

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sirsak Gunung

2.1.1 Morfologi



Sumber: <http://fjb.m.kaskus.co.id/product/512dc8cf5a2acf4b0c000005/biji-annona-montana>
Gambar 2.1. Sirsak gunung (*Annona montana*)

Sirsak gunung (*Annona montana*) mempunyai bentuk buah hampir bulat dan kulit buah berwarna hijau tua dengan duri pendek yang lunak. Daging buah berwarna kuning, beraroma khas dan kualitasnya rendah serta mempunyai banyak biji yang berwarna coklat muda dengan berat berkisar antara 0,51-0,64 gram (hasil observasi). Selama ini buah dari sirsak gunung tidak dimanfaatkan karena kualitas buahnya yang rendah (Indriyani, 2008).

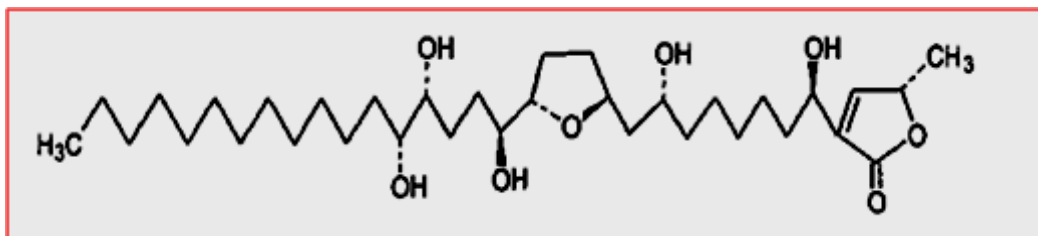
2.1.2 Klasifikasi Tanaman

Menurut hasil determinasi yang telah dilakukan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (*Indonesian institute of sciences*) Balai Konservasi

Tumbuhan Purwodadi (2017), klasifikasi dari tumbuhan sirsak gunung (*Annona montana*) adalah sebagai berikut:

Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Magnoliidae*
 Ordo : *Magnoliales*
 Family : *Annonaceae*
 Genus : *Annona*
 Species : *Annona montana*

2.1.3 Acetogenin



Gambar 2.2 Struktur Acetogenin
 Sumber : <https://ardra.biz/tag/nama-lain-sirsak/>

Acetogenin adalah senyawa sitotoksik dimana senyawa ini ialah senyawa polyketides dengan struktur 30–32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus *5-methyl-2-furanone*. Rantai furanone dalam gugus *hydrofuranone* pada C23 memiliki aktivitas sitotoksik. Senyawa acetogenin dapat mengalami penurunan pada suhu diatas 80°C dikarenakan teroksidasi. Acetogenin merupakan kumpulan senyawa aktif yang berada hampir pada setiap bagian tanaman sirsak (Li et al., 2008). *Annonaceous acetogenin* bekerja dengan

menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria (Prasetya, 2013).

Tidak kurang dari tujuh tipe acetogenin yang bisa diperoleh dari sirsak gunung. Ketujuh tipe tersebut adalah:

- Type 4 : Bis-epoxy acetogenins
- Type 6 : Trihydroxylated and dihydroxylated ketonic acetogenins
- Type 7 : Tetrahydroxylated and trihydroxylated ketonic acetogenins
- Type 8 : Polyhydroxylated and tetrahydroxylated ketonic acetogenins
- Type 10 : Mono-THF iso-acetogenins
- Type 11 : THF-Hydroxy acetogenins
- Type 17 : Non-adjacent THF-THP acetogenins

Acetogenin tipe ke-11 dan ke-17 merupakan dua tipe acetogenin yang belum ditemukan pada sirsak (*Annona muricata*).

