

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Deskripsi Metode Pendekatan Kajian Artikel

Metode penyesuaian dengan melakukan kajian artikel (jurnal), dengan sumber data yang digunakan berupa data dari literature yang sudah ada sebelumnya. Literatur yang dikaji berasal dari sumber data sekunder seperti *text book* dan artikel ilmiah, yang didapatkan secara *online* pada situs *Science Direct, Elsevier, google* cendekia dan situs lainnya yang terkait dengan tema penelitian. Artikel yang digunakan merupakan artikel yang terakreditasi secara nasional dalam SINTA RISTEKDIKTI maupun internasional dalam *Scimago Journal Rank*. Artikel yang digunakan dalam rentang tahun 2012-2018. Kriteria inklusi yang digunakan adalah kandungan senyawa metabolit yang terdapat dalam biji, buah dan daun karika (*Carica pubescens* atau *Vasconcellea pubescens*) serta aktivitas farmakologi yang dimiliki berdasarkan kandungan senyawa metabolit.

B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel

Artikel yang digunakan sebanyak enam buah dengan masing-masing berupa artikel hasil penelitian *eksperimental* laboratorium yang dapat dilihat lebih detail pada lampiran 1. Dua buah artikel berupa artikel internasional yang tidak termasuk dalam jurnal *predatory* dalam daftar *Beall's List* dan terdaftar dalam *Scimago Journal Rank*. Empat artikel yang lainnya berupa artikel nasional yang terakreditasi SINTA RISTEKDIKTI. Artikel pertama

yaitu *LWT - Food Science and Technology*: Elsevier dengan nilai H index 123, termasuk dalam Q1 dan memiliki *impact* faktor 3.714. Artikel kedua yaitu *Isea Journal of Biological Sciences: Nusantara Biosciences* dengan nilai H-Index 17, termasuk dalam S2 Sinta *score*, dan memiliki *impact* faktor 0,42. Artikel ketiga yaitu *Journal of Chemistry: Hindawi Publishing Corporation* dengan nilai H index 44, termasuk dalam Q2 dan memiliki *impact* faktor 1.727. Artikel keempat dan keenam yaitu *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*: Prodi Farmasi UNS dengan nilai H-index 5, termasuk dalam S3 Sinta *score* dan memiliki *impact* faktor 1,17. Artikel kelima yaitu Jurnal Teknologi Laboratorium: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta dengan nilai H-index 6, termasuk dalam S2 Sinta *score* dan memiliki *impact* faktor 0,33.

C. Isi Artikel

Isi artikel yang digunakan sebagai hasil data, dapat dilihat pada lampiran 2 dan uraian di bawah ini :

1. Artikel Pertama

a. Judul Artikel :

High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (Vasconcellea pubescens) seeds: Effects of extraction conditions and methods

- b. Penulis Artikel :
 Vilbett Briones-Labarca, Melissa Plaza-Morales, Claudia Giovagnoli
 Vicuña, dan Fabiola Jamett
- c. Nama Jurnal : *LWT - Food Science and Technology*
- d. Penerbit : ELSEVIER
- e. Volume & Halaman : Volume 60 & halaman 525-534
- f. Tahun Terbit : 2014

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :
 Mengetahui penggunaan biji karika sebagai sumber *biocompounds* dengan membandingkan berbagai macam metode ekstraksi .
2. Metode Penelitian
 - a. Desain : Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium. Metode ekstraksi yang digunakan ada tiga macam ekstraksi, yaitu ekstraksi dengan bantuan tekanan hidrostatik tinggi (HHPE), dengan bantuan gelombang ultrasonik (UAE) dan dengan metode konvensional (CE).
 - b. Sampel : Biji *Vasconcellea pubescens*.
 - c. Instrumen : Alat yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan alat-alat laboratorium standar dan alat-alat khusus seperti oven vakum, soklet, *orbital shaker*, *ultrasonic bath*, *High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE)*, *rotary evaporator*, dan kromatografi gas GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*).

d. Metode analisis : Data komponen asam lemak yang terdapat dalam biji karika diperoleh dari pemisahan campuran dengan menggunakan kromatografi gas. Sedangkan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan FRAP. Metode DPPH bekerja dengan prinsip perubahan warna yaitu radikal bebas DPPH yang mempunyai elektron tak berpasangan memberikan warna ungu, akan berubah menjadi warna kuning saat elektronnya berpasangan. Begitu pula dengan metode FRAP akan menunjukkan perubahan warna dari yang bening (tidak berwarna) menjadi warna biru.

e. Hasil Penelitian :

Hasil dari penelitian ini yaitu mengidentifikasi jenis kandungan asam lemak (senyawa fenolik) yang terkandung di dalam minyak biji karika. Minyak biji karika yang digunakan adalah yang didapatkan dari proses ekstraksi menggunakan metode konvensional yaitu sokletasi dan metode HHPE yang dapat memberikan hasil minyak tinggi. Komponen asam lemak total ini dianalisis menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*), yang dapat dilihat hasilnya pada tabel 3.1 di bawah ini :

Tabel 3. 1 Komposisi Asam Lemak Total (Briones-Labarca *et al.*, 2015)

