

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Tinjauan umum sirsak (*Annona muricata* L.)

Sirsak merupakan salah satu tumbuhan berbuah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah, Amerika Selatan, Amerika Timur Laut, Amerika Utara, termasuk wilayah Tenggara Brazil. Tanaman berikut tersebar meluas di Asia, antara lain Malaysia, Thailand, serta Indonesia. Penanaman tanaman sirsak dimulai di Indonesia dan Malaysia pada abad ke-19 (Sukarmin, 2010). Sejumlah persamaan istilah dari *Annona muricata* L. meliputi *A. bonplandiana*, *A. macrocarpa*, *Guanabanus muricatus*, dan *A. cearensis* (Noller, 2005).

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Family	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

2. Manfaat sirsak

Sirsak (*A. muricata* L.) telah lama dikenali masyarakat Indonesia dari waktu ke waktu dan banyak digunakan sebagai obat. Tanaman sirsak bisa bertumbuh di taman atau pekarangan langsung dan tidak perlu perawatan khusus. Di masa dahulu tumbuhan sirsak hanya dikenali publik sebagai obat-obatan luar, terutama untuk kelainan pada kulit. Tahun 2010 buah sirsak sudah dikenal efektif dalam pengobatan batu empedu akut, disentri, serta batu saluran kemih. Daun sirsak berguna juga dalam mengobati insomnia, sakit kepala, diabetes, penyakit liver, tekanan darah tinggi serta antiradang, kejang, erisipelas, maag, bisul, epilepsi, jerawat serta kutu. (Mardiana, 2015).

Pada Nigera, Afrika tropis, tumbuhan sirsak digunakan mulai kulit batang, akar, serta daun yang biasanya dipakai menjadi antispasmodik, antiparasit, obat penenang, zat antikanker, insektisida, hipotensi, demam, batuk, disentri, diare, serta gangguan kulit lainnya

(Adewole dan Ojewole, 2009). Berdasarkan Depkes (2018), daun sirsak mempunyai kebermanfaatannya dalam aspek medis, berupa pencegahan dan pengobatan kanker, penurunan kolesterol, pengobatan wasir, serta penghilang jerawat.

Hasil penelitian memaparkan bahwasanya daun sirsak sangat efektif digunakan menjadi antibakteri, antioksidan, serta antifungi (Lawal, *et al.*, 2017), antioksidan, anti-mutagenik, antidiabetes, dan antimikroba (Endrini, dkk., 2015), insektisida, antiinflamasi, sitotoksik ke sel kanker, larvisida, imunomodulator, antistress, antidepresan, antimalaria, hipoglikemik, menyembuhkan luka, antitumor, dan antikanker (Gavamukulya, *et al.*, 2014), antibakteri pada *Pseudomonas auroginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, dan *Staphylococcus aureus* (Olugbuyiro, *et al.*, 2017).



Gambar 1. Daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) (Kemenkes 2017)

3. Deskripsi tanaman

Sirsak merupakan tanaman dengan tinggi pohon sekitar 8meter-10meter. Sirsak di Indonesia bisa bertumbuh baik pada ketinggian 1000 mdpl. Buah sirsak termasuk pada tumbuhan tahunan. Batang coklat berkayu, bulat, bercabang. Daun sirsak berwarna hijau muda dan hijau tua, panjangnya 6cm-18cm dan lebarnya 3cm-7cm. Bahkan, daun sirsak mempunyai daun bertekstur kasar serta bentuknya lonjong, dengan ujung meruncing sebentar, dan mengkilat di ujungnya. Daun sirsak berbau sangat pekat dan batangnya pendek yakni 3mm-10mm. Daun berbentuk lonjong (lanset), ujungnya meruncing, tepian rata dan pangkalnya sempit, batang spiral dengan panjang 5mm, kuning kehijauan. Bunga berada di batang ataupun cabang, kuning muda, kelopak kecil, banyak benang sari berbulu.

Buah sirsak bukanlah buah sejati dengan ukuran cukup besar, tingginya mencapai 20-30cm dan beratnya 2,5kg. Buah sirsak bukan buahnya asli, yang disebut "buah" sebetulnya adalah sekumpulan buah (buah utuh) yang bijinya individu yang ditekan rapat, tidak ada batasan

diantara buah. Daging buahnya berwarna putih, serta berisi biji berwarna hitam. Akarnya coklat muda berbentuk bulat dan berakar tunggang. (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

4. Kandungan kimia

Daun sirsak merupakan komponen tumbuhan sirsak yang mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. (Rumiyanti, L. *et al.*, 2019).