Penelitian yang berjudul *Nine new cytotoxic monotetrahydrofuranic Annonaceous acetogenins from Annona montana* juga menginformasikan penemuan 9 jenis acetogenin baru dari sirsak gunung sehingga melengkapi acetogenin yang sudah dikenal. Dengan demikian ada sekitar 10-17 acetogenin yang mungkin bisa ditemukan dari sirsak gunung (*Annona montana*). Kesembilan acetogenins yang dimaksud adalah:

- Montalicens A
- Montalicens B
- Montalicens C
- Montalicens D
- Montalicens E

- Cis-annoreticiun
- Montalicin F
- Montalicin I
- Montalicin J

Salah satu khasiat acetogenin yang fenomenal adalah sebagai antianker. Acetogenin bersifat sitotoksik, yaitu menghambat transfer energy yang digunakan sel kanker. Kehebatan acetogenin dalam membunuh sel kanker ternyata 10.000 kali lebih kuat jika dibandingkan dengan *Adriamycin* (obat kemoterapi).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan (Depkes RI, 1995).

Menurut Material Medika (MMI, 1995), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori, yaitu:

1. Simplisia nabati.

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia.

2. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

3. Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelican (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia.

2.2.2 Pembuatan Simplisia

Tahap pembuatan simplisia meliputi :

1. Pengumpulan bahan

Dalam pengumpulan bahan, hal yang perlu diperhatikan adalah umur tanaman, bagian tanaman pada waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia sehingga tidak ikut terbawa pada proses selanjutnya yang akan memengaruhi hasil akhir.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Air yang digunakan sebaiknya adalah air mengalir yang bersumber dari air bersih, seperti air PAM, air sumur, atau mata air.

4. Perajangan

Perajangan tidak harus selalu dilakukan. Proses ini pada dasarnya dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan. Jika ukuran simplisia cukup kecil/tipis, proses ini dapat diabaikan.

5. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air sehingga menjamin mutu dalam penyimpanan, mencegah pertumbuhan jamur, dan mencegah proses atau reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu. Faktor yang penting dalam pengeringan adalah suhu, kelembapan, dan aliran udara (ventilasi). Sumber suhu dapat berasal dari sinar matahari, baik secara langsung maupun ditutupi dengan kain hitam, atau dapat pula berasal dari suhu buatan dengan menggunakan oven.

Pengeringan bagian tanaman yang mengandung minyak atsiri atau komponen lain yang termolabil hendaknya dilakukan pada suhu tidak terlalu tinggi dengan aliran udara berlengas rendah secara teratur. Simplisia yang mengandung alkaloida umumnya dikeringkan pada suhu kurang dari 70°C.

Dalam pengeringan, simplisia hendaknya jangan ditumpuk terlalu tebal agar proses penguapan dapat berlangsung dengan cepat dan tidak terjadi proses pembusukan. Suhu yang tidak terlalu tinggi sering kali menghasilkan warna simplisia yang lebih menarik.

6. Sortasi kering

Tujuan sortasi kering adalah memisahkan bahan-bahan asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kotoran lain, yang masih ada dan tertinggal di simplisia kering.

2.3 Ekstrak

2.3.1 Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang

tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas (Depkes RI, 1995).

Ekstaksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula kekebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstrasinya (Harbone,1987).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

2.3.2 Macam-macam Ekstraksi

2.3.2.1 Cara Dingin

2.3.2.1.1 Maserasi

1. Pengertian Maserasi

Maserasi istilah aslinya adalah Mecerasese (bahasa latin artinya merendam). Cara ini merupakan salah satu cara ekstaksi, dimana sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian.

2. Prinsip Kerja Maserasi

Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut. Langkah kerjanya adalah merendam simplisia dalam suatu wadah menggunakan pelarut penyari tertentu dalam beberapa hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dan di ambil beningannya. Metode maserasi umumnya menggunakan pelarut non air. Teorinya ketika simplisia yang akan dimaserasi direndam dalam pelarut yang terpilih, maka ketika direndam, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam penyari) sehingga penyari yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif.

3. Kelebihan Metode Maserasi :

- Unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman.
- Biayanya relatif rendah.
- Prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan

4. Kekurangan Metode Maserasi :

- Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja.
- Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari

2.3.2.1.2 Perkolasi

1. Pengertian Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi cara dingin yang menggunakan pelarut mengalir yang selalu baru. Perkolasi adalah suatu metode ekstraksi dengan

mengalirkan penyari melalui bahan yang telah dibasahi sehingga pelarut yang digunakan selalu baru.