Asam Lemak	Metode Ekstraksi			
	Sokletasi (SE) 0.1 MPa/8jam	HHPE 500 MPa/5menit	HHPE 500 MPa/10menit	HHPE 500 MPa/15menit
Asam Miristat (C14:0)	2.28 ±0.16 ^a	2.44±0.04 ^{ab}	2.45±0.04 ^{ab}	2.6±0.05 ^b
Asam Palmitat (C16:0)	9.63 ±0.15 ^a	9.8±0.20 ^a	9.87±0.17 ^a	10±0.10 ^a
Asam Stearat (C18:0)	2.5 ±0.05 ^a	2.5±0.1 ^a	2.5±0.02 ^a	2.5±0.02 ^a
Asam Heptadekanoat (C17:0)	0.23±0.02 ^a	0.25±0.02 ^{ab}	0.25±0.02 ^{ab}	0.27±0.02 ^b
Asam Arakidat (C20:0)	0.3±0.01 ^a	0.3±0.02 ^a	0.3±0.04 ^a	0.3±0.03 ^a
Asam Lemak Jenuh	14.9±0.20 ^a	15.3±0.29 ^b	15.4±0.08 ^b	15.6±0.09 ^b
Asam Palmitoleat (C16:1)	0.62±0.03 ^a	0.7±0.03 ^{ab}	0.72±0.03 ^{ab}	0.76±0.03 ^b
Asam Oleat (C18:1)	70±0.10 ^a	70.5±0.00 ^b	70.6±0.12 ^b	71.7±0.21 ^c
Asam Lemak Tak Jenuh Tunggal	70.6±0.11 ^a	71.2±0.03 ^b	71.3±0.14 ^b	72.5±0.19 ^c
Asam Linoleat (C18:2)	2.1±0.15 ^a	12.6±0.12 ^b	12.7±0.16 ^b	13.1±0.17 ^c
Asam Linolenat (C18:3)	1.0±0.04 ^a	1.0±0.07 ^a	1.1±0.08 ^a	1.5±0.03 ^a
Asam Lemak Tak Jenuh Ganda	13.1±0.16 ^a	13.6±0.15 ^b	13.8±0.14 ^b	14.6±0.21 ^c

*Perbedaan huruf dalam angka pada kolom menunjukkan perbedaan signifikan antar rata-rata nilai

Berdasarkan tabel 3.1 di atas, dapat dilihat bahwa komponen asam lemak yang berasal dari proses ekstraksi dengan sokletasi kandungan asam lemak jenuh sebesar 14,9%, asam lemak tak jenuh tunggal sebesar 70,6% dan asam lemak tak jenuh ganda sebesar 13,1%, hasil ini lebih sedikit dibandingkan dengan minyak biji karika yang diekstraksi dengan bantuan tekanan hidrostatis yang tinggi. Ekstraksi biji karika dengan HHPE pada tekanan 500MPa dalam rentang waktu 5, 10 dan 15 menit mendapatkan kandungan asam lemak yang lebih tinggi. Kandungan asam lemak jenuh sebesar 15,6%, asam lemak tak jenuh tunggal sebesar 72,5% dan asam lemak tak jenuh ganda sebesar 14,6%. Asam oleat dan asam linoleat adalah kandungan asam yang berasal dari senyawa fenolik yang

mendominasi dari minyak biji karika. Kandungan senyawa fenolik yang terkandung dalam biji karika memiliki keterkaitan dengan aktivitas antioksidan dimana senyawa fenolik dapat menjadi kontributor utama aktivitas antioksidan melalui kemamuan gugus fenol dari biji karika untuk berpasangan dengan radikal bebas, dan mekanisme kerjanya sama dengan bentuk senyawa flavonoid yang dimiliki.

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan DPPH dan FRAP, dimana hasil aktivitas antioksidannya menunjukkan hasil yang tinggi pada ekstrak yang diekstraksi dengan metode HHPE. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan peningkatan kapasitas dari kisaran 9,3%-66,8% saat diekstraksi dengan metode UAE menjadi kisaran 129,3%-272,8% saat diekstraksi dengan HHPE. Sedangkan saat dengan metode FRAP terjadi peningkatan dari kisaran 5,0%-45,5% ketika menggunakan metode UAE menjadi berkisar antara 176,7%-269,3% saat dengan HHPE.

f. Kesimpulan dan Saran :

High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE) merupakan metode yang paling efektif dalam mengekstraksi minyak biji karika yang kaya asam oleat dan flavonoid, sehingga dapat menjadi alternatif baru sebagai minyak asam oleat yang juga memiliki aktivitas antioksidan dengan kadar 129,3% sampai 269,3%.

2. Artikel Kedua

a. Judul Artikel :

Characterization of Carica pubescens in Dieng Plateau, Central Java based on morphological characters, antioxidant capacity, and protein banding pattern.

b. Penulis Artikel :

Ainun Nikmati Laily, Suranto, Sugiyarto

c. Nama Jurnal : *Isea Journal of Biological Sciences*

d. Penerbit : *Nusantara Bioscience Community*

e. Volume & Halaman : Volume 4 & halaman 16-21

f. Tahun Terbit : 2012

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :

Tujuannya adalah untuk mengetahui kapasitas antioksidan pada *Carica pubescens* yang hidup di Dataran Tinggi Dieng berdasarkan perbedaan ketinggian (Desa Kejajar 1400mdpl., Patak Banteng 1900mdpl., dan Sembungan 2400mdpl.).

