**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

* 1. **Uraian Tanaman**

 Uraian tumbuhan meliputi sistematika tanaman, morfologi tanaman, nama daerah, khasiat tumbuhan dan kandungan kimia.

* + 1. **Sistematika Tanaman**

 Sistematika Tanaman Bawang putih menurut Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Monocotyledoneae

Ordo :Asparagales

Famili : Amaryllidaceae

Genus : Allium

Spesies : *Allium sativum* L.

Nama Lokal : Bawang Putih Tunggal



**Gambar 2.1** Tanaman Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum)*

* + 1. **Morfologi Tanaman Bawang Putih Tunggal**

 Bawang putih tunggal (*Allium sativum* L.) merupakan salah satu jenis bawang putih yang terbentuk tidak sengaja karena lingkungan penanaman yang tidak cocok. Bawang putih tunggal dipercaya memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan sebagai herbal medicine (Hernawan dan Setyawan, 2003). Pada awalnya, bawang ini ditemukan di daerah Sarangan, Magetan, Jawa Timur yang terletak di kaki Gunung Lawu dengan ketinggian 1.500 mdpl dan rata-rata suhu 18-25°C. Namun, karena dipercaya memiliki khasiat yang baik, bawang lanang dibudidayakan oleh masyarakat, terutama di daerah dataran tinggi (Priskila, 2008).

Bawang tunggal merupakan bawang putih yang hanya memiliki satu siung saja (*single bulb garlic*). Umbi dari bawang tunggal tidak menempel dengan biji bawang lainnya. Hal ini dikarenakan gagalnya pembentukan tunas utama dan menekan pembentukan tunas-tunas bakal siung. Daun yang biasanya membungkus siung-siung hanya mampu membungkus umbi utuh sehingga kulit umbi tunggal lebih tebal daripada kulit umbi yang bersiung. Terbentuknya bawang tunggal disebabkan karena tumbuh dengan hanya memiliki sedikit cadangan makanan untuk tumbuh secara normal. Maka dari itu, umbi akan menekan pembentukan umbi lain baru agar mendapat asupan nutrisi yang cukup. Selain itu, karena terbatasnya cadangan makanan menyebabkan ukuran umbi tidak bisa besar, yaitu kurang lebih sebesar kelereng saja ketika dipanen (Syamsiah dan Tajudin, 2003).

Pembentukan umbi tunggal pada bawang menyebabkan tingginya kandungan senyawa antioksidan seperti senyawa fenolik, apabila dibandingkan dengan bawang putih biasa (Duwairoh et al., 2018). Hal ini dikarenakan pada bawang tungal dihasilkan senyawa organosulfur dan antioksidan yang hanya terkumpul pada satu siung saja, sedangkan pada bawang putih biasa kandungan senyawa organosulfur dan antioksidannya terbagi ke beberapa siung-siung yang tebentuk (Utami dan Mardiana, 2013).

Secara morfologis, tanaman bawang putih tunggal memiliki bentuk bulat, dan warnanya jauh lebih putih dibandingkan dengan bawang putih biasa. Tanaman bawang tunggal memiliki tinggi mencapai 30-60 cm. bagian-bagian tanaman ini meliputi akar, cakram (yang befungsi sebagai batang tidak sempurna), umbi, dan daun. Ketika umbi bawang putih biasa dapat mencapai ukuran 3,8-7,6 cm, bawang tunggal hanya mampu mencapai ukuran kurang lebih 3 cm saja (Syamsiah dan Tajudin, 2003).

* + 1. **Khasiat Tanaman**

 Zat alisin pada tanaman bawang putih tunggal mempunyai aktivitas antimikrobial yang baik dalam mencegah virus, bakteri, fungi, dan parasit (Bhandari, 2012). Selain itu, Allisin juga berperan menurunkan kolesterol, sebagai anti koagulasi darah, anti hipertensi, anti kanker, serta antioksidan (Hasian, 2015).

 Menurut Isnawan (2013), senyawa Dialil Sulfide (DAS) memiliki sifat yang baik untuk sirkulasi darah, membantu menurunkan tingkat kolesterol buruk, dan meningkatkan kekebalan tubuh. Selain itu juga terdapat senyawa Ajoene yang berperan sebagai anti koagulan atau pengencer darah yang dapat menghambat pembekuan darah dan *atherosclerosis* (Block, 1985).

 Secara klinis, bawang putih tungal telah dievaluasi manfaatnya dalam berbagai hal. Termasuk sebagai pengobatan untuk hipertensi, hiperkolesterolemia, diabetes, rheumatoid arthritis, demam, menghambat tumbuhnya tumor, hepatoprotektor, hingga antikanker. Bawang putih dan bawang lanang juga memiliki potensi sebagai agen antibakteri, antihipertensi, dan antitrombotik (Majewski, 2014).