2. Prinsip Kerja Perkolasi

Dimana serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.

3. Kelebihan Metode Perkolasi :

- Tidak terjadi kejenuhan.
- Pengalirannya meningkatkan difusi (dengan dialiri cairan penyari sehingga zat seperti terdorong untuk keluar dari sel)

4. Kekurangan Metode Perkolasi

- Memerlukan cairan penyari lebih banyak.
- Resiko tercemar mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka

2.3.2.2 Cara Panas

2.3.2.2.1 Refluks

1. Pengertian Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Kelebihan Metode Refluks adalah dapat digunakan mengekstraksi sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung.
3. Kekurangan Metode Refluks adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator.

2.3.2.2.2 Sokhletasi

1. Pengertian Sokhletasi

Sokhletasi adalah suatu pemisahan komponen yang terdapat dalam sampel padat dengan cara penyarian berulang-ulang dengan pelarut yang sama, sehingga semua komponen yang diinginkan dalam sampel terisolasi dengan sempurna.

2. Prinsip Kerja Sokhletasi

Prinsip kerjanya adalah cairan penyari diisikan pada labu, serbuk simplisia diisikan pada tabung dari kertas saring atau tabung yang berlubang-lubang dari gelas baja tahan karat atau bahan lain yang cocok. Cairan penyari dipanaskan hingga mendidih. Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak. Cairan turun ke labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Karena adanya sifon maka setelah cairan mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan kembali ke labu. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping.

3. Kelebihan Metode Sokhletasi

- Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat.
- Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak.
- Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari.
- Pemanasannya dapat diatur.

4. Kekurangan Metode Sokhletasi

- Larutan dipanaskan terus menerus, sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan kurang cocok. Ini dapat diperbaiki dengan menambahkan peralatan untuk mengurangi tekanan udara.

- Cairan penyari dididihkan terus menerus, sehingga cairan penyari yang baik harus murni atau campuran azeotrop.

2.3.2.2.3 Destilasi

Bahan yang mengandung minyak atsiri dapat diperoleh dengan metode penyaringan. Bahan untuk penyulingan biasanya diambil pada pagi hari secepat mungkin setelah embun menghilang.

Ada tiga metode penyulingan yang digunakan dalam industri minyak atsiri yaitu :

- Penyulingan dalam air (hidrodistillation).
- Penyulingan dengan air dan uap (hidro and steam distillation).
- Penyulingan dengan uap langsung (steam distillation)

3.3.2.2.3 Infundasi

Metode penyarian dengan cara menyari simplisia dalam air pada suhu 90o selama 15 menit penyarian dengan metode ini menghasilkan sari/ekstrak yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Ansel, 1989). Umumnya infuse selalu dibuat dari simplisia yang mempunyai jaringan lunak yang mengandung minyak atsiri dan zat-zat yang tidak tahan pemanasan lama.

2.3.3 Jenis Pelarut

2.3.3.1 Pelarut Polar

Memiliki tingkat kepolaran yang tinggi. Cocok untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang polar dari tanaman. Pelarut polar cenderung universal digunakan karena biasanya walaupun polar tetap dapat menyari senyawa-senyawa dengan

tingkat kepolaran lebih rendah. Salah satu contohnya adalah air, methanol, etanol, asam asetat.

2.3.3.2 Pelarut Semi Polar

Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah, dibanding dengan pelarut polar. Pelarut ini baik untuk mendapatkan senyawa-senyawa semi polar dari tumbuhan. Contoh pelarut ini adalah acetone, etil asetat, kloroform.

2.3.3.3 Pelarut Non Polar

Pelarut non polar hampir sama sekali tidak polar. Pelarut ini baik untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar. Senyawa ini baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak, contohnya adalah n-heksan dan eter.

Pelarut merupakan zat yang dipakai sebagai medium untuk melarutkan zat lain. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dan tergantung pada senyawa yang ditargetkan.

Berbagai pelarut yang biasa digunakan dalam prosedur ekstraksi adalah sebagai berikut (Rahmadani, 2015).