2. Metode Penelitian

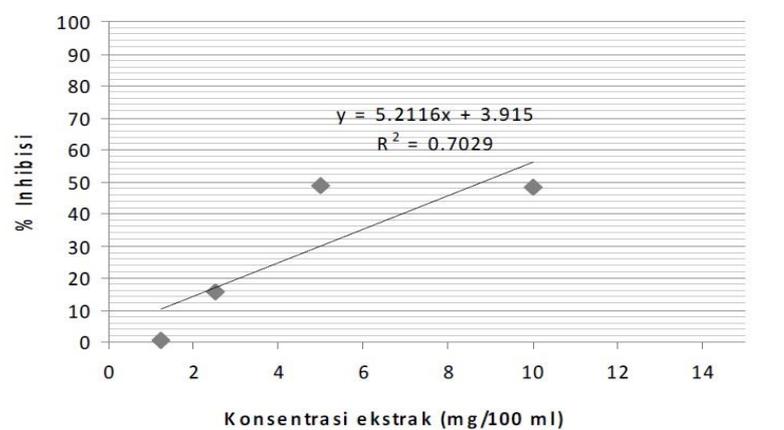
a. Desain : Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium. Kapasitas antioksidan dihitung menggunakan metode DPPH.

b. Sampel : Buah *Carica pubescens*.

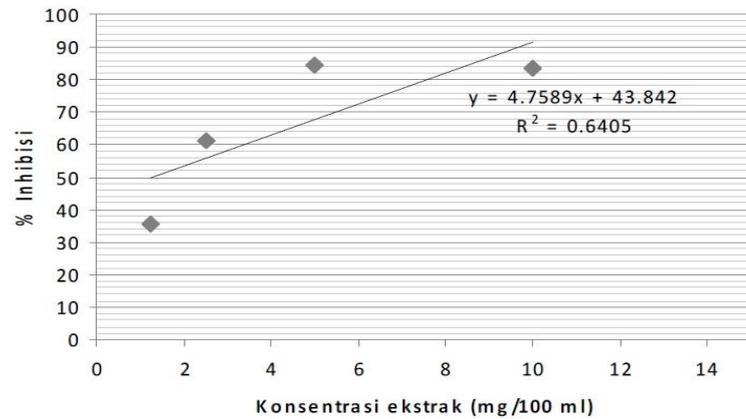
- c. Instrumen : Instrumen yang digunakan adalah alat laboratorium standar dan alat-alat khusus seperti spektrofotometer UV Vis.
- d. Metode analisis : Data antioksidan yang didapatkan dengan menganalisis larutan ekstrak buah karika dari beberapa konsentrasi pengenceran yang ditambahkan larutan DPPH (*diphenyl picril hydrazil hydrate*). Kemudian absorbansi DPPH tersebut dianalisis menggunakan spektrofotometer sinar tampak (UV-Vis) pada panjang gelombang 517nm. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH ini adalah adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang mempunyai elektron tak berpasangan akan memberikan warna ungu, dimana nantinya akan berubah menjadi warna kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan warna ini juga akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC50 (*Inhibitory concentration*). Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Hasil perhitungan perubahan serapan larutan DPPH tersebut dimasukkan dalam persamaan regresi dengan kadar ekstrak (mg/100ml) sebagai sumbu X dan nilai %inhibisi sebagai sumbu Y. Persamaan garis yang digunakan adalah $Y=aX+b$.

e. Hasil Penelitian :

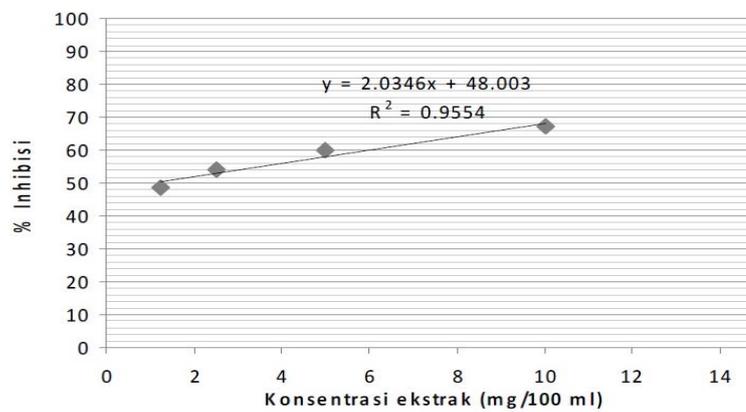
Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah karika yang diekstraksi dengan metanol mengandung senyawa flavonoid. Kapasitas antioksidan yang dimiliki buah karika dikaitkan dengan adanya gugus hidroksil fenolik yang menempel pada struktur flavonoid, yang terbukti mampu meredam radikal bebas DPPH. Potensi antioksidan dari ketiga ketinggian letak tumbuh karika bervariasi karena dimungkinkan ekstrak yang berasal dari letak geografis yang berbeda juga mengandung gugus hidroksi dengan jumlah dan lokasi pada kerangka flavonoid yang berbeda pula. Ketinggian letak tumbuh karika pada 2400mdpl memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel selama 30menit. Hasil dari perhitungan %inhibisi yang dibuat menjadi kurva regresi linier untuk penetapan IC_{50} ekstrak buah karika yang tumbuh pada ketinggian 1400mdpl (A) , 1900mdpl (B) dan 2400dpl (C) dapat dilihat pada gambar 3.1 di bawah ini :