4.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan padatan kristal menggunakan titik leleh tertentu, tidak mempunyai warna serta basa. Alkaloid terdapat pada beragam tumbuhan berupa daun, biji, ranting serta kulit kayu. Mayoritas seluruh alkaloid memiliki pengaruh suatu biologis, terdapat yang beracun, terdapat pula yang bermanfaat menjadi obat-obatan. Nitrogen adalah senyawa yang karena kebiasaannya gampang terurai, khususnya di bawah pengaruh cahaya menggunakan bantuan oksigen. (Lenny, 2006).

4.2. Flavonoid. Flavonoid dapat didistribusikan meluas dalam tumbuhan. Peran senyawa-senyawa tersebut pada tumbuhan sangat bervariasi, dimulai produksi pigmen merah, kuning, ataupun biru dalam bunga yang menjadi antimikroba serta penolak serangga. Struktur utama senyawa ini terdiri dari 15 atom karbon (C6-C3-C6). (Andarwulan dan Faradilla 2012). Flavonoid merupakan turunan 2-fenilbenzopirena dengan 3 cincin (A, B, C). Struktur utamanya terdiri dari dua cincin benzena (A dan B) yang dikaitkan oleh cincin heterosiklik pusat (C). (Simanjuntak 2012). Umumnya flavonoid bisa diklasifikasikan menjadi 3 macam sesuai struktur C3 yang berbeda yang menghubungkan kedua gugus benzena tersebut. 3 macam itu adalah Auron, Chalcones, serta Flavonoid. Selain itu, flavonoid bisa diklasifikasikan kedalam 3 jenis berdasarkan letak cincin B flavonoid pada cincin C, yakni isoflavonoid (*3-benzopiran*), flavonoid (*2-fenilbenzopiran*), serta neoflavonoid. Sesuai saturasi cincin C flavonoid dan derajat oksidasinya, flavonoid bisa diklasifikasikan kedalam 8 jenis yakni *flavanon*, *flavan*, *flavonol*, *flavon*, *flavan-3-ol*, *dihydroflavonol*, *flavan-3, 4-diol*, serta *flavan-4-ol* (Andarwulan dan Faradilla, 2012). Sudah dijalankan penelitian pada flavonoid bahwasanya mempunyai beragam aktivitas biologis, berupa antiviral, antikanker, meminimalisir risiko gangguan kardiovaskuler, antiinflamasi, serta penangkal radikal bebas. (Amic *et al.*, 2003).

4.3. Saponin. Saponin merupakan glikosida yang ditemukan di berbagai tumbuhan. Saponin hadir dalam konsentrasi tinggi di bagian tertentu dari semua tumbuhan karena pengaruh varian tumbuhan serta tahapan perkembangannya. Bertindak pada tanaman menjadi penyimpan karbohidrat ataupun sebagai residu metabolisme tanaman serta menjadi perlindungan pada infestasi serangga. (Sirait, 2007).

4.4. Tanin. Tanin merupakan bubuk putih yang warnanya kuning hingga coklat, berubah-ubah sampai warnanya kecoklatan tua di bawah cahaya matahari. Tanin tersusun atas tanin terhidrolisis dan terkondensasi. Tanin terhidrolisis dihasilkan melalui esterifikasi glukosa dan asam fenolat yang sederhana. Tanin terkondensasi dihasilkan melalui reaksi kondensasi (polimerisasi) antara flavonoid (Heinrich *et al.*, 2009).

B. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia atau herbal merupakan bahan-bahan alami yang sudah dilakukan pengeringan serta digunakan sebagai obat penyembuhan bukan diolah. Terkecuali bila dipaparkan lain, dalam mengeringkan herbal suhu maksimalnya 60°C. Simplisia terbagi kedalam 3 macam, yakni simplisia segar adalah bahan-bahan alami segar yang tidak dilakukan pengeringan, dan simplisia nabati adalah herbal berbentuk tanaman utuh, komponen tanaman ataupun sekresi tanaman. Selanjutnya adalah serbuk herbal berbentuk bubuk dimana tekstur kehalusannya disesuaikan. Bergantung pada tingkat kehalusan, herbal bisa berbentuk bubuk yang sangat halus, halus, agak kasar, kasar, sangat kasar (DepKes, 2008).