* + 1. **Kandungan Kimia Bawang Putih Tunggal**

 Bawang putih memiliki setidaknya 33 komponen sulfur, beberapa enzim, 17 asam amino dan banyak mineral, contohnya selenium. Bawang putih memiliki komponen sulfur yang lebih tinggi dibandingkan dengan spesies bawang lainnya. Komponen sulfur inilah yang memberikan bau khas dan berbagai efek obat dari bawang putih (Londhe, 2011). Senyawa organosulfur ini dibuktikan dengan adanya bau yang menyengat pada bawang. Pada bawang putih tunggal yang masih utuh, tedapat dua senyawa oganosulfur utama yaitu, asam amino bersifat polar γ*-glutamyl-S-allyl-L- cysteines* dan Aliin (*S-allyl-L-cysteines sulfoksida*) yang bersifat volatil. Kedua senyawa ini berperan sebagai prekursor bagi beberapa senyawa lainnya (Gorji et al,2013).



**Gambar 2.2** Struktur Kimia *γ-glutamyl-S-allyl-L-cysteines* (Rosita, 2016)



**Gambar 2.3** Struktur kimia Kimia *Alliin* (Rosita, 2016)

Senyawa ini dibentuk dari jalur biosintesis pada asam amino. Dari γ*- glutamyl-S-allyl-L-cysteines*, reaksi enzimatis yang terjadi akan menghasilkan banyak senyawa turunan, melalui dua cabang reaksi, yaitu jalur pembentukan *Thiosulfinat* dan *S-Allyl-cysteine* (SAC). Dari jalur pembentukan *Thiosulfinate* iniakan dihasilkan senyawa Allisin. Selanjutnya dari jalur ini pula akan dibentuk kelompok Allil Sulfide, Vinildithiin, Ajoene, dan senyawa sulfur lainnya. Proses reaksi pemecahan γ*-glutamyl-S-allyl-L-cysteines* berlangsung dengan bantuan enzim γ*-glutamyl- transpeptidase* dan γ*-glutamyl-peptidase oksidase,* serta menghasilkan Aliin (Song dan Milner, 2001).



**Gambar 2.4** Jalur Pemecahan *γ-glutamyl-S-allyl-L-cysteines*

(Rosita, 2016)

* 1. **Bawang Hitam**

 Bawang hitam merupakan bawang putih segar *(Allium sativum* L*.)* yang telah dipanaskan dalam beberapa waktu dengan suhu tinggi pada kadar kelembapan yang tinggi (Kimura et al., 2017). Adanya bawang hitam dikarenakan penggunaan bawang putih sebagai bahan obat kurang diminati, karena adanya senyawa allicin yang memberi ciri khas bau pada bawang putih dan menimbulkan rasa getir. Oleh karena itu, dalam beberapa tahun terakhir berbagai metode pengolahan seperti perlakuan pemanasan pada bawang putih telah dilakukan untuk menghilangkan bau dan rasa pada bawang putih. Metode pemanasan dipilih karena dalam metode pengolahannya relatif mudah. Perlakuan panas dan pemanasan pada bawang putih menyebabkan terjadinya reaksi pencokelatan non-enzimatik yang terkait dengan pembentukan senyawa dengan sifat antioksidan yang kuat. Proses pemanasan dapat menghambat aktivitas enzim alliinase pada suhu di atas 60 °C (enzim alliinase inaktif) (Hernawan & Setyawan, 2003). Bawang hitam menjadi salah satu suplemen herbal yang saat ini banyak dikembangkan sebagai antioksidan. Bawang hitam berasal dari bawang putih mentah yang dipanaskan pada suhu 70-80°C. Proses ini memakan waktu 1-3 bulan dengan cara dimasukkan ke mangkok stainless steel dan dibungkus alumunium foil atau dipanaskan pada *magic jar*. Proses pemanasan ini menginduksi banyak reaksi kimia pada bawang putih, seperti browning enzimatik dan reaksi Maillard yang menyebabkan warnanya berubah dari putih dan kuning menjadi coklat gelap (Kang, 2016).

 Perubahan kandungan senyawa aktif pada bawang hitam antara lain Sallylcysteine (SAC), vitamin, asam fenolik, dan senyawa flavanoid terjadi pada saat proses pemanasan. Pada proses pemanasan senyawa antioksidan alicin diubah menjadi komponen bioaktif lebih stabil yaitu S-allylcysteine (SAC). Jumlah SAC yang termasuk pada senyawa sulfur bawang hitam sebanyak lima sampai tujuh kali lebih tinggi dari pada bawang putih (Yudhayanti et al., 2020). Bawang hitam memiliki kandungan tinggi pada polisakarida, protein, senyawa fenolik dan senyawa sulfur. Akibat proses pemanasan polifenol meningkat enam kali lipat dibandingkan dengan kandungan polifenol yang ada dibawang putih, serta adanya peningkatan secara signifikan dalam jumlah flavonoid (Lu et al., 2017).

