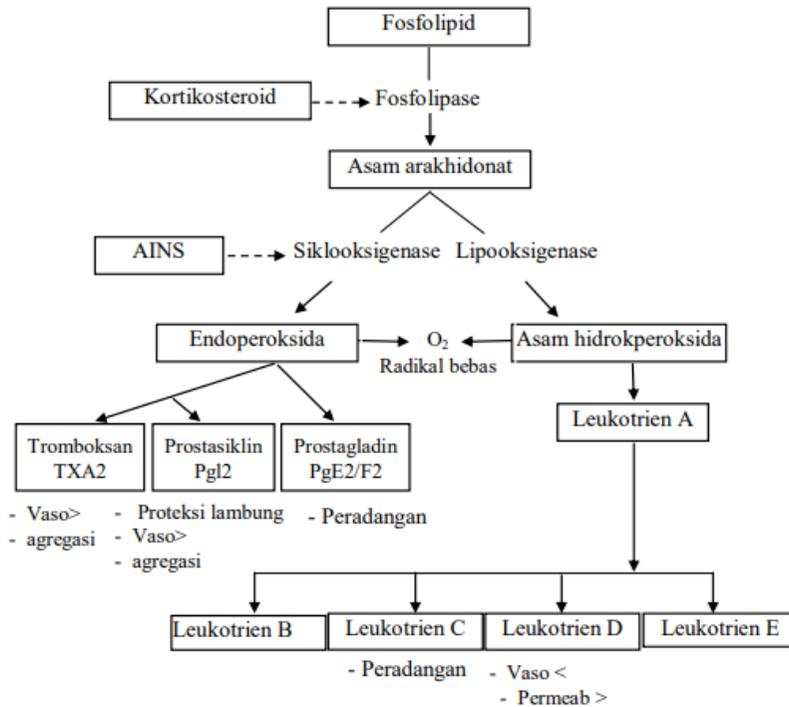
Inflamasi adalah suatu respon jaringan terhadap suatu rangsangan yang merusak secara fisika, kimia, dan biologi. Kerusakan jaringan yang terjadi akibat radiasi panas, bakteri, infeksi dan lainnya. Adanya rangsangan yang merusak itu akan membuat sel mast pecah dan melepaskan mediator-mediator inflamasi dan enzim-enzim yang berperan dalam proses inflamasi seperti lisosom. Respon inflamasi terjadi dalam 3 fase, yaitu fase akut yang memiliki ciri vasodilatasi local dan peningkatan permeabilitas kapiler; reaksi hambat tahap sub akut, memiliki ciri infiltrasi sel leukosit dan fagosit; dan fase proliferative kronik, terjadi degenerasi dan fibrosis (Wilmana, 2016).

Gejala inflamasi berupa kemerahan (rubor), nyeri (dolor), terjadi panas (kalor), dan gangguan fungsi (fungsi laesa) (Tjay dan Kirana, 2002; Wahyudi, 2019). Gejala ini adalah akibat dari meningkatnya permeabilitas dan migrasi leukosit ke daerah jaringan yang mengalami inflamasi seperti serotonin, histamine, prostaglandin, dan bradykinin. Rubor (Kemerahan), disebabkan adanya hiperemia aktif akibat vaskularisasi bertambah banyak di daerah cedera. Kalor (Panas), disebabkan adanya hiperemia aktif. Tumor (Bengkak), disebabkan adanya hiperemia aktif dan edema setempat serta statis darah. Dolor (Sakit), diakibatkan adanya rangsangan di serabut saraf pada daerah radang. Galen (*Fungtio laesa*), menurunnya fungsi akibat adanya rasa sakit dari saraf yang terangsang yang menyebabkan bagian organ tubuh tidak berfungsi.

2. Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Inflamasi terjadi diawali pada saat adanya stimulus yang merusak jaringan, sehingga menyebabkan sel mast dan mediator-mediator inflamasi terlepas. Seluruh pembuluh darah pada daerah inflamasi mengalami vasodilatasi yang menyebabkan sel-sel endotel pembuluh darah meregang dan terjadi peningkatan permeabilitas pembuluh darah, protein plasma keluar dari pembuluh dan menimbulkan edema. Selanjutnya infiltrasi leukosit ke tempat

inflamasi, diawal infiltrasi oleh neutrophil dan selanjutnya oleh sel monosit. Kedua leukosit ini akan menempel pada dinding endothelium venula lalu menuju daerah inflamasi dan memfagosit penyebab inflamasi (Guyton, 1995; Wahyudi, 2019).