2. Pengumpulan simplisia

Herbal yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tumbuhan simplisia yang berasal dari bahan baku pembudidayaan ataupun tanaman liar. Keunggulan simplisia yang dibudidayakan terletak pada kesamaan umur tanaman, waktu panen serta galur (asal serta garis keturunan). Kelebihan simplisia yang didapatkan melalui tumbuh-tumbuhan alam adalah kecenderungan zat-zat yang dikandungnya masih utuh dan tidak termodifikasi oleh pestisida. Namun seringkali permasalahan serta variabilitas (asal tumbuhan, umur serta pertumbuhan) dalam mengeluarkan Simplisia dari tumbuhan liar yang tidak dapat dikontrol (DepKes, 2007).

3. Pengerinan

Simplisia dikeringkan dengan maksud untuk meminimalisir kandungan air serta menghambat reaksi enzimatik untuk pencegahan pemendakan simpanan ataupun kerusakan Simplisia, jamur ataupun perubahan konsentrasi bahan-bahan aktif. Pengerinan bisa dijalankan menggunakan 2 cara, yakni pengerinan alami serta buatan. Proses mengeringkan herbal alami terjadi menggunakan penjemuran Simplisia agar terkena terik matahari secara langsung serta menggantungkannya pada cuaca, ataupun dengan cara dijemur di udara memakai cahaya matahari langsung. Proses berikut khususnya digunakan dalam pengerinan komponen tumbuhan yang lunak berupa daun, bunga, dsb. Proses pengerinan buatan dilaksanakan memakai mesin pengering, berupa pemanas listrik (oven) ataupun diesel-listrik. Hasil panas yang diperoleh melalui mesin lebih stabil, hingga aktivitas pengerinannya bisa dikontrol, waktu pengerinannya tidak bergantung cuaca, dan prosesnya cenderung cepat serta hasilnya berkualitas. Sejumlah hal yang harus dicermati ketika mengeringkan adalah suhu pengerinannya, aliran udara, kelembaban, waktu pengerinan serta permukaan bahannya perlu diperhatikan (Sudewo, 2009).

C. Ekstrak

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang didapatkan melalui cara mengekstraksi bahan aktif oleh suatu spesies tumbuhan ataupun hewan dengan pelarut yang sesuai kemudian menguapkan seluruh ataupun sebagian besar pelarutnya serta mengolah sisa serbuk atau massa untuk mencukupi standar sesuai yang ditentukan (DepKes, 1995).

2. Metode ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah dengan metode ekstraksi. Penentuan teknik ekstraksi bergantung terhadap jenis bahan yang akan diisolasi serta ikatan yang diisolasikan. Sebelum menentukan tekniknya, tujuan ekstraksi harus ditetapkan lebih dulu (Sarker *et al.*, 2006). Ekstraksi serbuk tanaman kering bisa dijalankan dengan cara maserasi, refluks, perkolasi, ataupun sokletasi memakai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Putra *et al.*, 2014).

2.1. Maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana namun tetap banyak digunakan. Caranya dilaksanakan memakai cara

perendaman bahan-bahan tumbuhan (simplisia) pada pelarut didalam tempat tertutup bersuhu kamar. Teknik berikut cocok bagi pra-ekstraksi ekstrak dan konsentrasi metabolit dari bahan tumbuhan. Sesudah ekstraksi, sisa bahan tumbuhan (maserate) perlu dilakukan pemisahan dari pelarutnya. Kerugian maserasi adalah mekanisme pembuatannya panjang dan bisa berjalan dari sekian jam hingga sekian minggu. Ekstraksi penuh bisa juga mengkonsumsi pelarut dalam jumlah besar serta berpotensi mengakibatkan kehilangan metabolit. Juga, sejumlah senyawa tidak akan diekstraksi dengan efisien bila tidak larut dengan baik pada suhu kamar. Di sisi lain, karena ekstraksi dijalankan dalam suhu kamar, maserasi tidak menghasilkan pemecahan metabolit yang stabil terhadap panas, dan pencampuran intermiten atau kontinyu (menggunkan pengocok mekanis untuk memastikan homogenitas) bisa menambah ekstraksi (Ditjen POM, 2000).