1. Air

Pada umumnya air merupakan pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi tumbuhan sebagai aktivitas antimikroba karena dapat melarutkan senyawa flavonoid. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena mudah didapat, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan alami. Namun, pelarut air juga memiliki kekurangan yakni tidak selektif, sari dapat ditumbuhi kapang dan kuman, serta cepat rusak.

2. Etanol

Etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air karena adanya jumlah polifenol yang lebih tinggi daripada air. Etanol lebih mudah untuk menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tumbuhan.

3. Kloroform

Terpenoid lakton telah diperoleh dengan ekstraksi berturut-turut menggunakan heksana, kloroform, dan metanol dengan konsentrasi aktivitas tertinggi terdapat dalam fraksi kloroform. Kadang-kadang tanin dan terpenoid ditemukan dalam fase air, tetapi lebih sering diperoleh dengan pelarut semipolar.

4. n-Heksana

n-Heksana memiliki karakteristik sangat tidak polar dan memiliki bau khas yang dapat menyebabkan hilang kesadaran (pingsan). n-Heksana biasanya digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi minyak nabati.

5. Aseton

Aseton dapat melarutkan komponen senyawa hidrofilik dan lipofilik dari tumbuhan. Keuntungan menggunakan pelarut aseton yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap, dan memiliki toksisitas rendah serta dapat mengekstrak senyawa golongan fenolik.

6. Etil Asetat

Etil asetat merupakan jenis penyari yang bersifat semi polar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid.

2.4 Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan suatu zat kimia dalam menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan atau saat berada dalam lingkungan. Secara umum toksisitas dibedakan menjadi toksisitas akut, toksisitas subkronis dan toksisitas kronis. Uji toksisitas akut adalah efek berbahaya yang timbul setelah pemberian suatu zat atau kombinasi zat dalam dosis tunggal atau berulang selama 24 jam. Uji toksisitas subkronis adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama kurang dari tiga bulan. Sedangkan uji toksisitas kronis adalah uji yang dilakukan dengan memberikan zat kimia terhadap hewan coba secara berulang-ulang selama masih hidup hewan coba atau disebagian besar masa hidup hewan coba (Priyanto, 2009). Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui efek toksik dan menentukan batas keamanan suatu senyawa yang terdapat dalam zat-zat kimia, termasuk dalam tumbuh-tumbuhan (Widyastuti, 2008).

Setiap zat kimia baru harus terlebih dahulu dilakukan penelitian mengenai sifat-sifat ketoksikannya sebelum diperbolehkan digunakan secara luas. Oleh karena itu dalam proses pemanfaatan dan pengembangan obat tradisional bersumber hayati, harus dilakukan beberapa langkah pengujian sebelum digunakan dalam pelayanan kesehatan. Setelah diketahui obat alam tersebut berkhasiat secara empirik maka dilakukan uji praklinik untuk menentukan keamanannya melalui uji toksisitas dan menentukan khasiat melalui uji farmakodinamik serta uji klinik pada orang sakit atau orang sehat. Setelah terbukti manfaat dan keamanannya, maka obat tradisional tersebut dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan (Sukardiman *et al.*, 2004; Oktora, 2006).

Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis. Besarnya toksisitas tergantung dari jumlah kematian larva setelah pemberian zat yang mengandung senyawa antikanker. Ekstrak dikatakan toksik jika harga $LC_{50} < 1000$ ppm, sedangkan untuk senyawa murni jika $LC_{50} < 200$ ppm berpotensi sebagai antikanker, $LC_{50} > 30-200$ ppm berpotensi sebagai antibakteri, sedangkan $LC_{50} > 200$ ppm-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida (Rizqillah, 2013).

Dosis merupakan jumlah racun yang masuk ke dalam tubuh. Besar kecilnya dosis menentukan efek secara biologi (Verma, 2008). Belakangan ini telah banyak pengujian tentang toksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antineoplastik. Metode pengujian tersebut antara lain *Brine shrimp lethality test*, *Lemna minor Bioassay*, *Crown Gall Potato Disc Bioassay* dan pengujian pada sel telur bulu babi (McLaughlin, 1991).

1. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Dengan berdasarkan pada pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa antitumor adalah sitotoksik. Maka BSLT dapat digunakan sebagai uji pendahuluan senyawa anti tumor. Senyawa yang mempunyai kemampuan membunuh larva udang diperkirakan juga mempunyai kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel (McLaughlin, 1991).

Pengujian ini adalah pengujian letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktifitas tumor, tetapi merupakan indikator toksisitas yang baik dan menunjukkan korelasi yang kuat dengan pengujian anti tumor yang lainnya seperti uji sitotoksitas dan uji leukimia tikus. Karena kesederhanaan prosedur

pengerjaan, biaya yang rendah serta kolerasinya terhadap pengujian toksisitas dan pengujian anti tumor menjadikan BSLT sebagai uji hayati pendahuluan untuk aktivitas anti tumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (Mclaughlin, 1991).

2. *Lemna Minor Bioassay*

Digunakan sebagai uji pendahuluan terhadap bahan yang dapat menghambat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dengan pengujian ini dapat diamati bahwa senyawa anti tumor alami juga dapat menghambat pertumbuhan lemna, walaupun kolerasinya dengan pengujian anti tumor lainnya kurang baik. Oleh karena itu pengujian ini lebih diarahkan untuk mencari herbisida dan stimulan pertumbuhan tanaman baru (Mclaughlin, 1991).

3. *Crown-Gall Potato Disc Bioassay*

Metode pengujian toksisitas yang relatif cepat pengerjaannya, tidak mahal, tidak memerlukan hewan percobaan serta menunjukkan korelasi yang sangat baik dengan uji anti tumor lainnya. *Crown-Gall* merupakan suatu penyakit neoplastik pada tumbuhan yang disebabkan bakteri gram negatif *Agrobacterium tumefaciens* yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan jaringan tumor secara otonom dan tidak dipengaruhi oleh mekanisme kontrol normal tumbuhan. Pengujian dilakukan dengan mengukur kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan tumor *Crown-Gall* pada umbi kentang yang diinfeksi dengan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* (Mclaughlin, 1991).

4. Pengujian pembelahan sel telur bulu babi dilakukan dengan mengamati penghambatan pembelahan sel telur oleh suatu senyawa, dimana secara normal pembelahan sel telur tersebut terjadi dengan cepat. Keuntungan dari metode ini

adalah pengerjaannya yang relatif cepat, tidak memerlukan kultur sel serta peralatan dengan metode khusus seperti sel kanker, embrio bulu babi juga mempunyai sensitifitas dan selektif terhadap obat (McLaughlin, 1991).

2.4.1 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui ketoksikan suatu ekstrak ataupun senyawa bahan alam (Sukardiman, 2004). Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (McLaughlin *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2007). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya nilai LC_{50} selama 24 jam. Data tersebut dianalisis menggunakan probit analisis untuk mengetahui nilai LC_{50} . Jika nilai LC_{50} masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Sunarni *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 1991; Sukardiman, 2004). Metode BSLT memiliki keuntungan, antara lain cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan teknik aseptik), untuk melakukannya tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit dalam pengujian.

Nilai LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Melalui metode tersebut, pelaksanaan skrining awal suatu senyawa aktif akan berlangsung relatif cepat dengan biaya yang relatif murah. Hal ini dikarenakan hanya ekstrak atau senyawa yang memiliki aktivitas antikanker

berdasarkan metode BSLT tersebut yang selanjutnya dapat diyakinkan efek antikankernya terhadap biakan sel kanker (Dwiatmaka, 2001; Mukhtar, 2007).