Gambar 1. Mekanisme Inflamasi (Tjay dan Kirana, 2002)

3. Macam-Macam Inflamasi

3.1 Inflamasi akut. Pada fase ini adanya vasodilatasi local dan peningkatan permeabilitas kapiler. Inflamasi akut akan sembuh dalam waktu 3 hari sampai 3 minggu dan tidak akan meninggalkan bekas kerusakan. Sel yang mendominasi area radang ada inflamasi ini adalah neutrophil (Susanti, 2013).

3.2 Inflamasi sub akut. Karakteristik pada fase ini adalah infiltrasi sel leukosit dan fagosit (Patel, 2012). Inflamasi sub akut akan berlangsung selama berminggu-minggu hingga berbulan-bulan (Susanti, 2013).

3.3 Inflamasi kronik. Ciri dari inflamasi ini adalah degenerasi dan fibrosis jaringan (Patel, 2012). Fase ini bias berlangsung dalam kurun waktu minggu, bulan, bahkan tahun. Pada inflamasi kronik, agen penyebab luka akan tetap atau terus melukai jaringan dan bersifat melemahkan juga mematikan (Susanti, 2013).

D. AntiInflamasi

1. Obat Antiinflamasi

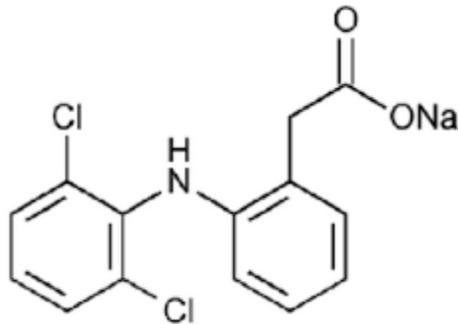
1.1 Antiinflamasi NonSteroid. Obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) banyak digunakan untuk gejala yang berhubungan dengan artritis. Artritis adalah peradangan pada persendian yang disertai dengan sakit, pembengkakan, kekakuan, dan keterbatasan bergerak. Indikasi lain meliputi sindrom nyeri miofaisal, gout, demam, dismore, migraine, nyeri peroperatif, profilaksis stroke dan infark miokard. Menurut Data Riskesdas (2013), prevalensi penyakit sendi berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan sebesar 11,9% dan berdasarkan diagnosis atau gejala sebesar 24,7%.

OAINS memiliki struktur molekuler yang berbeda dengan steroid. Secara kimia, OAINS adalah senyawa turunan dari asam asetat. Asam propionate, pirazol, dan zat kimia lainnya (Stolberger dan Finsterer, 2003; Madyo, 2019). OAINS bekerja dengan menghambat kerja dari enzim siklooksigenase. Enzim ini berperan penting dalam jalur metabolisme asam arakhidonat, yaitu bekerja untuk mengkatalis perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin dan tromboksan (Stolberger dan Finsterer, 2003; Madyo, 2019). Isoform enzim siklooksigenase ada dua yaitu siklooksigenase-1 dan siklooksigenase-2. Keduanya memiliki struktur serupa, namun pada bagian substrate binding channel enzim siklooksigenase-2 memiliki sisi samping yang berbeda dengan enzim siklooksigenase-1. Inilah yang mendasari selektivitas inhibisi enzim ini oleh OAINS (White dan Cruz, 2011; Madyo, 2019).

Enzim siklooksigenase-1 berada pada platelet, endotelium vascular, otak epitelium gastrointestinal, tulang belakang, dan ginjal. Fungsi enzim ini adalah meregulasi fungsi trombosit, proteksi mukosa gastrointestinal, dan proteksi terhadap fungsi ginjal jika mengalami gangguan perkusi. Enzim siklooksigenase-2 diaktivasi oleh beberapa sitokin dan menginduksi kaskade inflamasi. Enzim ini banyak ditemukan pada plak aterosklerotik, macula densa, dan interstisial medulla ginjal. Fungsi dari enzim ini adalah persepsi nyeri serta metabolisme air dan garam. Spektrum kerja OAINS terbagi menjadi dua yaitu OAINS konvensional yang menghambat kerja isoform enzim siklooksigenase dan OAINS selektif yang hanya bekerja pada siklooksigenase-2 (White dan Cruz, 2011; Madyo, 2019).