2.2. Perkolasi. Sebutan perkolasi berasal dari kata “percolare” dimana berarti “menetes”. Ada ekstraksi yang dijalankan dengan meneteskan cairan ekstraksi ke dalam tempat berbentuk kerucut ataupun silinder (percolate) dengan inlet dan outlet. Bahan ekstraktif yang terus disuplai dari atas, mengalir perlahan di atas Simplisia, yang biasanya berupa serbuk kasar. Karena pembaruan terus menerus, maserasi multi-fase terjadi sesuai dengan pelarut. Sedangkan maserasi sederhana tidak menghasilkan ekstraksi simplisia yang sempurna dikarenakan keseimbangan kadar larutan pada cairan dan sel di sekitarnya bisa diatur, perkolasi lewat pemasukan pelarut secara teoritis menghasilkan ekstraksi yang sempurna terkait dengan perbedaan konsentrasi mengambil 96% hari dalam kedudukan teoretis baru. Sebelum perkolasi, bahan sederhana lebih dulu dilakukan perendaman dalam pelarut serta diamkan mengembang untuk memudahkan penetrasi pelarut kedalam sel. Pengembangan tersebut juga bisa menimbulkan pembuluh darah itu sendiri pecah. Simplisia tidak boleh berlubang. Kondisi tersebut bisa jadi pengganggu cairan teratur serta mengurangi hasil ekstraksi, tetapi pengemasan yang kompak bisa mencegah atau bahkan menghentikan aliran pelarut (Voight, 1994). Aktivitas perkolasi tersusun atas fase pengembangan bahan, fase perendaman, fase perkolasi aktual (penyimpanan droplet ataupun perkolat) dan ekstraksi ekstrak (DepKes, 2000).

2.3. Refluks. Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya selama waktu tertentu ketika pelarut

mengembun menuju kondensor dan kembali ke botol. Ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya untuk waktu tertentu dan pelarut dalam jumlah terbatas yang relatif konstan dengan adanya refluks. Kerugian utama dari proses ini adalah degradasi komponen non-biaskan (Ditjen POM, 2000).

2.4. Soxhletasi. Soxhletation merupakan ekstraksi kontinyu dengan memakai peralatan Soxhlet yang mana pelarut mengembun melalui labu menjadi kondensor, selanjutnya diteteskan untuk membasuh sampel serta pengisian sisi tengah peralatan Soxhlet. Tabung siphon juga diisi memakai larutan ekstraksi serta saat sampai sisi atas tabung siphon, larutan balik pada botol (Ditjen POM, 2000). Dalam ekstraksi ini, sisi tumbuhan yang telah ditumbuk halus ditempatkan pada wadah berpori (thimble) yang dibuat lewat kertas saring serta ditempatkan dalam alat Soxhlet untuk ekstraksi. Pelarut dalam botol dipanaskan dan uap mengembun di atas kondensor. Pelarut kental ini mengalir kedalam kantong berpori yang berisikan sisi tumbuhan yang diekstraksi. Bahan aktif diekstraksi dengan kontak pelarut embun dengan sisi tumbuhan ini. Jika permukaan cairan di bejana ekstraksi naik ke tepi atas kapiler, cairan di bejana ekstraksi dapat tersedot ke botol berikutnya. Aktivitas ini berlanjut hingga tetesan pelarut tabung kapiler tidak menjauhi residu saat menguap. Kelebihan teknik ini daripada teknik lainnya adalah lebih banyak bahan-bahan aktif yang dapat diekstraksi memakai lebih sedikit pelarut (Endarini, 2016).

3. Pelarut

Pelarut yang dipakai pada aktivitas pemisahan ekstraktif perlu selektif; Misalnya pelarut yang dipakai bisa menarik zat berkhasiat yang diinginkan, tidak berpengaruh terhadap zat berkhasiat yang diizinkan pengaturannya. Sejumlah aspek terpenting untuk menjadi pertimbangan ketika memilih pelarut gampang didapat, stabil kimia dan fisika, relatif murah, dan netral secara reaktif (DepKes, 1986).