A



B



C

Gambar 3. 1 Kurva Regresi Linier IC₅₀ Ekstrak Buah *Carica pubescens* (Laily *et al.*, 2012)

Berdasarkan gambar kurva 3.1, hasil kapasitas antioksidan pada ketinggian 2400m dpl memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,983mg/100ml, diikuti pada ketinggian 1900m dpl nilai IC₅₀ sebesar 1,2945mg/100ml dan terakhir pada ketinggian 1400m dpl nilai IC₅₀ sebesar 8,843mg/100ml. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki semakin besar.

f. Kesimpulan dan Saran :

Kandungan flavonoid pada buah karika memiliki aktivitas antioksidan. Adanya perbedaan ketinggian tempat tumbuh *Carica pubescens* menunjukkan variasi terhadap kapasitas antioksidannya.

3. Artikel Ketiga

a. Judul Artikel :

Extraction Techniques for Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity Determination of Chilean Papaya (Vasconcellea pubescens) Fruit.

b. Penulis Artikel :

Elsa Uribe, Alvaro Delgadillo, Claudia Giovagnoli-Vicuña, Issis Quispe-Fuentes, dan Liliana Zura-Bravo¹

c. Nama Jurnal : *Journal of Chemistry*

d. Penerbit : *Hindawi Publishing Corporation*

e. Volume & Halaman : Volume 2015 & halaman 1-8

f. Tahun Terbit : 2015

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :

Menilai dan membandingkan berbagai metode ekstraksi pada buah karika untuk mengetahui hasil komponen bioaktif (kadar fenolik) dan kapasitas antioksidannya yang terbaik.

2. Metode Penelitian

- a. Desain :Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium.
- b. Sampel : Buah *Vasconcellea pubescens*.
- c. Instrumen :Alat yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan alat-alat laboratorium standard dan alat-lat khusus seperti *orbital shaker, ultrasonic bath*, dan pengolahan hidrostatik tekanan tinggi atau yang dikenal dengan istilah *High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE)*.
- d. Metode analisis : Data yang didapatkan dianalisis menggunakan metode spektrofotometri (DPPH dan FRAP) dan voltametri untuk uji aktivitas antioksidan. Prinsip analisis menggunakan metode DPPH dan FRAP pada dasarnya adalah sama, yaitu adanya perubahan warna yang terjadi ketika sebelum dan sesudah larutan sampel ditambahkan dengan reagen DPPH atau FRAP. Voltametri siklik termasuk dalam metode elektrokimia. Voltametri siklik adalah teknik analisis yang digunakan untuk memperoleh informasi kualitatif dari reaksi elektrokimia. Voltametri siklik dapat mengukur kapasitas antioksidan dengan mengukur perilaku redoks utama pada sistem yang kompleks tanpa perlu mengukur kapasitas antioksidan masing-masing komponen. Teknik ini tidak memberikan informasi secara detail dari masing-masing komponen antioksidan yang ada dalam sampel, tetapi area di bawah kurva (AUC) dapat digunakan sebagai ukuran kapasitas antioksidan.

e. Hasil Penelitian :

Buah karika yang digunakan diekstraksi terlebih dahulu menggunakan pelarut berupa methanol. Metode ekstraksi yang digunakan ada lima macam metode, yaitu metode *Agitation Extraction (AE)*, metode *Ultrasound Extraction (UE)*, pengolahan hidrostatis tekanan tinggi atau yang dikenal dengan istilah *High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE)*, gabungan antara metode *HHPE* dengan *AE* dan yang terakhir adalah gabungan metode dari *HHPE* dan *UE*. Dari kelima metode ekstraksi ini, gabungan antara metode *High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE)* dan *Ultrasound Extraction (UE)* merupakan metode yang paling efisien untuk mendeteksi senyawa total fenolik dalam karika, dimana kadar fenolik total untuk fraksi bebas dari ekstraksi gabungan *HHPE-UE* sebesar 129,1mg GAE/100 gFW. Hasil perbandingan kapasitas antioksidan dan kadar fenolik total dapat dilihat pada tabel 3.2 dibawah ini :

Tabel 3. 2 Perbandingan Kadar Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan (Uribe *et al.*, 2015)

Fraksi	Metode Ekstraksi	Kadar Total Fenolik (mg GAE/100g)	DPPH (mM TE/100g)	FRAP (mM TE/100g)	Voltammetri (mM TE/100g)
Bebas	AE	23.8±2.0 ^b	17.6±0.2 ^{b.A}	100±0.1 ^{a.B}	15.2±1.3 ^{a.A}
	UE	26.3±0.2 ^{ab}	15.7±0.3 ^{a.A}	99.9±4.8 ^{ab.B}	12.9±2.2 ^{a.A}
	HHPE	28.6±1.1 ^a	16.2±0.7 ^{a.A}	101.9±0.1 ^{a.B}	16.9±0.3 ^{a.A}
	HHPE-AE	126.9±1.9 ^c	20.5±0.1 ^{c.A}	101.1±1.9 ^{a.B}	140.5±17.9 ^{b.C}
	HHPE-UE	129.1±3.8 ^c	20.6±0.2 ^{c.A}	97.2±4.3 ^{b.B}	141.0±13.8 ^{b.C}
Terikat	AE	ND [*]	ND [*]	28.1±2.7 ^{c.A}	2.1±0.6 ^{d.B}
	UE	ND [*]	ND [*]	22.9±1.4 ^{d.A}	3.3±1.2 ^{d.B}
	HHPE	ND [*]	ND [*]	32.3±2.7 ^{c.A}	1.6±0.2 ^{c.B}
	HHPE-AE	0.9±0.0 ^d	2.1±0.0 ^{d.A}	83.4±0.2 ^{e.B}	59.4±4.5 ^{f.C}
	HHPE-UE	1.2±0.0 ^d	1.8±0.0 ^{d.A}	85.7±0.9 ^{e.B}	27.7±8.8 ^{e.C}