2.5 Larva *Artemia salina*

Artemia salina atau sering disebut *brine shrimp* adalah sejenis udang yang sudah dikenal cukup lama dan oleh Linnaeus pada tahun 1778 yang diberi nama *Cancer salinus*, kemudian oleh Leach diubah menjadi *Artemia salina* pada tahun 1819. *Artemia salina* hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil). Suhu yang berkisar antara 25-300 C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, dan pH antara 7,3–8,4. Sebagai plankton, *Artemia salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap musuh-musuhnya, karena tidak mempunyai cara maupun alat untuk mempertahankan diri. Satu-satunya kondisi yang menguntungkan dari alam adalah lingkungan hidup yang berkadar garam tinggi, karena pada kondisi tersebut pemangsanya pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1995). *Artemia salina* merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *Artemia salina* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). Bentuk *Artemia salina* secara morfologi dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2.3 Larva *Artemia salina*

2.5.1 Klasifikasi

- Kingdom : *Animalia*
- Phylum : *Arthropoda*
- Class : *Crustacea*
- Subclass : *Branchiopoda*
- Ordo : *Anostraca*
- Family : *Artemiidae*
- Genus : *Artemia*
- Spesies : *Artemia salina* Leach. (Emslie, 2003)

2.5.2 Deskripsi

Artemia salina dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. Tubuhnya memanjang terdiri sedikitnya 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. *Artemia salina* dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada

antennanya (Emslie, 2003). Telur *Artemia salina* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (Opinion, 2008).

2.5.3 Perkembangan dan Siklus Hidup *Artemia salina*

Artemia salina dibedakan menjadi dua golongan berdasarkan cara berkembangbiaknya, antara lain perkembangbiakan secara biseksual dan partenogenetik. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada jenis *Artemia salina* ovovivipar, anakan yang keluar dari induknya sudah berupa arak atau burayak yang dinamakan nauplis, sehingga sudah langsung dapat hidup sebagai *Artemia salina* muda. Sedangkan pada cara ovipar, yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan *siste*. Proses untuk menjadi nauplis masih harus melalui proses penetasan terlebih dahulu. Kondisi ovovivipar biasanya terjadi bila keadaan lingkungan cukup baik, dengan kadar garam kurang dari 150 per ml dan kandungan oksigennya cukup. Oviparitas terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur ini memang dipersiapkan untuk menghadapi keadaan lingkungan yang buruk, bahkan kering. Bila keadaan lingkungan baik kembali, telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam (Kanwar, 2007).

Telur *Artemia* biasanya disebut dengan istilah *siste*, yaitu telur yang telah berkembang lebih lanjut menjadi embrio dan kemudian diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Oleh karena itu, *siste* ini sangat tahan menghadapi keadaan

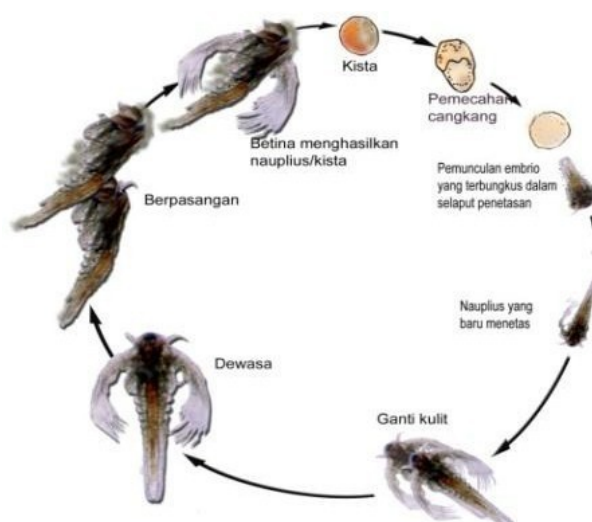
lingkungan yang buruk. Apabila *siste Artemia* direndam dalam air laut bersuhu 25°C, maka akan menetas dalam waktu 24-48 jam. Dari dalam cangkangnya keluarlah larva yang juga dikenal dengan istilah nauplius. Dalam perkembangan selanjutnya, larva akan mengalami 15 kali perubahan bentuk atau metamorphosis. Setiap kali larva mengalami perubahan bentuk merupakan satu tingkatan. Larva tingkat I dinamakan instar I, tingkat II dinamakan instar II, tingkat III dinamakan instar III, demikian seterusnya sampai instar XV. Setelah itu berubahlah menjadi artemia dewasa. Larva yang baru saja menetas masih dalam tingkatan instar I. Warnanya kemerah-merahan karena masih banyak mengandung makanan cadangan, oleh karena itu mereka masih belum perlu makanan. Anggota badannya sendiri terdiri dari sepasang sungut kecil (*Antenule* atau Antena I) dan sepasang sungut besar (*Antena* atau Antena II). Dibagian mulut besarnya terdapat sepasang *mandibulata* (rahang) yang kecil, sedangkan dibagian *ventral* (perut) terdapat *labrum* (Mudjiman, 1998).