Pelarut yang dipakai pada penelitian ini adalah etanol 96% dikarenakan sifatnya selektif dan universal pada metabolit sekunder (Nur dan Astawan, 2011). Pelarut etanol 96% bisa melakukan ekstraksi pada flavonoid dan fenol lebih baik dibanding pelarut heksan (Yuswi, 2017). Berdasarkan Wypych (2001) pelarut polar berupa etanol dan metanol lebih baik dalam mengekstraksi senyawa fenolik daripada etil asetat, heksana, dan pelarut air. Pelarut etanol dan metanol mempunyai gugus hidroksil yang bisa berikatan terhadap gugus fenolik yang ada serta mengoptimalkan kelarutannya.

Berdasarkan Markham (1988), glikon flavonoid adalah aglikon yang menunjukkan sifat kimiawi senyawa fenolik. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alami terbesar lantaran mengandung beberapa gugus hidroksil yang tidak dimurnikan, atau suatu gula. Flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga biasanya larut didalam pelarut polar berupa metanol, etanol, aseton, butanol, dimetil formamida, dimetilsulfoksida, air dan lain-lain.

D. Hewan Percobaan

Pada pelaksanaan penelitian, penulis perlu mengembangkan serta menyelaraskan mekanisme untuk memenuhi standart penelitian kesehatan yang diberlakukan secara ilmiah serta etis. Etika penelitian kesehatan umumnya tertera pada *World Medical Association*, yakni: respek (penghormatan terhadap martabat dan hak makhluk hidup, bebas menentukan seta kemauan, dan tanggung jawab pada diri sendiri, khususnya binatang laboratorium), derma (manfaat untuk manusia serta makhluk lainnya, manfaat yang diperoleh harus melebihi resikonya), serta keadilan (agar adil saat penggunaan binatang laboratorium) (Ridwan, 2013).

1. Sistematika mencit

Sistematika mencit berdasarkan Itis (2015), meliputi:

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 (prolipropilen 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 punching*, *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).

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:

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.

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.

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 obsesifkompulsif, 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 Schawrtz, 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)*. Prinsip kerja SNRI yakni mengangkut norepinefrin dan serotonin. Norepinefrin diangkut secara struktural mirip ketika mengangkut serotonin. Transporter norepinefrin mempunyai afinitas rendah untuk dopamin. Sebagian besar SNRI relatif memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap transporter serotonin dibandingkan norepinefrin (Tjay dan Rahardja, 2010). SNRI mempunyai sejumlah contoh diantaranya duloxetine, venlafaxine, milnacipran, desvenlafaxine, levomilnacipran (Sansone, 2014).

3.3. *Tricyclic Antidepressants (TCAs)*. Trisiklik berupa clomipramine, amitriptyline, doxepin serta imipramine efektif mengobati depresi, namun penggunaannya menurun dikarenakan ketersediaan obatnya dengan kemanjuran terapeutik yang sama namun dengan dosis yang lebih aman serta lebih dapat ditoleransi. Prosedur kerja obat-obatan trisiklik ini adalah sebagai penghambat reuptake norepinefrin serta 5-HT serta memblokir reseptor adrenergik, histaminergik, dan kolinergik (Wells *et al.*, 2009).

3.4. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs). Bekerja dengan mengoptimalkan kadar norepinefrin, 5-HT serta dopamin di neuron sinaptik dengan menghambat sistem enzim MAO (*monoamine oksidase*) (Wells *et al.*, 2009). *Monoamine oksidase* berfungsi deaminasi oksidatif katekolamin dalam mitokondria di dalam tubuh. Inhibitor MAO mencegah proses ini dengan membentuk kompleks diantara MAO serta MAO, menghasilkan pengoptimalan kandungan norepinefrin, epinefrin, serta serotonin. Inhibitor MAO bukan cuma menjadi penghambat MAO, namun juga enzim lainnya yang menyebabkan gangguan metabolisme obat-obatan dalam hati (Tjay dan Rahardja, 2010). Pemakaian obat-obatan dari kelompok MAO inhibitor sangatlah jarang karena efek toksiknya. Efek samping umum termasuk tekanan darah tinggi serta hipotensi. MAOI dimisalnya dengan phenelzine, isocarboxazid, selegiline, serta tranylcypromine (Santarsieri dan Schawrtz, 2015).

