

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Kulit Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

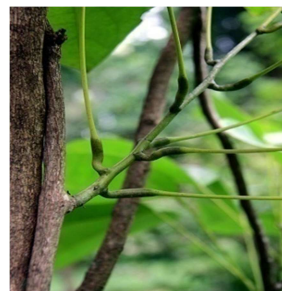
2.1.1 Klasifikasi (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Family	: Menispermaceae
Genus	: <i>Arcangelisia</i>
Species	: <i>Arcangelisia flava</i> L. Merr

(Lab Keanekaragaman Hayati Unipa , 2019)

2.1.2 Nama Lokal (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Tumbuhan batang kayu kuning di Papua dikenal dengan sebutan kayu kuning dan dikenal juga dengan nama peron (Jawa), ayu lalahu (Gorontalo), gumi modoku (Halmahera), akar kuning (Kalimantan), uwas (Minahasa), kukunyit (Riau), atau aruey ki koneng (Sunda) (Supriadi, dkk, 2001).



Gambar 2.1 Kulit Batang Kayu Kuning (Toteng, 2018)

2.1.3 Deskripsi (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) merupakan tanaman merambat dari Family Menispermaceae yang penyebarannya sudah terbatas. Batang tumbuhan ini bulat berdiameter antara 2-7 cm, panjangnya dapat mencapai 20 m. Bagian dalam batang berwarna kuning dan rasanya pahit. Bentuk daun bulat telur, tebal kaku, permukaan daun adaksial mengkilap dan tangkai daun panjang. Bunga berbentuk malai, berumah dua, hitam kecil (Supriadi, dkk, 2001).

2.1.4 Kandungan Kulit Batang Kayu Kuning

Tumbuhan kulit batang kayu kuning diketahui mengandung senyawa berberin klorida, 8-hidrosiberberin, jatrorrhizin, limasina, palmatin yang semuanya termasuk senyawa alkaloid. Adapun terdapat golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Secara empiris kulit batang kayu kuning dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit oleh masyarakat papua (Siwon, 1982).

2.2 Tinjauan tentang Simplisia dan Ekstraksi

2.2.1 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (Dep Kes RI, 2000).

Simplisia merupakan material awal pembuatan sediaan obat, umumnya digunakan tumbuhan segar, maupun tumbuhan, bagian tumbuhan yang dikeringkan serta produk mentah dari tumbuhan (harsa, getah). Namun dalam pengolahannya sering kali terjadi perusakan pada simplisia, proses perusakan umumnya berkaitan dengan penurunan kandungan bahan aktif. Reaksi perusakan simplisia

dapat melalui proses enzimatis, proses hidrolitik serta reaksi oksidasi dan reduksi.

2.2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Dep Kes RI, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Dep Kes RI, 2000).

2.2.3 Ekstraksi Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik dilakukan dengan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi dilakukan dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai penyarian sempurna, umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) yang terus menerus sampai ekstrak yang diinginkan habis tersari. Tahap pengembangan bahan dan maserasi antara dilakukan dengan maserasi serbuk menggunakan cairan penyari sekurang-kurangnya 3 jam, hal ini penting terutama untuk serbuk yang keras dan bahan yang mudah mengembang.

2.2.4 Ekstraksi Cara Panas

a. Refluks

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

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan yaitu pada temperatur 40-50°C.

d. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Dep Kes RI, 2000).

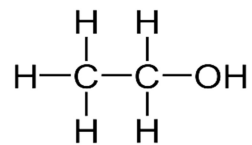
2.3 Tinjauan tentang Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Fraksinasi terdiri dari dua macam yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair. Fraksinasi padat-cair dapat dikerjakan dengan alat sokhlet, pada fraksinasi ini terjadi keseimbangan di antara fasa padat dan fasa cair (pelarut). Fraksinasi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Alat yang digunakan adalah alat yang sederhana yaitu corong pisah. Prinsip fraksinasi menggunakan pelarut didasarkan pada distribusi zat terlarut dan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Harborne, 2006).

2.4 Tinjauan tentang Pelarut

Menurut Guenther, (1987) pelarut sangat mempengaruhi proses ekstraksi. Pelarut minyak atau lemak yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi antara lain:

1. Etanol

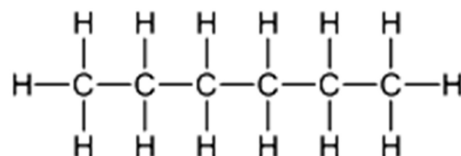


Gambar 2.2 Struktur Etil Alkohol/Etanol

Nama Resmi	: Etil Alkohol/Etanol
Nama Lain	: Etil Alkohol; Hidroksietana; Alkohol; Etil Hidrat
Berat Molekul	: 46,07 g/mol
Rumus Molekul	: C ₂ H ₅ OH
Kegunaan	: Sebagai Pelarut

Sering digunakan sebagai pelarut dalam laboratorium karena mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol merupakan cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna; bau khas menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu 78°C, mudah terbakar. Etanol bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik (Kemenkes RI, 2014).