 Flavonoid berperan untuk menangkap radikal bebas, seperti anion superoksida, radikal peroksil, hidroksil, serta radikal alkohoksil yang efektif. Flavonoid juga mampu untuk berikatan dengan ion logam, seperti besi dan tembaga yang dapat mengkatalisis produksi radikal bebas dan juga mengkatalisis peroksidasi lipid. Flavonoid memiliki kemampuan memodulasi jalur sinyal sel yang dapat mengatur berbagai proses sel, misalnya pada pertumbuhan, proliferasi, dan apoptosis. Mekanisme lain yang berperan di dalam aktivitas antioksidan flavonoid adalah inhibisi enzim-enzim oksidan atau produksi radikal bebas oleh sel, regenerasi α-tokoferol dari radikal αtokoferoksil, dan dapat mengurangi peroksidasi lemak dan nitrit (Astari, 2021).

 Jika dibandingkan dengan bawang putih segar, bawang hitam ini tidak memiliki aroma yang menyengat. Hal ini dikarenakan adanya reduksi senyawa Allisin. Senyawa Allisin merupakan senyawa volatil yang ada pada bawang putih dan berperan terhadap aroma tajam pada bawang putih. Selama proses pembuatan bawang hitam, Allisin dikonversi menjadi senyawa *allyl sulfide* seperti *diallyl-sulfide* (DAS), *diallyl-disulfide (*DADS) yang berperan dalam memberikan aroma yang harum (Lanzotti, 2006).

 Selama proses pengolahan bawang putih menjadi bawang hitam juga terjadi perubahan warna menjadi kehitaman. Perubahan warna ini daisebabkan oleh suhu sehingga terjadi reaksi *Maillard*. Pada akhir reaksi *Maillard*, terbentuk senyawa Melanoidin karena tingginya suhu dan aktivitas air yang rendah (Kim dan Lee, 2008). Sebelum terbentuknya Melanoidin, terdapat indikator langkah awal terjadinya reaksi ini yaitu terbentuknya senyawa Amadori dan Heyns. Kedua senyawa ini terbentuk dari glukosa dan fruktosa pada bawang putih akibat hidrolisis senyawa fruktan menjadi fruktosa dan glukosa. Sehingga pada produk akhir yang dihasilkan, yaitu bawang hitam memiliki rasa manis dan tekstur yang lunak. Senyawa Amadori sendiri merupakan turunan dari glukosa dengan asam amino, sedangkan senyawa Heyns merupakan turunan dari fruktosa dan asam amino. Gabungan senyawa Amadori dan Heyns memiliki efek *flavor,* warna, dan memiliki fungsi sebagai antioksidan pada bawang hitam yang dihasilkan (Yuan et al., 2016).

 Bawang segar yang masih mengandung fenilalanin akan dipecah menjadi fenol oleh enzim *fenil ammonia lyase* (PAL) menjadi asam hidroksisinamatik (HCA) dan asam hidroksibenzoatik (HBA) yang merupakan kelompok senyawa fenol. Penggunaan suhu hangat selama pemeraman bawang hitam meningkatkan aktivitas enzim *fenol ammonia lyase* (PAL) sehingga semakin banyak fenilalanin yang diubah menjadi senyawa polifenol (Sirin *et al*., 2016). Sedangkan peningkatan kadar flavonoid pada pembuatan bawang hitam dikarenakan pengubahan asam amino tirosin menjadi turunan flavonoid seperti flavonol, flavone dan flavanol (Kim *et al*., 2013). Adanya kandungan-kandungan bermanfaat ini membawa banyak manfaat bagi yang mengkonsumsi bawang hitam, karena sebagai agen antioksidan, antikanker dan neutropik (Kodera *et al*., 2002). Menurut Rosita (2016), mengkonsumsi bawang hitam dapat mengatasi kanker dan kolesterol, mengatasi infeksi karena memiliki agen anti-mikroba, antibiotik, anti-jamur, serta memberikan perlindungan terhadap berbagai penyakit.

* 1. **Simplisia**

 Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.

 Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 600C (Depkes RI, 1985).

* + 1. **Tahapan Pembuatan Simplisia**
1. **Pengumpulan Bahan Baku**

 Pada suatu simplisia memiliki kadar senyawa aktif yang berbeda-bedaantara lain tergantung pada : bagian tanaman yang di gunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukkan senyawa aktif didalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal didalam bagian tanaman atau pada saat umur tertentu (Depkes RI, 1985).

1. Sortasi Basah

 Sortasi basah dilakukan bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotor lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam – macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Depkes RI, 1985).

1. Pencucian

 Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya mengandung juga sejumlah mikroba. Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumblah mikroba awal simplisia (Depkes RI, 1985).