4. Indikasi Klinis

Indikasi utama antidepresan adalah untuk pengobatan depresi, lewat beragam pengalaman klinis serta pengujian terkontrol, didapatkan juga kegunaan lainnya dari antidepresan (Katzung, 2000):

4.1. Depresi Mayor. Indikasi berikut sering disalahtafsirkan dalam merujuk pada beberapa bentuk depresi dikarenakan bukti klinis memperlihatkan bahwasanya indikasi ini cuman dipakai dalam penatalaksanaan episode depresif berat. Episode depresi mayor didiagnosis khususnya berdasarkan tingkat serta mutu kehilangan suasana hati, kenikmatan, serta minat yang terus-menerus pada sebagian besar aktivitas, yang umumnya diikuti kelainan tidur, gairah seksual, napsu makan, kegelisahan, serta konsentrasi. Diagnosa depresi berat tidak selalu jelas terhadap penderita tertentu, hingga gangguan ini seringkali diabaikan serta tidak disembuhkan. Tahapan depresi kelainan bipolar membutuhkan pengobatan dikarenakan pasien ini memiliki tingkat bunuh diri yang tinggi.

4.2. Panik, Ansietas Umum dan Fobia Sosial. Imipramine kali pertama terbukti berguna dalam pengobatan kecemasan akut, kelainan yang sekarang dikenal dengan serangan panik. SSRI venlafaxine serta duloxetine juga sangat efektif mengobati kepanikan, gangguan kecemasan umum, serta fobia-sosial, tetapi obat ini harus diberi selama 6-8 minggu. Dikarenakan tingginya komorbiditas diantara depresi dengan kelainan kecemasan, mayoritas penderita akan mendapat manfaat dari mencari pengobatan dengan menyembuhkan 2 gangguan tersebut.

Karena benzodiazepin ditoleransi baik serta efek klinisnya cepat, benzodiazepam tetap menjadi obat-obatan pilihan untuk kelainan kecemasan, walaupun pemakaian periode lamanya menyebabkan ketergantungan fisiologis.

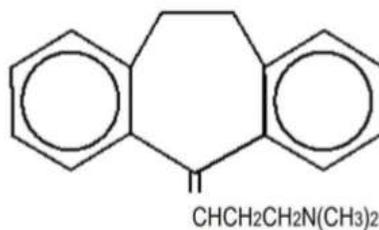
4.3. Gangguan Obsesif Kompulsif. Obat SSRI ampuh mengobati penyakit ini secara efektif. Studi terbaru berfokus terhadap fluoxetine serta SSRI lain, walaupun clomipramine, penghambat transporter norepinefrin-serotonin campuran terampuh, juga bisa sangat efektif. Fluvoxamine pemasarannya secara eksklusif dalam kondisi ini di Amerika Serikat.

4.4. Enuresis. Enuresis adalah gejala utama penggunaan trisiklik. Banyak bukti yang mendukung keefektifan antidepresan dalam gejala ini, namun nyatanya pemakaian obat-obatan tersebut tidak diperbolehkan lantaran risiko overdosis dan kardiovaskular.

4.5. Nyeri Kronik. Dokter klinik telah mendapatkan bahwasanya obat trisiklik berguna dalam pengobatan beragam kondisi nyeri-nyeri kronis yang seringkali tidak bisa didiagnosis kepastiannya. Inhibitor transporter serotonin norepinefrin dan trisiklik lain dapat secara langsung memengaruhi jalur nyeri, bukan cuman mengobati stres yang disebabkan nyeri kronis.

5. Amitriptyline

Amitriptyline tergolong dalam kelas antidepresan trisiklik yang prosedur kerjanya mengelola pemakaian neurotransmitter, serotonin, dan norepinefrin pada otak. Manfaat klinis dengan riwayat kardiovaskular yang bisa diterima dan EKG (elektrokardiogram) pada batas normal, khususnya untuk penderita berusia 40 tahun keatas, keamanan serta kemanjuran obat depresi akut serta periode panjang. Efek samping dan aspek perawatan: perawat perlu menyadari efek yang ditimbulkan dari antidepresan serta efek toksik dan pengelolannya (Mutchler dan Ernst, 1991).