2. n-heksana

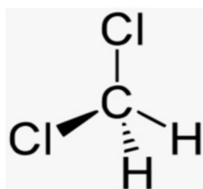


Gambar 2.3 Struktur n-heksana

Nama	: n-heksana
Berat molekul	: 86.18 g/mol
Rumus molekul	: C ₆ H ₁₄
Pemerian	: Cairan tak berwarna, dapat dibakar
Kegunaan	: Pelarut organik

n-heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C₆H₁₄. Awalan heks-merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran-ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Pelarut ini memiliki titik didih antara 65-70°C (Guenther, 1987).

3. Diklorometana



Gambar 2.4 Diklorometana

Nama resmi	: Diklorometana
Nama lain	: Metilen klorida, metilen diklorida, narkotil
Berat molekul	: 84,93 g/mol
Rumus molekul	: CH ₂ CL ₂
Pemerian	: Cairan tidak berwarna
Kelarutan	: Dapat larut dalam etanol
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat

Diklorometana merupakan senyawa tak berwarna dan beraroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak larut sempurna dengan air tapi dapat larut dengan pelarut organik lainnya (Guenther, 1987).

2.5 Tinjauan tentang Hewan Uji (*Artemia salina* Leach)

Artemia salina Leach merupakan kelompok udang-udangan (*Crustaceae*) dari phylum Arthropoda, terdapat sekitar 50 strain (jenis). *Artemia* berkerabat dekat dengan zooplankton lain seperti *Copepode* dan *Daphnia* (kutu air). *Artemia salina* Leach hidup di danau-danau dengan kadar garam yang tinggi (berair asin) yang ada di seluruh dunia (Asia, China, Irak, Iran, Israel, Jepang, turki, Amerika: Great Salt Lake, Kanada, Australia) (Adi, 2006).

Ukuran dewasa *Artemia salina* Leach berkisar dari 10–20 mm, merupakan pemakan segalanya yang berukuran partikel dengan cara menyaringnya (*filter feeder*). Cara berkembang biak (reproduksi) dengan ovipar (bertelur) atau ovovivipar, yaitu pada ovipar telur menjadi sista. Telur *Artemia salina* Leach terbungkus korion yang bersifat dorman (Adi, 2006).

2.5.1 Klasifikasi *Artemia salina* Leach

Berikut ini adalah klasifikasi dari *Artemia salina* Leach menurut (Bougis, 1979) :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Crustacea
Ordo	: Anostraca
Family	: Artemiidae

Genus : *Artemia*

Spesies : *Artemia salina* Leach

2.5.2 Morfologi dan Siklus Hidup

Siklus hidup *Artemia salina* Leach bisa dimulai dari saat menetasnya telur. Setelah 15-20 jam pada suhu 25°C telur akan menetas menjadi embrio. Dalam waktu beberapa jam embrio ini masih akan tetap menempel pada kulit telur. Pada fase ini embrio akan menyelesaikan perkembangannya kemudian berubah menjadi nauplius yang sudah bisa berenang bebas (Gambar 2.5).

Pada awalnya nauplius akan berwarna orange kecoklatan akibat masih mengandung kuning telur. *Artemia salina* Leach yang baru menetas tidak makan, karena mulut dan anusnya belum terbentuk dengan sempurna. Setelah 12 jam menetas *Artemia salina* Leach akan berganti kulit dan memasuki tahap larva kedua. Dalam fase ini mereka akan mulai makan, dengan pakan berupa mikro alga, bakteri, dan detritus organik lainnya. Pada dasarnya *Artemia salina* Leach pada fase ini tidak akan peduli (tidak pemilih) jenis pakan yang dikonsumsi selama bahan tersebut tersedia di air dengan ukuran yang sesuai. Nauplius akan berganti kulit sebanyak 15 kali sebelum menjadi dewasa dalam waktu 8 hari. *Artemia salina* Leach dewasa rata-rata berukuran sekitar 8 mm, meskipun demikian pada kondisi yang tepat mereka dapat mencapai ukuran sampai dengan 20 mm. Pada kondisi demikian biomasnya akan mencapai 500 kali dibandingkan biomas pada fase nauplius.