1. Perajangan

 Beberapa jenis simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesinperajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan (Depkes RI, 1985).

1. Pengeringan

 Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingg dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel, masih dapat berkerja, mengurangi senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu (Depkes RI, 1985).

 Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau mengunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas pengeringan bahan. Pada pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari bahan plastik. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C - 90°C (suhu terbaik tidak melebihi 60°C). Bahan simplisia yang mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C-45°C atau dengan cara pengeringan vakum (Depkes RI, 1985).

1. Sortasi Kering

 Tahap akhir dari pembuatan simplisia yaitu sortasi setelah pengeringan. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan (Depkes RI, 1985).

1. Pengepakan dan Penyimpanan

 Simplisia dapat rusak dan berubah mutunya karena beberapa faktor yaitu cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern (enzimatik, polimerisasi, autooksidasi, dan lainnya), dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga dan kapang. Agar bahan tahan lama, maka penyimpanan di tempat kering dan tertutup, sebaiknya terlindung dari cahaya karena meskipun tidak mempengaruhi aktivitas senyawa namun dapat menyebabkan perubahan penampakan seperti warna yang pudar, penting juga melindungi bahan dari serangan serangga (Zuhud et al., 2018)

* + 1. **Karakteristik Simplisia**

 Standarisasi simplisia merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang diformulasikan dalam suatu sediaan farmasi maka diperlukan suatu proses standarisasi untuk menjamin keseragaman mutu produk (Depkes RI, 2000).

 Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu tidak larut asam.

1. Makroskopik

 Uji makroskopik bertujuan untuk menentukan ciri khas simplisia dengan pengamatan secara langsung organoleptis simplisia yaitu bentuk, ukuran, warna, rasa dan bau.

1. Mikroskopik

 Pengujian mikroskopik mencakup pengamatan terhadap bagian simplisia dan fragmen dalam bentuk sel, isi sel atau jaringan tanaman serbuk simplisia yang dilakukan pengamatan di bawah mikroskop.

1. Kadar Air

 Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada dalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI, 2000).

1. Kadar Sari

 Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk memberikan gambaran kadar persentase senyawa yang dapat tersari dengan menggunakan pelarut etanol dan air suatu simplisia (Depkes RI, 2000).

1. Kadar Abu

 Penentuan kadar abu ditentukan dengan cara pemanasan pada temperatur tertentu sehingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, dengan begitu hanya ada unsur mineral saja dan unsur anorganik yang tertinggal. Parameter kadar abu berkaitan dengan kontaminasi dan kemurnian dari suatu ekstrak (Depkes RI, 2000).

* 1. **Ekstraksi**
1. Maserasi

 Dalam maserasi, bubuk kasar sampel tumbuhan disimpan dan dibiarkan mengalami kontak denganpelarut dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu yang disertai dengan pengadukan hingga komponen sampel tumbuhan ada yang larut. Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus senyawa kimia tumbuhanyang tidak tahan panas (termolabil).

1. Perkolasi

 Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Sebuah perkolator adalah wadah sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kira-kira 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi lebih lanjut dalam wadah percolator tertutup selama 24 jam. Saluran keluar perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan, sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi.

1. Sokletasi

 Ekstraksi soxhlet hanya diperlukan apabila senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, dan pengotor tidak larut dalam pelarut itu. Jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan yang tinggi dalam suatu pelarut maka suatu penyaringan sederhana dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat yang tidak larut. Keuntungan dari sistem ini adalah proses ekstraksi cukup dilakukan dalam satu wadah dimana secara kontinyu pelarut yang terkondensasi akan menetes dan merendam sampel tumbuhan dan membawa senyawa terlarut ke labu penampung. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabile karena pemanasan yang berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa.

1. Refluks

 Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

1. Digesti

 Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-500C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

1. Infundasi

 Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-980C) selama waktu tertentu (15-20 menit), hasilnya disebut dengan infusaum (Departemen Kesehatan RI, 2006).

1. Dekoktasi

 Dekoktasi adalah infundasi pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-1000C selama 30 menit. Hasilnya disebut dengan dekoktum (Departemen Kesehatan RI, 2006).

* 1. **Skrinning FItokimia**

 Skrining fitokimia adalah penelitian yang dikerjakan untuk mengetahui senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tumbuhan yang terdapat pada tanaman. Senyawa metobolit adalah senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan yang berguna untuk kelangsungan hidup. Senyawa yang terdapat pada metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, alkaloid, steroid, terpenoid dan saponin. Fitokimia digunakan untuk menguji ada atau tidaknya senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tumbuhan. Senyawa organik yang terdapat di dalam tumbuhan dibedakan menjadi dua yaitu, senyawa metabolit sekunder dan senyawa metabolit primer. Senyawa metabolit primer merupakan senyawa utama yang dibutuhkan untuk tumbuh dan berkembang, seperti karbohidrat, protein dan lemak. Sedangkan senyawa metabolit sekunder disebut juga sebagai senyawa non nutrisi karena dihasilkan tumbuhan untuk melindungi tumbuhan dari gangguan bakteri, serangga dan lain sebagiannya.