Keterangan : ND (not detected) = tidak terdeteksi, nilai ± standar deviasi rangkap tiga, nilai yang diikuti oleh huruf yang sama di kolom yang sama tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dan huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan tabel 3.2 di atas, dapat diketahui bahwa ekstraksi dengan menggunakan metode HHPE-UE, yaitu mengkombinasikan antara ekstraksi dengan bantuan tekanan hidrostatik yang tinggi dengan ultrasonic mampu memberikan hasil ekstraksi yang maksimal. Dengan hasil ekstraksi HHPE-UE, terlihat bahwa dalam fraksi bebas memiliki kadar total fenolik sebesar 129mg GAE/100g dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH memiliki potensi sebesar 20,6mM TE/100g dengan FRAP sebesar 97,2mM TE/100g dan dengan voltammetry sebesar 141mM TE/100g . Dalam kasus senyawa fenolik, kapasitas antioksidan tergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksi. Gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga dapat dengan mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hydrogen pada radikal bebas. Kemampuan dalam membentuk radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi ini yang menyebabkan senyawa fenolik sangat potensial sebagai antioksidan.

f. Kesimpulan dan Saran :

Kandungan senyawa fenolik pada buah karika memiliki potensi aktivitas antioksidan antara 20,6mM TE/100g sampai 1416mM TE/100g. Kadar fenolik dalam buah karika paling efisien dideteksi menggunakan metode *High Hydrostatic Pressure Extration (HHPE)* dan *Ultrasound Extraction (UE)* dengan total kadar fenoliknya sebanyak 129mg GAE/100g.

4. Artikel Keempat

- a. Judul Artikel :
Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica pubescens*)
Secara In Vivo
- b. Penulis Artikel :
Heru Sasongko, Sugiyarto, Yeni Farida, Nur Rohman Efendi, Diah Pratiwi¹, Ahmad Dwi Setyawan dan Tetri Widiyani
- c. Nama Jurnal : *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (JPSCR)*
- d. Penerbit : Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Sebelas Maret
- e. Volume & Halaman : Volume 1 & halaman 83-89
- f. Tahun Terbit : 2016

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :
Mengetahui aktivitas analgetik daun karika (*Carica pubsecens*) pada mencit
2. Metode Penelitian
- a. Desain : Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium (Metode uji geliat / *whrithing test*)
- b. Sampel : Daun *Carica pubescens*
- c. Instrumen : Instrumen yang digunakan merupakan alat-alat laboratorium standar, kandang pengamatan, spuit injeksi dan sonde oral.

d. Metode analisis : Uji geliat pada prinsipnya bekerja dengan mengamati respon geliat yang terjadi pada hewan uji karena pemberian rangsangan nyeri oleh suatu iritan. Analisis daya analgetik dihitung berdasarkan besarnya penghambatan jumlah geliat menggunakan persamaan Handerson dan Forsalt yaitu % Proteksi geliat = $100 - [(P/K) \times 100 \text{ \%}]$, dimana P merupakan jumlah kumulatif geliat hewan uji setelah pemberian obat yang ditetapkan, sedangkan K merupakan jumlah kumulatif geliat hewan uji kontrol negatif (suspensi CMC Na 0,5%). Jumlah geliat dihitung pada masing-masing kelompok perlakuan, dimana satu geliat ditandai dengan kaki mencit ditarik kedepan dan belakang disertai abdomen yang menyentuh lantai. Jumlah geliat dari tiap kelompok dirata-rata dan dibandingkan antara kelompok yang diberi perlakuan dengan kelompok kontrol. Jumlah geliat yang lebih sedikit dari kelompok kontrol menandakan adanya aktivitas analgetik pada hewan uji. Efektivitas analgetik dihitung berdasarkan rumus : $\frac{\% \text{ proteksi bahan uji}}{\% \text{ proteksi tramadol}} \times 100\%$. Data-data yang didapatkan selanjutnya dikumpulkan dan dianalisis secara statistic menggunakan program SPSS dan diuji menggunakan uji *one way ANOVA (Analysis of Variance)*.

e. Hasil Penelitian :

Penelitian yang dilakukan menggunakan hewan uji berupa mencit sebanyak 25 ekor yang sebelumnya sudah diadaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungan barunya selama satu minggu. Sebelum dimulai pemberian perlakuan, mencit dipuaskan selama 18jam, dan hanya diberi

minum. Sebagai penginduksi nyeri, diberikan asam asetat 1% pada hewan uji. Pemberian asam asetat sebagai penginduksi nyeri diberikan secara intraperitoneal pada mencit.