Dalam tingkat salinitas rendah dan dengan pakan yang optimal betina *Artemia salina* Leach bisa menghasilkan nauplius sebanyak 75 ekor perhari. Selama masa hidupnya (sekitar 50 hari) mereka bisa memproduksi naupli rata-rata sebanyak 10-11 kali. Dalam kondisi super ideal, *Artemia salina* Leach dewasa bisa hidup selama 3 bulan dan memproduksi nauplius atau sista sebanyak 300 ekor (butir per 4 hari). Sista akan terbentuk apabila lingkungannya berubah menjadi sangat salin dan bahan pakan sangat kurang dengan fluktuasi oksigen

sangat tinggi antara siang dan malam hari. Sista yang terbentuk ini dalam proses pengeringan (*dehydration*) yang tadinya berbentuk bulat akan berubah menjadi bentuk bola pingpong penyok (Adi, 2006).



Gambar 2.5 Larva udang *Artemia salina* Leach (Adi, 2006)

Artemia salina Leach dewasa toleran terhadap kisaran suhu -18°C hingga 40°C . Sedangkan temperatur optimal untuk penetasan sista dan pertumbuhan adalah $25-30^{\circ}\text{C}$. Meskipun demikian hal ini akan ditentukan oleh strain masing-masing. *Artemia salina* Leach dapat hidup di dalam air tawar selama 5 jam sebelum akhirnya mati.

Variabel lain yang penting adalah pH, cahaya dan oksigen. Kisaran pH 8-9 merupakan kisaran yang paling baik untuk pertumbuhan *Artemia salina* Leach, sedangkan pH di bawah 5 atau lebih tinggi dari 10 dapat membunuh *Artemia salina* Leach. Cahaya minimal diperlukan dalam proses penetasan dan akan sangat menguntungkan bagi pertumbuhan mereka. Lampu standar oksigen harus dijaga dengan baik untuk pertumbuhan *Artemia salina* Leach.

Dengan suplai oksigen yang baik, *Artemia salina* Leach akan berwarna kuning atau merah jambu. Warna ini bisa berubah menjadi kehijauan apabila *Artemia salina* Leach banyak mengonsumsi mikro alga. Pada kondisi yang ideal seperti ini, *Artemia salina* Leach akan tumbuh dan berkembang biak dengan cepat. Apabila kadar oksigen dalam air rendah, dan air banyak mengandung bahan organik, atau apabila salinitas meningkat. *Artemia salina* Leach akan memakan bakteri, detritus, dan sel-sel kamir (*yeast*). Pada kondisi demikian mereka akan memproduksi hemoglobin sehingga tampak berwarna

merah atau oranye. Apabila keadaan ini terus berlanjut mereka akan mulai memproduksi sista (Adi, 2006).

2.6 Tinjauan tentang BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji praklinis toksisitas terhadap suatu ekstrak tumbuhan obat merupakan pengujian awal untuk memprediksi tingkat keamanannya, kemudian dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya. Metode uji toksisitas dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Salah satu metode toksisitas *in vitro* yang sering digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Mardanny, dkk, 2016).

Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker dan juga dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan. Untuk mengetahui suatu senyawa memiliki potensi sebagai anti tumor dan antikanker maka perlu dilakukan penelitian awal, salah satunya melalui uji sitotoksik menggunakan metode BSLT (Tianandari & Rasidah, 2017).

Metode yang digunakan untuk uji pendahuluan senyawa yang bersifat sitotoksik adalah BSLT. Dalam metode ini digunakan larva *Artemia salina* Leach untuk menguji toksisitas dari ekstrak. Korelasi antara uji toksisitas akut ini dengan uji sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (ppm). Beberapa kelebihan dari uji bioaktivitas dengan BSLT menggunakan larva udang adalah cepat waktu ujinya, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel, hasilnya representatif dan dapat dipercaya. Hasil uji BSLT juga diketahui merupakan suatu metode penapisan untuk penyarian senyawa antikanker dari tanaman. Artinya bahwa semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman secara BSLT, yang diwakili dengan nilai LC_{50} yang semakin kecil, maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker (Meyer, dkk, 1982).

Toksisitas senyawa aktif dalam ekstrak tumbuhan ditentukan berdasarkan nilai LC_{50} pada hewan uji *Artemia salina* Leach. LC_{50} merupakan konsentrasi senyawa yang mematikan 50% dari populasi hewan uji. Data mortalitas larva *Artemia salina* Leach, terhadap ekstrak selanjutnya diproses melalui Microsoft Excel untuk memperoleh nilai LC_{50} dengan selang kepercayaan 95%.