OAINS sebaiknya tidak diberikan kepada pasien yang memiliki riwayat tukak lambung aktif. Hal ini karena AINS akan menimbulkan efek samping yang beragam tingkat keparahannya, termasuk reaksi hipersensitivitas (terutama ruam kulit, angioedema, dan bronkospasme), sakit kepala, pusing, dan vertigo (Adnyana *et al.*, 2008).

Natrium diklofenak termasuk ke dalam obat antiinflamasi non steroid turunan asam fenilasetat yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan analgesik yang tinggi (Paul *et.al.* 2003). Natrium diklofenak berbentuk kristal, berwarna putih atau agak kekuningan dan sedikit higroskopis, sedikit larut dalam air, mudah larut dalam metanol, larut dalam etanol 96% dan sedikit larut dalam aseton (Sweetman 2015). Mekanisme kerja obat yaitu dengan menghambat biosintesis prostaglandin yang merupakan salah satu mediator inflamasi melalui penghambatan aktivitas siklooksigenase (Kartasasmita, 2002). Natrium diklofenak memiliki potensial jauh lebih besar dari indometasin, naproksen atau beberapa senyawa lain (Hardman 2012). Absorpsi obat melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat terikat 99% pada protein plasma dan mengalami metabolisme lintas pertama (*first pass*) sebesar 40 -50% (Wilmana dan Sulistia 2007; Madyo, 2019).



Gambar 2. Struktur kimia Natrium Diklofenak (Madyo,2019)

1.2 Kortikosteroid. Golongan steroid bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin melalui penghambatan metabolisme asam arakhidonat. Dalam klinik umumnya kortikosteroid dibedakan menjadi 2 golongan besar, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Efek terapeutik glukokortikoid yang paling penting adalah kemampuannya untuk mengurangi respon peradangan secara dramatis. Efek ini didapat dari proses penurunan dan penghambatan limfosit serta makrofag perifer A2 secara tidak langsung yang menghambat pelepasan asam arakidonat, prekursor prostaglandin dan

leukotrien (Mycek,2001; Madyo,2019). Setelah pemberian dosis tunggal glukokortikoid bekerja singkat dengan konsentrasi neutrofil meningkat yang menyebabkan pengurangan jumlah sel pada daerah peradangan (Katzung,2002; Madyo,2019).

2. Metode AntiInflamasi Akut

2.1 Induksi asam asetat. Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas inhibisi obat terhadap peningkatan permeabilitas vaskular yang diinduksi *Blue 10%* disuntikkan secara intravena. Aktivitas inhibisi obat uji terhadap peningkatan permeabilitas vaskular ditunjukkan oleh kemampuan obat uji dalam mengurangi konsentrasi pewarna yang menempel dalam ruang abdomen dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang visible, lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol (Suralkar,2008).

2.2 Induksi karagenin. Volume telapak kaki kiri tikus diukur dengan plestismometer. Kemudian tikus diberikan larutan uji setelah 1 jam, tikus tersebut diinduksi oleh 0,1 ml injeksi karagenin 1 % secara subplantar. Selanjutnya, dilakukan pengukuran volume udem pada jam ke 1,2, 3, 4, dan 5 setelah induksi (Suralkar,2008).

2.3 Induksi histamin. Metode yang digunakan hampir sama dengan metode induksi karagenin namun penginduksi yang digunakan adalah 0,1 ml larutan histamin 1% (Suralkar,2008).

2.4 Induksi xilena pada daun telinga. Hewan uji diinduksi xilena dengan mikropipet pada kedua permukaan daun telinga kanannya. Telinga kiri digunakan sebagai kontrol. Terdapat dua parameter yang diukur dalam metode ini, yaitu ketebalan dan bobot dari daun telinga mencit. Ketebalan daun telinga mencit yang telah diinduksi diukur menggunakan jangka sorong digital, lalu dibandingkan dengan telinga kiri. Jika menggunakan parameter bobot daun telinga, maka daun telinga mencit dipotong dan ditimbang, kemudian beratnya dibandingkan dengan telinga kirinya (Suralkar,2008).