 Skirining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Kristianti dkk., 2008).

* + 1. **Alkaloid**

 Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau bahkan lebih atom nitrogen. Alkaloid biasanya tidak berwarna dan sering bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal. Alkaloid di dalam tumbuhan biasanya terdapat pada akar, kulit kayu, daun dan buah. Alkaloid bisa bedakan dari sebagian besar komponen lain berdasarkan sifat basa yang terdapat didalam tumbuhan sebagai garam dengan berbagai asam organik. Garam pada tumbuhan ini adalah senyawa padat berbentuk kristal tidak berwarna. Alkaloid bebas tidak larut didalam air tetapi larut didalam pelarut organik, sebaliknya alkaloid dalam bentuk garam dapat larut didalam air tetapi tidak larut didalm pelarut organic (Fergusson,1956).

* + 1. **Flavonoid**

 Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang berada pada daun, hal ini terjadi bisa saja karena akibat adanya proses fotosintesis sehingga yang terlihat pada daun muda tidak terlalu banyak menghasilkan flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki struktur C6-C3-C6, setiap Bagian C6 adalah cincin benzene yang dihubungkan oleh atom C3 yang merupakan rantai alfatik (Harborne, 2009).

* + 1. **Saponin**

 Saponin merupakan glikosida triterpenoid dan sterol. Saponin memiliki sifat seperti sabun yaitu memiliki senyawa aktif dipermukaan yang bisa menimbulkan busa jika dikocok dalam aquades dan pada konsentrasi yang rendah menghasilkan hemolysis sel darah merah. Bebarapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Saponin adalah senyawa yang berasa pahit dan dapat mengakibatkan iritasi pada selaput lender (Robinson, 1995).

* + 1. **Tanin**

 Tanin merupakan salah satu senyawa yang terdapat pada tumbuhan, tanin juga merupakan substansi yang tersebar luas dalam tanaman, seperti daun, buah yang belum matang, batang dan kulit kayu. Tanin digunakan sebagai sumber energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi tanin. Mengendapkan larutan gelatin dan larutan alkaloid, tidak dapat mengkristal, larutan alkali dapat teroksidasi, mengendapkan protein dari larutannya (Harborne, 1987)

* + 1. **Steroid dan Triterpenoid**

 Steroid merupakan molekul bioaktif yang penting dengan kerangka dasar 17 atom karbon yang tersusun dari empat buah gabungan cincin, tiga diantaranya yaitu sikloheksana dan siklopentana. Senyawa steroid berupa kristal yang berbentuk jarum dengan karakteristik yang mengandung gugus OH, gugus metil dan memiliki ikatan rangkap yang tidak terkonjugasi. Salah satu kandungan steroid yang ada pada tanaman yaitu campetrol yang memiliki efektifitas sebagai anti kanker (Salempa, 2009).

 Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklis, yaitu skualena. Uji yang banyak digunakan reaksi Liebermann-Burchard (anhidrida asetat – H2SO4 pekat) yang kebanyakan triterpenoid dan sterol memberikan warna hijau – biru. Steroid merupakan turunan dari senyawa triterpenoid. Steroid alami berasal dari berbagai macam transformasi kimia dari triterpen yaitu lanosterol dan sikloartenol (Harborne, 1987).

* + 1. **Glikosida**

 Glikosida adalah senyawa alami yang terdiri dari bagian karbohidrat dan bukan karbohidrat. Bagian bukan karbohidrat paling banyak ditemukan adalah triterpen, steroid dan flavonoid. Sedangkan molekul karbohidrat yang paling banyak ditemukan adalah glukosa, galaktosa, xilosa, dan arabinosa. Kata glikosida bermakna karbohidrat atau gula yang umumnya bersifat oksidator yang disebut dengan glikon, sedangkan bukan gula disebut dengan aglikon (Rijai, 2016).

* 1. **Kanker**
		1. **Definisi Kanker**

 Kanker adalah pembentukan jaringan baru yang bersifat ganas (malignan) dan abnormal. Kanker berasal dari bahasa Latin Carcinamon. Carci artinya kepiting dan Oma artinya pembesaran. Kanker melekat erat ke semua permukaan yang dipijaknya seperti seekor kepiting. Kanker tumbuh dengan cara infiltrasi, invasi, destruksi, dan penetrasi progresif ke jaringan sekitar (Kumar, Cotran, & Robbins, 2007). Kanker terjadi karena perubahan atau mutasi pada gen di dalam sebuah sel yang menyebabkan pertumbuhan sel tersebut di luar kendali sinyal dari bagian tubuh lainnya dan akhirnya sel kanker dapat menyebar ke bagian tubuh yang jauh dari tempat asal sel tersebut (Chang et al., 2010).