Pemilihan asam asetat sebagai penginduksi nyeri karena nyeri yang dihasilkan berasal dari reaksi inflamasi akut lokal. Adanya reaksi ini menyebabkan pelepasan asam arakidonat dari jaringan fosfolipid melalui jalur siklooksigenase dan menghasilkan prostaglandin di dalam cairan intraperitoneal mengakibatkan timbulnya respon geliat pada mencit. Kontrol negatif diberikan suspensi CMC Na 0,5% sebanyak 1ml, sedangkan kontrol positif atau pembandingnya yaitu larutan tramadol (analgesic opiate) dengan dosis 50mg/kgBB. Pemberian ekstrak etanol daun karika terbagi dalam beberapa dosis, yaitu 20mg/kgBB, 40mg/kgBB dan 80mg/kgBB. Uji daya analgetik dan rerata jumlah geliat dari mencit yang diinduksi menggunakan asam asetat dapat dilihat pada tabel 3.3 di bawah ini :

Tabel 3. 3 Hasil % Daya Analgetik dari kumulatif jumlah geliat (Sasongko *et al.*, 2016)

Kelompok	% Daya Analgetik	%Jumlah Geliat
Kontrol Negatif	0	100
Kontrol Positif	100	0
Dosis ekstrak 20mg/kgBB	60	30
Dosis ekstrak 40mg/kgBB	60	30
Dosis ekstrak 80mg/kgBB	80	10

Berdasarkan tabel 3.3 di atas, dapat dilihat jika pada dosis 20mg/kgBB, 40mg/kgBB dan 80mg/kgBB memiliki aktivitas analgetik, dimana aktivitas tertingginya ada pada dosis 80mg/kgBB dengan %DA (daya analgetik) paling mendekati kontrol positif (tramadol). Metabolit

sekunder yang terkandung dalam daun karika menurut Novalina *et al.*, (2013) tidak hanya flavonoid, tetapi juga alkaloid, tanin dan fenol yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam sintesis prostaglandin. Flavonoid menghambat produksi dari mediator-mediator inflamasi dengan melepas asam arakidonat sehingga memblok kerja dari kedua enzim siklooksigenase dan lipoksigenase. Tanin juga bekerja dengan cara yang hampir sama dengan flavonoid, tanin menghambat enzim siklooksigenasi dari prostaglandin. Proses ini diduga hampir sama dengan cara kerja dari obat antiinflamasi non steroid (AINS). Mekanisme saponin sebagai analgetik mampu menghambat prostaglandin yang berperan menyebabkan peradangan. Alkaloid bekerja terhadap reseptor opioid khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respon terhadap emosional terhadap nyeri dapat berkurang.

f. Kesimpulan dan Saran :

Daun karika mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan fenol yang bekerja sebagai analgetik. Dosis ekstrak etanol daun karika 80mg/kgBB menunjukkan aktivitas analgetik paling tinggi.

5. Artikel Kelima

a. Judul Artikel :

Potensi Ekstrak Daun *Carica Pubescens* Sebagai Alternatif Antidiare Bakteri *Vibrio Cholerae* dan *Shigella Dysentriae*

b. Penulis Artikel :

Tri Dyah Astuti dan Wahid Syamsul Hadi

- c. Nama Jurnal : Jurnal Teknologi Laboratorium
- d. Penerbit : Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- e. Volume & Halaman : Volume 7 & halaman 61-69
- f. Tahun Terbit : 2018

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktifitas anti diare ekstrak daun karika terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae*.

2. Metode Penelitian

- a. Desain : Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL).
- b. Sampel : Daun *Carica pubescens*.
- c. Instrumen : Instrumen yang digunakan seperti vacuum, *rotary evaporator* dan alat-alat ekstraksi standar lainnya, autoklaf untuk sterilisasi media, spektrofotometer untuk mengecek kekeruhan larutan standar, vortex, cawan petri untuk media, dan alat ukur untuk uji zona hambat bakteri seperti kertas cakram dan jangka sorong.
- d. Metode analisis : Uji antibakteri menggunakan metode difusi yaitu dengan metode sumuran. Bakteri *Vibrio cholerae* dan *Shigella dysenteriae* diinokulasikan ke dalam media (*Mueller Hinton Agar/MHA*) secara *streak plate*. Inokulasi merupakan kegiatan pemindahan mikroorganisme baik berupa bakteri maupun jamur dari tempat atau sumber asalnya ke medium baru yang telah dibuat dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi dan

aseptis. Teknik isolasi dan penanaman mikroba digunakan secara *streak plate method* atau metode gores, teknik ini dilakukan dengan menggoreskan bakteri yang diambil di atas permukaan medium padat dengan menggunakan jarum inokulasi. Biakan bakteri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daerah bening yang menjadi indikasi dari kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri yang ada di sekitar sumuran yang berisi larutan uji diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong. Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi SPSS.

e. Hasil Penelitian :

Diare merupakan kondisi dimana konsistensi tinja atau feses berubah menjadi lembek atau cair dan frekuensi defekasi lebih dari 3 kali per harinya. Penelitian berikut ini membahas terkait penggunaan daun karika sebagai alternatif pengobatan diare yang disebabkan oleh adanya infeksi bakteri. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini berupa antibiotik, dan kontrol negatif berupa pelarut ekstrak yaitu DMSO (*dimethyl sulfoxide*). Sumuran yang dibuat berasal dari beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun karika, yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%. Hasilnya didapatkan bahwa pada konsentrasi 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan memberikan efek terapi pada bakteri *Shigella dysentri* dan *Vibrio cholera*. Perlakuan pada uji antibakteri ini dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil pengamatan zona hambatnya dapat dilihat pada tabel 3.4 di bawah ini :