3. Karagenin

Karagenin adalah sulfat polisakarida bermolekul besar sebagai induktor inflamasi (Corsini *et al.* 2005). Penggunaan karagenin sebagai penginduksi radang memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi

dibanding senyawa iritan lainnya (Siswanto dan Nurulita,2005). Pada proses pembentukan edema, karagenin akan menginduksi cedera sel dengan dilepaskannya mediator yang mengawali proses inflamasi. Edema yang disebabkan induksi karagenin dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur angsur berkurang dalam waktu 24 jam. Edema yang disebabkan oleh injeksi karagen diperkuat oleh mediator inflamasi terutama PGE1 dan PGE2 dengan cara menurunkan permeabilitas vaskuler. Apabila permeabilitas vaskuler turun maka protein-protein plasma dapat menuju ke jaringan yang luka sehingga terjadi edema (Corsini et al. 2005). Berdasarkan kandungan sulfat dan potensi pembentukan gelnnya, karagenin dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu lamda karagenin, iota karagenin dan kappa karagenin. Ketiga karagenin ini memiliki sifat larut dalam air suhu 80°C (Rowe, *et al.*,2009; Madyo,2019).

E. Ekstraksi dan Fraksinasi

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif dari bagian tanaman obat dengan tujuan menarik komponen kimia yang terdapat pada bagian tanaman obat tersebut. Pada penelitian ini akan digunakan ekstraksi metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana, sangat cocok untuk ekstraksi awal. Serbuk simplisia direndam dengan pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Lakukan pengadukan sekali dan konstan dapat mempercepat ekstraksi. Kekurangan metode maserasi adalah memerlukan waktu yang lama yaitu beberapa jam hingga minggu. Tidak semua senyawa dapat diekstraksi secara efisien menggunakan metode ini jika kurang larut pada suhu ruang.

2. Metode Ekstraksi

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi untuk penarikan simplisia dengan cara merendam simplisia tersebut dalam suatu cairan penyari pada temperatur ruang maupun menggunakan pemanasan (Syamsuni dan Winny, 2012). Maserasi memiliki kelemahan yaitu prosesnya memakan waktu yang lama karena dapat berlangsung selama beberapa jam sampai beberapa minggu. Selain itu, ekstraksi secara menyeluruh dapat menghabiskan volume pelarut yang cukup banyak dan berpotensi menghilangkan

banyak metabolit, serta ada beberapa senyawa jika kurang larut dalam suhu kamar tidak dapat terekstraksi (BPOM, 2000; Wahyudi, 2019).

2.2 Remaserasi. Remaserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut sejumlah pelarut pertama setelah dilakukan penyaringan maserat pertama. Remaserasi dilakukan cara serbuk kering simplisia ditambah 10 bagian pelarut lalu direndam, selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk dan diamkan selama 18 jam. Proses penyarian diulangi dua kali atau lebih dengan jenis dan pelarut yang sama (Depkes, 2008).

2.3 Perkolasi. Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru sampai didapatkan penyarian sempurna dan biasanya dilakukan pada suhu kamar. Metode ini melalui beberapa tahapan proses, yaitu pengembangan bahan, perendaman, proses perkolasi antara, dan proses perkolasi sebenarnya (menampung ekstrak) terus menerus sampai didapatkan ekstrak. Perkolasi sering digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif dalam penyusunan tingtur dan ekstrak cairan (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4 Refluks. Refluk adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut dengan temperatur titik didihnya dalam jangka waktu tertentu. Pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu. Kekurangan dari metode refluks adalah komponen yang tidak tahan panas akan terdegradasi (BPOM, 2000; Wahyudi, 2019).

2.5 Soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sehingga terjadi ekstraksi secara kontinyu dengan pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik. Soxhletasi memiliki keuntungan disbanding dengan metode ekstraksi lainnya yaitu dapat mengekstraksi lebih banyak zat aktif meskipun menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Endarini, 2016).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya, mulai dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, senyawa semi polar dengan pelarut semi polar, dan senyawa polar dengan pelarut non polar. Fraksinasi biasanya dilakukan menggunakan metode corong pisah atau kromatografi kolom. Corong pisah adalah

alat dalam laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen dengan pelarut yang sesuai (Wibowo, 2017).