 Kanker dimulai ketika sel-sel di bagian tubuh mulai tumbuh di luar kendali. Pertumbuhan sel kanker berbeda dari pertumbuhan sel normal. Alih-alih mati, sel- sel kanker terus tumbuh dan membentuk baru, sel-sel yang abnormal. Sel-sel kanker juga dapat menyerang (tumbuh menjadi) jaringan lain, merupakan sesuatu yang sel-sel normal tidak bisa lakukan. Sel-sel kanker tumbuh di luar kendali dan menyerang jaringan lain. Sel menjadi sel-sel kanker karena kerusakan DNA. Dalam sel normal, DNA yang mengalami kerusakan atau mati akan diperbaiki. Dalam sel-sel kanker, DNA yang rusak tidak diperbaiki, dan sel tidak mati seperti seharusnya. Sebaliknya, sel terus membuat sel-sel baru yang tidak diperlukan oleh tubuh. Sel-sel yang baru semuanya memiliki DNA yang abnormal. Manusia bisa mewarisi DNA abnormal, tapi kerusakan DNA yang paling sering adalah disebabkan oleh kesalahan yang terjadi saat sel normal mereproduksi atau faktor dari lingkungan. Dalam kebanyakan kasus, sel-sel kanker membentuk tumor. Beberapa kanker, seperti leukemia, jarang membentuk tumor. Sebaliknya, sel-sel kanker melibatkan darah dan organ pembentuk darah dan beredar melalui jaringan lain di mana mereka tumbuh.

* + 1. **Faktor-faktor Peyebab Kanker**

 Berbagai jenis kanker memiliki penyebab yang berbeda dan tergantung pada banyak faktor. Beberapa kanker lebih umum daripada yang lain, dan kemungkinan untuk bertahan hidup bervariasi di antara berbagai jenis.

 Penyebab kanker sangat kompleks, melibatkan sel dan faktor lingkungan. Banyak kemajuan telah dibuat dalam mengidentifikasi kemungkinan penyebab kanker, termasuk :

1. Kimia dan zat lainnya

 Bahan kimia tertentu, logam, atau pestisida dapat meningkatkan risiko kanker apabila masuk kedalam tubuh. Contoh karsinogen yang terkenal antara lain: asbes, nikel, kadmium, uranium, radon, vinil klorida, benzidene, dan benzena. Misalnya, menghirup serat asbes meningkatkan risiko penyakit paru-paru, termasuk kanker, dan risiko kanker terutama tinggi bagi pekerja asbes yang merokok.

1. Tembakau

 Karsinogen yang paling umum dalam masyarakat kita adalah rokok (asap rokok). Asap rokok diketahui mengandung setidaknya 60 karsinogen dan racun 6. Selain menyebabkan 80 sampai 90 persen dari kanker paru-paru, merokok juga dapat menyebabkan kanker mulut, faring, laring, esofagus, pankreas, ginjal, dan kandung kemih.

1. Radiasi

 Beberapa jenis radiasi, seperti sinar-x, sinar dari zat radioaktif, dan sinar ultraviolet dari paparan sinar matahari, dapat menghasilkan kerusakan pada DNA sel, yang mungkin menyebabkan kanker.

1. Keturunan

 Beberapa jenis kanker lebih sering terjadi penderita yang anggota keluarga sebelumnya menderita kanker pula. Hal ini menunjukkan bahwa faktor keturunan juga dapat menyebabkan terjadinya penyakit kanker. Faktor lingkungan juga merupakan penyebab kejadian kanker sebesar 80- 85%,sedangkan sekitar 10-15% disebabkan oleh kesalahan replikasi dan genetika, dan diyakini sepertiga dari kanker berhubungan dengan diet (Damayanthi 2008).

* 1. **Uji Sitotoksisitas**

 Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker. Penggunaan antikanker yang ideal adalah antikanker yang memiliki toksisitas selektif, yang artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Kurnijasanti dkk, 2008).

 Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai LC50. Nilai LC50 menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan poliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar harga LC50, maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Winarno, 2011).

Belakangan ini telah banyak pengujian tentang toksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antineoplastik. Metode pengujian tersebut antara lain Simple Brench-Top Biassay (terdiri dari Brine Shrimp Lethality test, Lemna Minor Bioassay dan Crown-Gall Potato disc bioassay) dan pengujian pada sel telur bulubabi. Dengan berdasarkan pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa antitumor adalah sitotoksik, maka *Brine Shrimp Lethality Test* dapat digunakan sebagai uji pendahuluan senyawa antitumor (Irma, 2017)

* 1. ***Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

 Metode BSLT merupakan langkah pertama untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. Metode ini merupakan metode hayati yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter *Lethal concentration* 50 (LC50). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT ini jika memiliki LC50 kurang dari 1000 µg/ml. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker (Irma, 2017).