Tabel 3. 4 Hasil pengamatan zona hambat pada media plate (Astuti & Hadi, 2018)

Bakteri	Konsentrasi (%)	Perlakuan ke- (cm)			Rata-rata ± SD
		1	2	3	
<i>Vibrio cholera</i>	100	2,5	2,6	2,5	2,533±0,058
	50	2,0	2,3	2,2	2,167±0,153
	25	1,9	1,9	2,0	1,933±0,058
	12,5	1,8	1,8	1,9	1,833±0,058
	Antibiotik	2,5	2,5	2,5	2,5±0
<i>Shigella dysentri</i>	100	1,4	1,3	1,3	1,333±0,058
	50	0,7	0,8	0,8	0,767±0,058
	25	0,6	0,7	0,7	0,667±0,058
	12,5	0,7	0,6	0,6	0,633±0,058
	Antibiotik	1,7	1,7	1,7	1,7±0

Berdasarkan tabel 3.4 di atas, terlihat ada perbedaan zona hambat pada setiap konsentrasi ekstrak daun karika. Zona hambat pada konsentrasi 100% menunjukkan hasil yang mendekati antibiotik, dengan demikian dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka respon hambatan semakin kuat. Data tersebut selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan SPSS yaitu dengan uji *two way ANOVA* karena ada dua faktor yang berpengaruh pada zona hambat, sehingga perlu diketahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Two Way Anova* dapat dilihat pada tabel 3.5 di bawah ini, dimana nilai rerata zona hambat pada bakteri *Vibrio cholera*. (2,533) lebih besar daripada *Shigella dysentri* (1,33).

Tabel 3. 5 Hasil Uji Two Way ANOVA Astuti & Hadi (2018)

Bakteri	Konsentrasi Ekstrak			
	12,5%	25%	50%	100%
<i>Shigella dysentri</i>	0.633	0.667	0.800	1.33
<i>Vibrio cholera</i>	1.833	1.867	2.167	2.533

Senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan fenol merupakan senyawa yang terkandung dalam daun karika yang dianggap berpotensi sebagai antibakteri dan antidiare. Mekanisme kerja alkaloid dan flavonoid memiliki kemiripan, dimana keduanya memiliki target pengerusakan pada dinding sel bakteri dengan mengganggu penyusunan dinding sel bakteri dan menyebabkan bakteri tidak terbentuk secara utuh. Flavonoid juga dapat memblok reseptor Cl^- di intesninal.

Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan menyebabkan bakteri lisis, selain itu tanin dapat mengurangi intensitas diare dengan menciutkan selaput lendir usus dan mengecilkan pori sehingga mampu menghambat sekresi cairan dan elektrolit. Saponin sebagai antibakteri mampu menghambat kolonisasi bakteri. Sedangkan senyawa fenol secara *in vivo* mampu bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu kerja membran sitoplasma bakteri, termasuk diantaranya mengganggu transpor aktif dan kekuatan proton.

f. Kesimpulan dan Saran :

Daun karika mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan fenol yang berpotensi sebagai antibakteri penyebab diare. Ekstrak daun *Carica pubescens* dengan konsentrasi 100% menunjukkan daya hambat yang terbaik terhadap bakteri penyebab diare.

6. Artikel Keenam

- a. Judul Artikel :
Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Karika (*Vasconcellea pubescens* A.D.C) Terhadap Nilai SGPT dan SGOT pada Tikus Jantan yang diinduksi Paracetamol
- b. Penulis Artikel :
Heru Sasongko dan Sugiyarto
- c. Nama Jurnal : *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (JPSCR)*
- d. Penerbit : Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Sebelas Maret
- e. Volume & Halaman : Volume 02 & halaman 70-75
- f. Tahun Terbit : 2018

ISI ARTIKEL

1. Tujuan Penelitian :
Mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun karika terhadap kadar SGPT dan SGOT pada tikus jantan galur *Sprague Dawley* setelah diinduksi paracetamol dosis akut.
2. Metode Penelitian
- a. Desain : Metode yang digunakan adalah *eksperimental* laboratorium
- b. Sampel : Daun *Vasconcellea pubescens*.

- c. Instrumen : Instrumen yang digunakan merupakan alat-alat laboratorium standar, alat-alat untuk ekstraksi seperti oven dan *rotary evaporator*, serta spektrofotometer.
- d. Metode analisis : Tikus putih dibagi kedalam beberapa kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun karika. Pengujian dilakukan selama sembilan hari dan pada hari ketujuh baru diinduksikan paracetamol 2g/kgBB pada saat 30menit setelah pemberian sampel uji. Selanjutnya serum darah diambil pada hari terakhir pengujian (hari kesembilan) untuk diukur kadar SGPT dan SGOT dengan cara menusuk *sinus retro orbital*, yang selanjutnya disentrifugasi terlebih dahulu untuk memisahkan serum dan plasma. Pengukuran kadar SGPT dan SGOT berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen SGPT dan SGOT. Prinsip kerja dari kadar enzim SGOT dan SGPT dapat diketahui melalui analisis spektrofotometer UV-VIS yaitu interaksi antara sampel dengan energy cahaya pada panjang gelombang 340nm. Laju oksidasi NADH menjadi NAD⁺ pada reaksi SGPT dan SGOT dapat dilihat pada analisisnya berdasarkan penurunan absorbansi, sehingga mengakibatkan makin tingginya nilai SGPT dan SGOT. Namun kedua reaksi berjalan masing-masing dengan reaktan yang berbeda dan menghasilkan produk yang berbeda selain NAD⁺. Data yang terkumpul selanjutnya dianalisis secara statistik dengan SPSS yaitu uji *Kolmogorov-smirnov* untuk mengetahui distribusi data dan dilanjutkan uji homogenitas, kemudian uji *ANOVA* dan uji *Post Hoc* dengan $p < 0,05$ untuk

melihat dan mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan.