Gambar 2. Struktur kimia Amitriptyline (Muatawa 2012).

50% orang lebih dengan depresi sembuh memakai antidepresan trisiklik, namun seringkali kambuh saat pengobatannya berhenti dengan

cepat serta dibutuhkan dosis pemeliharaan. Seluruh kelas trisiklik membutuhkan waktu 3 minggu untuk mendapatkan antidepresan, namun efek sampingnya segera muncul. Efek samping yang diakibatkan amitriptyline adalah kekeringan mulut serta sulit berkonsentrasi (efek antikolinergik), banyak keluar keringat serta kemerahan (efek adrenergik) dan hipotensi ortostatik. Pada dosis tinggi (lebih dari 150 mg per hari) otot berkedut dan epilepsi dapat terjadi (1%). Bagi orang dewasa serta pria lanjut usia, dosis sedang dapat menimbulkan retensi urin akut serta glaukoma akut, dan aritmia serta takikardia. Amitriptyline awalnya 25 mg 3kali sehari ataupun dosis tunggal 50-100 mg pada malam hari, meningkat menjadi 150 mg setiap hari selama seminggu dan berlanjut 1 bulan. Selanjutnya pemberian dosis pemeliharaan 50-100 mg riap hari selama 9 bulan bisa meminimalisir kekambuhan (Ingram *et al.*, 1993).

F. Landasan Teori

Depresi adalah suatu gangguan mental yang mempengaruhi keadaan emosi seseorang, biasanya ditandai dengan perasaan sedih yang berkelanjutan, kelelahan, kehilangan minat dalam kehidupan, kekurangan semangat, perasaan tidak berdaya, rasa bersalah, perasaan tidak berharga, dan keputusasaan (Mutschler, 1991). Depresi berkaitan dengan mekanisme yang terjadi di otak yang melibatkan tingkat neurotransmitter, terutama norepinefrin dan serotonin. Ketika kadar norepinefrin dan serotonin rendah, hal ini dapat menyebabkan terjadinya depresi (Priyanto, 2008).

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).

Obat antidepresan, termasuk salah satunya golongan trisiklik, efektif dalam pengobatan dan pengendalian depresi. Namun, seiring waktu, penggunaan antidepresan dapat menyebabkan efek samping yang berpotensi merugikan kesehatan, seperti kejang dan gangguan antikolinergik. Salah satu efek samping umum lainnya adalah biaya yang tinggi untuk memperoleh obat tersebut, sehingga mendorong orang untuk mencari pengobatan alternatif dalam mencegah dan mengatasi depresi. Salah satu alternatif yang populer adalah menggunakan tanaman alami, seperti memanfaatkan daun dari tanaman sirsak.

Pemanfaatan tanaman sirsak menjadi pilihan pengobatan dalam mengatasi gangguan depresi dikarenakan efek samping yang jarang terjadi dan harga yang terjangkau. Daun sirsak mengandung berbagai senyawa kimia, termasuk alkaloid yang memiliki sifat penenang, glikosida yang berperan dalam pencegahan kanker dan pengaturan kolesterol, flavonoid yang memiliki efek menenangkan, dan terpenoid yang memiliki potensi sebagai agen antikanker (Mica, 2016 dalam Hidayat, 2019).

Uji efektivitas antidepresan pada mencit dapat menggunakan metode *forced swim test*, *tail suspension test*, dan *open field test*. Dalam uji coba antidepresan, metode yang digunakan adalah *forced swim test*. Metode ini dipilih karena berkaitan langsung dengan perilaku hewan uji yang menyebabkan hewan uji tertekan (Kartikasari, Hairunisa and Natasha, 2019). Metode *forced swim test* dilakukan dengan menempatkan mencit dalam bejana air dan mengamati *immobility time* mencit. Setelah enam puluh menit memberikan formula uji secara oral, mencit ditempatkan dalam sebuah silinder kaca dengan diameter 25 cm dan tinggi 23 cm. Tinggi air dalam silinder adalah 12 cm. Pengamatan dilakukan selama enam menit. Dalam dua menit pertama, mencit dibiarkan beradaptasi dengan lingkungan baru. Setelah dua menit ini, waktu ketidakgerakan dicatat menggunakan stopwatch selama empat menit berikutnya. Waktu imobilitas merujuk pada periode di mana hewan berada dalam keadaan mengapung di permukaan air, dengan kaki depan menyatu dan hanya melakukan gerakan yang diperlukan untuk menjaga posisi mengapung (Bach-Rojecky, Kalodera and Samarzija, 2004).