 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode yang mudah untuk mengamati aktivitas biologis dari berbagai jenis spesies tumbuhan. Walaupun metode ini tidak bisa menunjukkan bagaimana mekanisme aksi terjadinya sitotoksik, metode ini mempunyai beberapa keuntungan yaitu:

1. Cepat (pengamatan dapat dilakukan dengan waktu 60 jam, tetapi dalam beberapa kasus data yang relevan untuk perhitungan LC50 didapatkan setelah 24 jam setelah pemaparan).
2. Pengerjaan yang praktis (tidak perlu pelatihan khusus untuk peralatan dan pengujian).
3. Persyaratan yang rendah (tidak diperlukan teknik aseptik, tidak diperlukan peralatan khusus, dan jumlah sampel yang dibutuhkan sedikit).
4. Ketahanan (telur dari *Artemia salina* Leach tersedia di pasaran sehingga tes dapat dilakukan di seluruh dunia dengan bahan asli yang sama tanpa masalah).
5. Murah (jumlah telur *Artemia salina* Leach yang dibutuhkan untuk tes sangat sedikit sehingga harganya bisa diabaikan) (Hamidi, dkk., 2014).

 Metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, mudah (tidak perlu kondisi aseptis) dan dapat dipercaya. Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu (Irma, 2017).

 Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji. Respon tersebut dapat dilihat berupa immobilisasi kedalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *Artemia salina* Leach Nilai LC50 diperoleh dengan ekstrapolasi kurva (Soemirat, 2005).

* 1. ***Artemia Salina* Leach**

 Penggunaan *Artemia salina* Leach dalam penelitian suatu metode uji hayati yang tepat dan murah untuk menentukan toksisitas suatu ekstrak tanaman aktif dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Artemia sebelumnya telah digunakan dalam bermacammacam uji hayati seperti uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestetik, komponen seperti morfin, kekarsinogenikan dan toksikan dalam air laut. Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktifitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Penetasan telur *Artemia salina* yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyinaran, suhu, derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetasan.

Penelitian dengan larva *Artemia salina* Leach telah digunakan oleh Pusat Kanker Purdue, Universitas Purdue di Lafayette untuk senyawa aktif tanaman secara umum dan tidak spesifik untuk zat anti kanker. Namun demikian hubungan yang signifikan dari sampel yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ternyata juga mempunyai aktifitas sitotoksik. Berdasarkan hal tersebut maka larva *Artemia salina* Leach dapat digunakan untuk uji sitotoksik (Mayer, 1982)

* + 1. **Klasifikasi *Artemia Salina* Leach**

Divisi : Animal

Phylum : Arthropoda

Kelas : Crustaceae

Subkelas : Branchiopoda

Ordo : Anostraca

Familia : Arthemidae

Genus : Artemia

Species : *Artemia salina* Leach (Dumitrascu, 2011)

* + 1. **Morfologi *Artemia Salina* Leach**

 Artemia merupakan kelompok udang-udangan dari phylum Arthopoda, Artemia hidup di danau-danau garam (berair asin) yang ada diseluruh dunia. Udang ini toelran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam. Apabila kadar garam kurang dari 6% telur Artemia akan tenggelam hingga telur tidak dapat menetas, sedangkan apabila kadar garam lebih dari 25% telur akan berada dalam kondisi tersuspensi, sehingga dapat menetas dengan normal (Purwakusuma, 2009).

 Tingkat hidup *Artemia salina* Leach mengalami beberapa tingkatan, tetapi secara jelas dapat dilihat dalam 3 bentuk yang sangat berlainan yaitu bentuk telur, nauplius (larva) dan artemia dewasa. Secara berkala, pada saat air laut atau danau menguap, partikel-partikel yang berwarna coklat, berdiameter sekitar 0,2-0,3 mm akan naik kepermukaan, oleh angin akan di bawa hanyut ke darat. Partikel tersebut merupakan telur-telur inaktif atau tidur dari *Artemia salina* Leach. Sepanjang telur-telur tersebut terhidrasi dan dalam keadaan diapause, akan memiliki ketahanan dan kestabilan dalam penyiapan yang lama. Jika telur-telur tersebut (yang embrionya dalam keadaan diapause) direndam dalam larutan bergaram (air laut), telur akan menyerap air laut hingga menggembung. Proses penyerapan ini berlangsung secara hiperosmotik yaitu adanya tekanan osmose di dalam telur yang lebih tinggi dari pada di luarnya. Setelah telur menggembung dan metabolism berlangsung terus, untuk mencapai tingkatan ini dibutuhkan waktu sekitar 15 jam. Terjadinya pemecahan cangkang telur yang keras itu dibantu oleh kegiatan enzim yaitu enzim penetasan pada pH lebih dari 8. Sekitar 17 jam perendaman, embrio yang keluar dari cangkang yang masih dibungkus oleh selaput penetasan tumbuh terus hingga akhirnya keluar dari selaputnya menjadi makhluk hidup baru, yaitu waktu 19 jam, hingga rata-rata berkisar 24-36 jam. Dalam pengembangan selanjutnya, burayak mengalami metamorphosis. Pada tingkatan Instar I, kandungan energi masih cukup tinggi. Sekitar 24 jam kemudian, mereka sudah berubah menjadi Instar II mulai mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Oleh karenanya mencari makanan. Demikian seterusnya, setelah itu berubah menjadi artemia dewasa. Proses ini biasanya berlangsung 1-3 minggu.