e. Hasil Penelitian :

Penelitian kali ini menggunakan beberapa kelompok kontrol yaitu, kontrol normal, kontrol negatif dengan diberi CMC Na 0,5%, kontrol positif dengan diberi silimarin dosis 100mg/kgBB dan kontrol perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun karika dengan dosis 60, 120 dan 240mg/kgBB. Hasil dari penelitian ini dengan menggunakan serum darah tikus untuk diukur kadar SGOT dan SGPT nya. Tabel 3.6 di bawah ini menunjukkan adanya perbedaan kadar SGPT dan SGOT pada tikus dengan kontrol positif dan diberikan ekstrak etanol daun karika dibandingkan dengan kontrol negatif, dengan nilai signifikan sebesar $p < 0,05$:

Tabel 3. 6 Kadar SGPT dan SGOT pada serum darah tikus yang telah diinduksi parasetamol (Heru Sasongko & Sugiyarto, 2018)

Kelompok (n=5 ekor/kelompok)	SGPT±SD U/I	SGPT±SD U/I
Kontrol Normal	53,575±10,90*	229,775±23,50*
CMC Na + Parasetamol	742,908±96,13	991,075±85,74
Silimarin + Parasetamol	115,411±14,31*	247,150±29,07*
Dosis Ekstrak 60mg/kgBB + Parasetamol	240,846±11,15*	742,632±68,81*
Dosis Ekstrak 120mg/kgBB + Parasetamol	348,036±56,79*	796,947±91,40*
Dosis Ekstrak 240mg/kgBB + Parasetamol	381,137±24,69*	815,804±39,98*

Berdasarkan tabel 3.6 di atas, diketahui bahwa terjadi kenaikan nilai kadar SGOT dan SGPT pada semua kelompok perlakuan setelah diinduksi parasetamol. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan atau gangguan pada fungsi hati secara akut akibat parasetamol. Kerusakan hati secara akut terjadi ketika kadar SGPT yang proporsinya besar di dalam hati kadarnya

meningkat dibandingkan kadar normalnya. Kelompok dosis 60-240mg/kgBB ekstrak etanol daun karika terlihat mampu mencegah kenaikan SGPT dan SGOT secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, hal ini karena adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan fenol yang terkandung.

Obat parasetamol yang dimetabolisme dalam hati akan membentuk metabolit *N-Acetyl-P-Benzoquinoneimine* (NAPQI) yang reaktif dan berinteraksi secara kovalen dengan makromolekul hati pada bagian sistein. Interaksi yang terjadi inilah yang mengakibatkan stress oksidatif dan diprediksi menyebabkan kerusakan hati dengan meningkatnya kadar SGPT dan SGOT. SGPT (*serum glutamic-pyruvic transaminase*) atau juga yang disebut ALT (*alanine aminotransferase*) merupakan parameter spesifik pada kerusakan hati. Sementara SGOT (*serum glutamic-oxaloacetic transaminase*) atau yang juga disebut AST (*aspartate aminotransferase*) tidak spesifik menunjukkan sebagai parameter kerusakan hati karena juga terdapat pada beberapa kasus lainnya seperti infark miokardial, nekrosis otot, ginjal, otak dan juga hemolysis intrvaskuler.

Senyawa-senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan fenol memiliki aktivitas antioksidan, dan aktivitas antioksidan disinyalir berhubungan dengan aktivitas hepatoprotektif. Aktivitas antioksidan ini bekerja sebagai *scavenger*, dengan mekanisme menurunkan akibat dari stress oksidatif dan mencegah timbulnya kerusakan oksidatif seperti peroksida lipid dan DNA teroksidasi. Jika stress oksidatif akibat parasetamol dapat dicegah atau

diperbaiki maka nekrosis pada sel hati yang dapat memicu diproduksinya mediator hepatotoksik ($\text{TNF-}\alpha$, IL-1 dan $\text{INF-}\gamma$) dapat dikurangi produksinya dan akan menjadi seimbang dengan mediator hepatoprotektor (IL-6 dan IL-10) sehingga kadar enzim-enzim ini akan kembali normal di dalam darah.

f. Kesimpulan dan Saran :

Kandungan flavonoid, alkaloid, tanin dan fenol pada ekstrak etanol daun karika memiliki aktivitas antioksidan yang disinyalir berhubungan dengan aktivitas hepatoprotektif. Ekstrak daun karika pada dosis 60, 120, 240mg/kgBB berpengaruh terhadap pencegahan kenaikan kadar SGPT dan SGOT pada tikus yang diinduksi paracetamol dengan dosis 2g/kgBB.