Sekitar 24 jam setelah menetas, larva berubah menjadi instar II. Pada tingkatan instar II, larva sudah mulai mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Oleh karena itu, larva tersebut mulai mencari makanan dengan menggerakkan antena-IInya yang juga berguna sebagai alat gerak. Bersamaan dengan itu juga cadangan makanannya sudah mulai habis (Mudjiman, 1995).

Kemudian pada tingkat selanjutnya, mulai terbentuklah sepasang mata majemuk, selain itu berangsur-angsur juga tumbuh tunas-tunas kakinya. Setelah menjadi instar XV, kakinya pun sudah lengkap sebanyak 11 pasang, maka berakhirilah masa larvanya dan berubahlan larva tersebut menjadi artemia dewasa (Mudjiman, 1995).

Artemia salina yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali, dihasilkan 50-300 telur atau nauplius. Nauplis akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

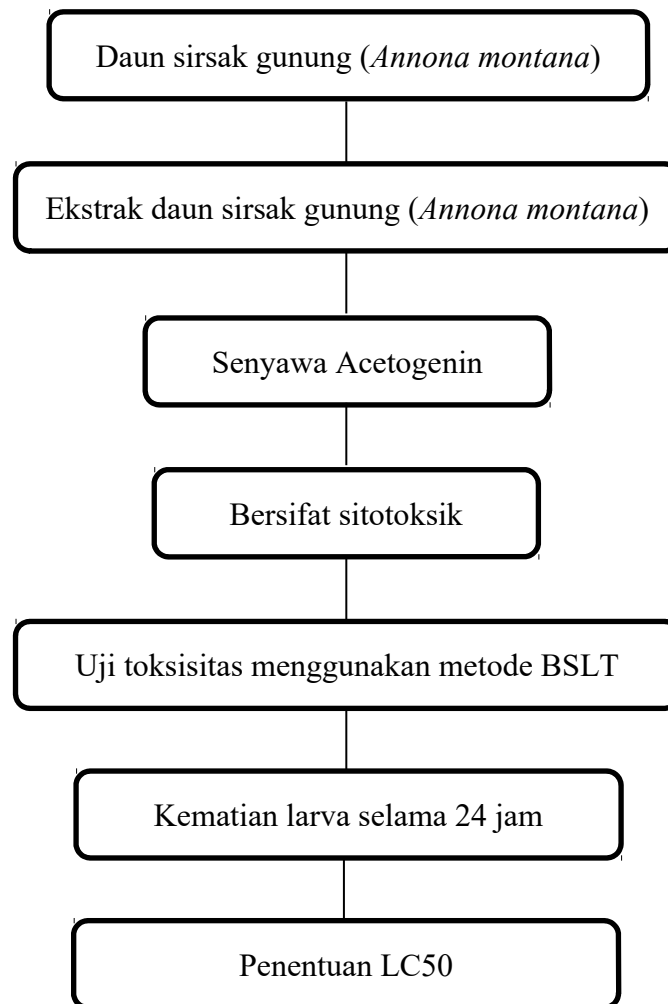
Artemia salina dapat diperjualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 mikron. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasi air yang bersalinitas 5-70 per mil. Ada beberapa tahapan pada proses penetasan *Artemia salina* ini yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecah cangkang dan disusul tahap payung yang terjadi beberapa saat sebelum nauplius keluar dari cangkang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Siklus hidup *Artemia salina* dapat dilihat pada Gambar 2.9 berikut.



Gambar 2.4 Siklus Hidup Larva *Artemia salina*

Sumber: <http://gintisa.blogspot.com/2018/09/siklus-hidup-dan-perkembangbiakan.html>

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Bagan Kerangka Konsep