G. Hipotesis

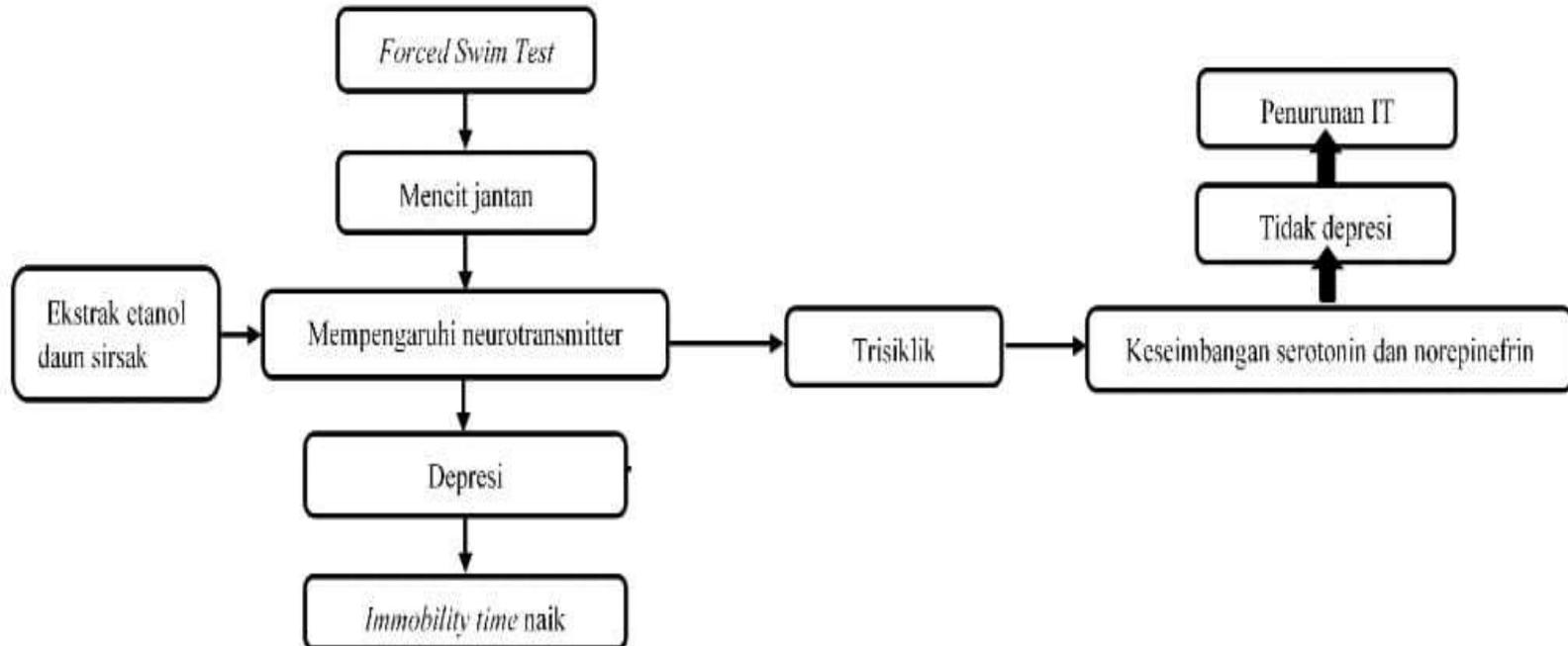
Berdasarkan permasalahan yang ada dalam penelitian ini dapat disusun hipotesa sebagai berikut:

Pertama, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun sirsak dapat memberikan efek antidepresan pada mencit putih jantan (*Mus Musculus*) yang diinduksi depresi dengan *Forced Swimming Test*

Kedua, fraksi etil asetat daun sirsak dapat memberikan efek antidepresan paling efektif pada mencit putih jantan (*Mus Musculus*) yang diinduksi depresi dengan *Forced Swimming Test*

H. Kerangka Konsep Penelitian

Adapun kerangka konsep penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Skema kerangka konsep penelitian