4. Larutan Penyari

Struktur kimia suatu senyawa yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa tersebut terhadap suatu pemanasan, logam berat, udara, cahaya, dan derajat keasaman. Simplisia yang sudah diketahui zat aktif yang terkandung di dalamnya akan mempermudah pemilihan suatu larutan penyari. Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% dan untuk fraksinasi digunakan n-heksan, etil asetat, dan air (Wibowo, 2017).

4.1 Etanol 96%. Etanol 96% adalah suatu cairan penyari yang mudah didapatkan, memiliki sifat stabil secara kimia dan fisika, selektif, tidak beracun, bereaksi netral, memiliki absorpsi yang baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dapat bercampur dengan air di segala perbandingan (Wibowo, 2017). Pemilihan ini didasarkan pada penelitian Agustiningsih *et al.* (2010) yang mengatakan bahwa senyawa flavonoid maksimal diekstraksi dengan etanol 96%.

4.2 n-Heksan. n-Heksan merupakan pelarut non polar yang sering digunakan berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter lemah, tidak larut dalam air, larut dalam etanol. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah senyawa non polar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan alkaloid (Wibowo, 2017).

4.3 Etil asetat. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang mudah menguap dan mudah terbakar, sehingga penyimpanannya harus dalam wadah tertutup dan terlindung dari panas. Etil asetat larut dalam 15 bagian air bercampur etanol dan eter. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah senyawa fenolik seperti fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan antrakuinon (Wibowo, 2017).

4.4 Air. Air biasa digunakan sebagai cairan penyari karena harganya murah, mudah didapatkan, stabil, tidak mudah terbakar, tidak mudah menguap, tidak beracun dan bersifat alamiah. Air dapat melarutkan senyawa polar seperti, saponin, glikosida, flavonoid, garam alkaloid, tannin, dan gula (Wibowo, 2017).

F. Hewan Uji

1. Sistematika Hewan Uji

Berikut ini kedudukan tikus dalam sistematika :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Subclas	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik Utama Tikus

Tikus merupakan hewan cerdas dan resisten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya bersifat tenang dan mudah ditangani. Tetapi tikus akan agresif pada saat diperlakukan kasar atau sedang mengalami defisiensi nutrisi. Hewan uji harus diperlakukan dengan baik dan makanannya harus dijaga agar nutrisinya tetap terpenuhi (Wibowo, 2017). Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid.

3. Sifat Biologis

Tikus dapat bertahan hidup 2-3 tahun. Tikus akan bunting selama 20-22 hari, tikus tumbuh dewasa pada umur 40-60 hari. Tikus yang berumur 10 minggu sudah dapat dikawinkan. Perkawinan tikus dapat dilakukan secara berkelompok dengan 3 ekor betina dan 1 ekor jantan pada malam hari (Wibowo, 2017).

4. Kondisi Ruangan dan Pemeliharaan Hewan Uji

Menempatkan hewan pengerat seperti tikus di laboratorium sesuai dengan lingkungannya bertujuan untuk 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. Luas lantai kandang untuk sekelompok tikus dengan jumlah hingga lima ekor tikus dengan berat badan 250 - 300

gram adalah 1500 cm² dan sebaiknya 1800 cm² (Patterson dan Kane,2002; Madyo,2019). Ketinggian bagian atas kandang tikus dengan berat 250 - 300 gram adalah 22 cm. Kandang tikus dibuat dari plastik (misal polypropylene, polycarbonate, polysulphone, poly etherimide), lantai dan dinding bak dengan wire mesh pada puncaknya kecuali kandang untuk tujuan khusus seperti kandang dengan filter pada bagian atas kandang atau berventilasi. Suhu ruangan kandang berkisar antara 20-26°C dengan kelembaban udara berkisar 40-70%. Semua hewan harus disediakan air segar dan pakan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal. Diet dengan nutrisi yang memadai harus disediakan untuk tikus. Pakan dan air minum harus disediakan secara *ad libitum* kecuali izin khusus telah diperoleh dari Komisi Etik Hewan (Balitbangtan,2016).