 Tubuh terbagi atas bagian kepala, dada dan perut, pada bagian kepala terdapat 2 tungkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Dada terbagi atas 11 segmen yang masing-masing mempunyai sepasang kaki renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* dewasa bentuknya telah sempurna. Reproduksi *Artemia salina* dapat dengan bertelur atau dengan melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan factor oksigen dalam lingkungan. Konsentrasi oksigen yang rendah dan klorofil yang tinggi dalam makanannya menyebabkan reproduksi dengan telur, dan sebaliknya akan menyebabkan reproduksi dengan melahirkan anak (Mudjiman, 1998).

 Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh *Artemia salina* adalah protein dan asam lemak yang tinggi. Nilai nutrisi Artemia dewasa mempunyai keunggulan, yaitu kandungan proteinnya meningkat dari rata-rata 47% pada nauplius menjadi 60% pada Artemia dewasa yang telah dikeringkan (Aliyas, 2019).

* + 1. **Siklus Hidup *Artemia Salina* Leach**

 Perkembangannya yaitu jenis biseksual, dapat terjadi ovovivipar atau avipar. Pada ovovivipar keluar induknya sudah berupa anak yang dinamakan naplius, sedangkan pada ovipar anak keluar dari induknya berupa telur, bercangkang tebal yang dinamakan siste. Perkembangbiakan jenis biseksual harus melalui proses perkawinan antara induk jantan dan induk betina (Mudjiman, 1995).

 Artemia menjadi dewasa setelah umur 14 hari. Artemia dewasa biasanya menghasilkan telur sebanyak 50-300 butir setiap 4-5 hari sekali. Dengan perkembangbiakan secara ovovivipar ini biasa menghasilkan individu baru dalam waktu yang relatif lebih cepat sehingga jumlah nauplius yang dihasilkan seoleh setiap induk bisa lebih banyak. Umur maksimal Artemia sekitar 6 bulan, dalam keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, induk Artemia mungkin mati, tetapi sistem atau telur yang dihasilkan dari perkawinan akan berkembang sebagai generasi penerus (Astuti, 2008).



**Gambar 2.5** Siklus Hidup*Artemia salina* Leach (Harefa, 1997)

* 1. **Konsentrasi Letal (LC50)**

 Letal Consentration (LC50) adalah jumlah kadar yang menyebabkan kematian dari 50% hewan uji dalam selang waktu tertentu. LC50 tidak berfokus pada kerusakan organ tertentu dan spesifik namun pada total kematian hewan uji itu sendiri sehingga nilai LC50 digunakan pada uji jangka pendek. LC50 digunakan untuk menghitung tingkat kematian artemia mengingat susunan pencernaannya yang tidak rumit serta sensitifitas yang cukup tinggi (Wahyu Ningdyah et al., 2015).

**Tabel 2.1** Kategori Sitotoksisitas Berdasarkan Nilai LC50 (Meyer et al, 1982)

|  |  |
| --- | --- |
| **Kategori** | **LC**50 |
| **Toksik** | **<1000** µg/mL |
| **Tidak Toksik** | **>** 1000 µg/mL |

 Untuk pengolahan data hasil pengujian toksisitas, atau untuk menentukan nilai LC50 digunakan metode analisis probit. Analisis probit merupakan suatu metode yang telah digunakan secara luas untuk menghitung toksisitas dengan cara membandingkan setiap konsentrasi ataupun dosis. Menurut (Nurhayati et al., 2006) efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian.

% Mortalitas = $\frac{jumlah larva yang mati}{jumlah larva uji}$x100%

Apabila pada control terdapat larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer et al. 1982).

% Mortalitas = $\frac{uji-kontrol}{kontrol}$x100%

Setelah mengetahui % mortalitas larva *Artemia salina* leach, kemudian dicari nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier.

y = a +bx

Keterangan : y = Nilai Probit

 a = konsentrasi regresi

 b = slope/kemiringan regresi

 x = logaritma konsentrasi uji (Puspitasari, 2018)