5. Cara Pemegangan dan Penandaan Hewan Uji

Penanganan dan pengendalian merupakan prosedur yang penting bagi petugas yang bekerja dengan tikus. Petugas harus memahami bagaimana cara yang benar dalam menangani hewan, meminimalisir rasa takut dan tertekan. Tikus dipegang dengan lembut dengan memegang seluruh tubuh secara tegas serta meminimalkan gerakan hewan. Memegang tikus terlalu kuat dapat mengganggu pernapasan dan akan menyebabkan sianosis. Untuk memegang tikus harus dilakukan dengan lembut dimulai dari memegang di sekitar bahu. Ibu jari petugas ditempatkan di bawah mandibula tikus, untuk mencegah gigitan, dan hindlimbs tikus dapat didukung dengan sisi lain. Cara memegang tikus harus tegas tapi tidak terlalu ketat karena hal ini akan menghambat respirasi hewan (Balitbangtan 2016). Tujuan dari pemberian tanda pada hewan coba disamping untuk mencegah kekeliruan hewan dalam sistem pembiakkannya juga untuk mempermudah dalam percobaan. Berbagai penandaan hewan uji diantaranya marking, ear puching, too clipping, ear tags, tattocing, dan coat colors (Sulaksono 1987; Madyo,2019).

6. *Ethical Clearance*

Menurut Pusbindiklat LIPI (2021) Klirens Etik (*ethical clearance*) adalah suatu instrumen untuk mengukur keberterimaan secara etik suatu rangkaian proses penelitian. Klirens etik penelitian merupakan acuan bagi peneliti untuk menjunjung tinggi nilai integritas,

kejujuran, dan keadilan dalam melakukan penelitian. Ada tiga prinsip *Ethical Clearance* (EC)

1. Replacement atau penggantian mengacu kepada metode mensubstitusi hewan dengan program komputer, kultur sel atau Hewan Coba dengan tingkatan sensitifitas (sentient) lebih rendah;
2. Reduction atau pengurangan melibatkan strategi menggunakan jumlah hewan minimal tanpa mengurangi validitas data atau berupa pengurangan perlakuan yang menimbulkan sakit dan stres.
3. Refinement atau perbaikan berkenaan dengan modifikasi sistem pemeliharaan atau prosedur percobaan untuk meningkatkan kesejahteraan hewan atau meminimalisasi sakit dan stres.

Pada penelitian ini, *Ethical Clearance* hewan uji tikus akan dilakukan di RSUD Dr Moewardi, Surakarta.

G. Landasan Teori

Inflamasi adalah respon fisiologis tubuh pada jaringan yang masih hidup terhadap kerusakan yang terjadi pada jaringan yang dapat menimbulkan efek baik secara sistemik maupun lokal. Inflamasi dapat disebabkan oleh infeksi mikroba, reaksi hipersensitifitas, agen-agen kimia, dan nekrosis jaringan (Hochberg et al. 2012). Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia, dan pengaruh fisika. Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar keduanya dapat mengisolasi, menghancurkan atau menginaktivkan agen yang masuk dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin 2008).

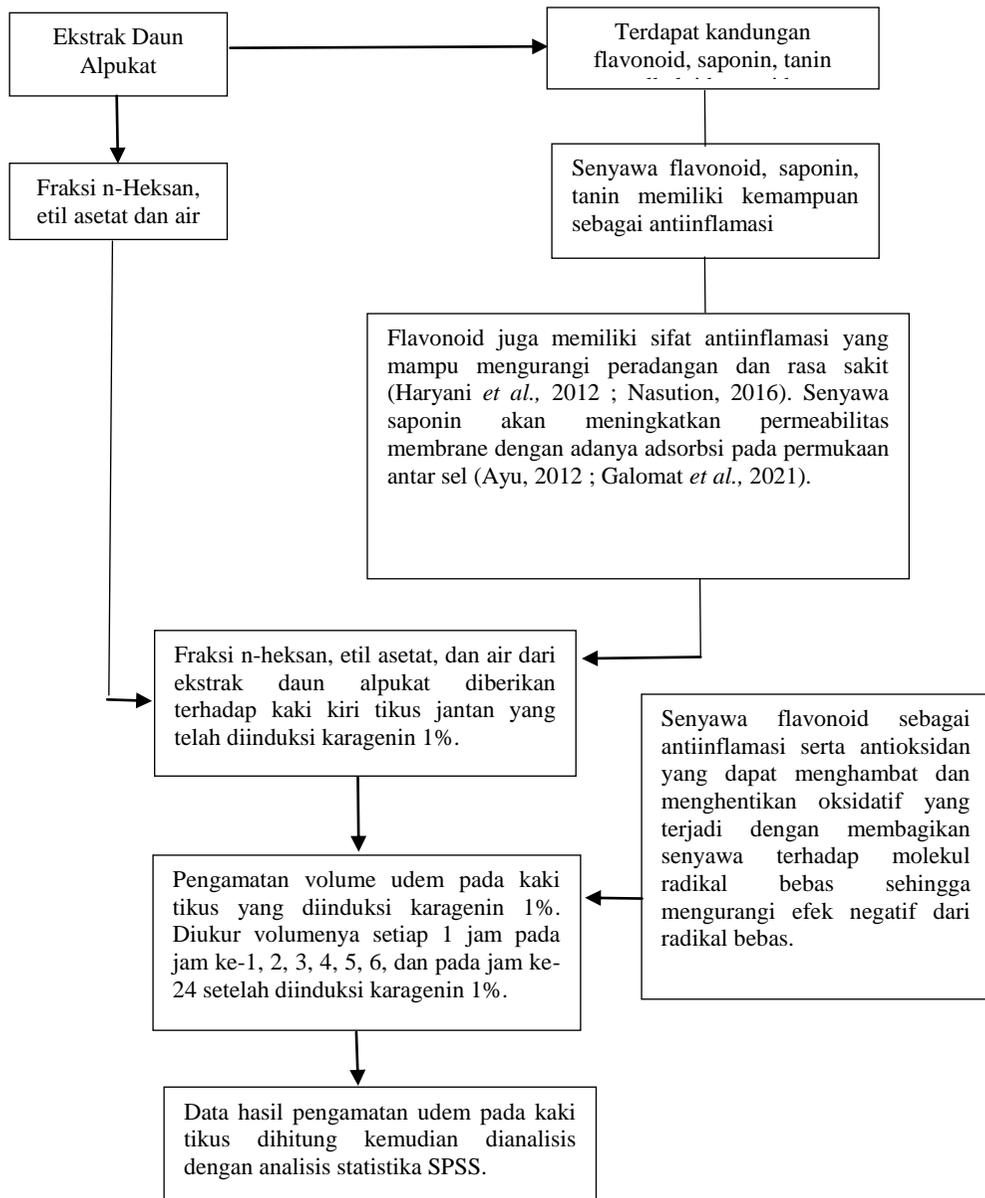
Golongan OAINS dan kortikosteroid memiliki khasiat terapi yang baik dan cepat dalam proses penyembuhan peradangan tetapi juga memiliki efek samping yang tinggi efek sampingnya antara lain gangguan pada saluran cerna, darah, pernafasan, proses metabolik, hipersensitivitas, dan sindrom reye (Mycek 2001). Sementara itu antiinflamasi golongan nonsteroid dapat menyebabkan tukak lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia (Dugowson dan Gnanashanmugam 2006).

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Hampir semua bagian dari tanaman ini memiliki khasiat sebagai sumber obat-obatan. Daun merupakan bagian tanaman alpukat yang memiliki

manfaat sebagai obat tradisional (Dewa *et al.* 2009). Senyawa kimia yang terkandung di dalam daun alpukat yaitu saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid (Sentat,2015). Hal ini diperkuat dengan penelitian Wientarsi *et al.* (2012) dalam Lindyanasari (2016) *Persea americana* Mill mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin, dan gula alkohol persiit. Senyawa tanin yang berperan sebagai adstingen yang menyebabkan pengecilan pori-pori kulit, memperkeras kulit dan menghentikan pendarahan. Flavonoid berperan sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri. Saponin akan berinteraksi dengan sel bakteri sebagai antibakteri dan mempercepat penyembuhan luka (Sentat,2015). Menurut penelitian Adeyemi (2002) ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis 800mg/kg BB mencit.

Pada uji efek antiinflamasi digunakan tikus yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram (Vogel 2002). Zat kimia yang digunakan untuk menginduksi agar terbentuk udem adalah lambda (λ) karagenin 1%. Lambda (λ) karagenin 1% merupakan ekstrak kondrus yang bisa menyebabkan inflamasi bila diinduksi secara subtrplantar. Efek antiinflamasi dapat dilihat dari hilangnya edema pada kaki tikus.

H. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

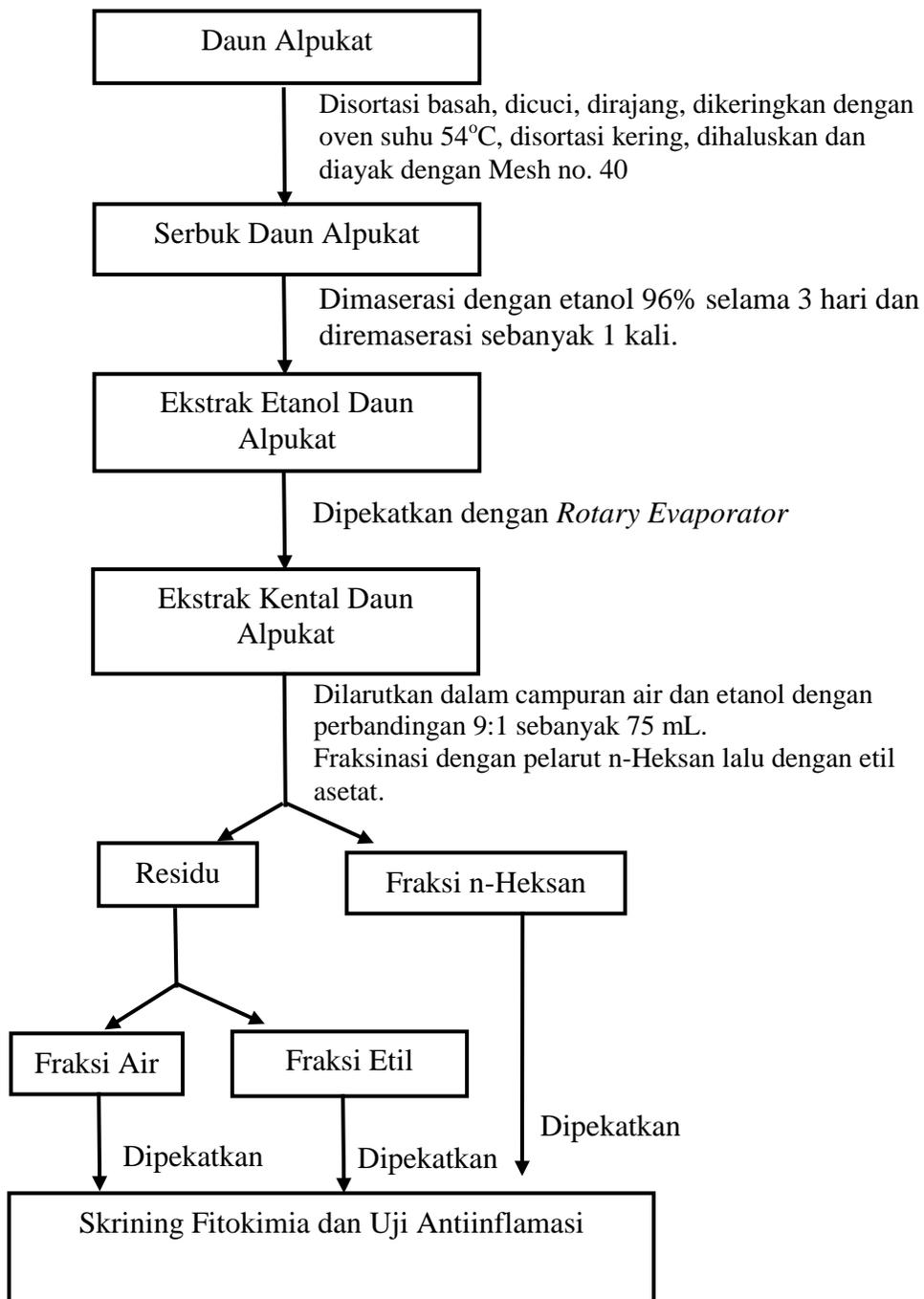
I. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol dan fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antiinflamasi.

Kedua, fraksi ekstrak daun alpukat yang memiliki aktivitas antiinflamasi paling poten terhadap kaki tikus putih yang diinduksi karagenin 1% adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah flavonoid, saponin, dan tanin.

J. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Jalannya Penelitian