

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Harendong Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don)

Harendong bulu adalah tumbuhan renek yang dapat dijumpai di kawasan semak samun dan belukar. Tumbuhan harendong bulu termasuk dalam famili Melastomataceae, tanaman famili ini kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid (Fadhli dkk., 2020). Harendong bulu juga merupakan salah satu tumbuhan yang invasif yang memiliki ciri-ciri batang dan daunnya yang memiliki duri-duri halus menyerupai rambut, permukaan daun berwarna hijau berkilat dan daunnya memiliki bentuk bujur, daunnya lebar dan meruncing dibagian ujungnya (Herba, 2014).

Tumbuhan harendong bulu (*C. hirta*) memiliki bunga yang berbentuk jamak di bagian ujung ranting berwarna putih atau merah jambu samar. Buah pada harendong bulu memiliki buah buni dengan ukuran yang kecil serta mengelompok, buah muda pada tumbuhan ini berwarna hijau sementara saat matang buah akan berwarna ungu (Gambar 1). Bentuk buah harendong bulu yaitu bulat dan memiliki bulu halus, dan tumbuhan harendong bulu berkembang biak dengan biji benih dan keratin pada batang. Bagian batang tumbuhan harendong bulu dapat tumbuh hingga ketinggian kurang dari 1 meter, tumbuhan ini juga biasanya dapat ditemukan di tepi hutan, sungai, dan di pinggir jalan (Depkes, 1995).

Tumbuhan harendong bulu merupakan tumbuhan asing invasif,

memiliki sifat menyebar dengan cepat dan juga lebih melimpah saat berada di luar daerah asalnya dibandingkan habitat aslinya (Ismaini, 2015). Bagian tumbuhan harendong bulu yang sering dimanfaatkan adalah bagian daun dan buahnya. Daun harendong bulu dimanfaatkan sebagai obat tradisional melayu asli dan biasanya digunakan untuk menyembuhkan penyakit sawan. Sementara buah harendong bulu dapat dijadikan makanan ringan saat dalam keadaan darurat karena rasanya yang manis, dan manfaat lain dari buah harendong bulu bisa juga menjadi obat bisul dan mengobati luka (Sianipar, 2021). Klasifikasi tanaman harendong bulu menurut ITIS (2021) adalah sebagai berikut.

Kerajaan	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliopsida
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Melastomataceae
Genus	: <i>Miconia</i>
Spesies	: <i>Miconia crenata</i> (Vahl.) Michelang.
Sinonim	: <i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don.
Nama lokal	: Harendong Bulu



Gambar 1. Herba Harendong Bulu (*C. hirta*)

## **B. Senyawa Metabolit Sekunder Harendong Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D.(Don.)**

Tanaman harendong bulu (*C. hirta*) memiliki senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder terdapat pada daun harendong bulu yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan steroid (Tuginah dkk., 2020). Senyawa flavonoid merupakan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak digunakan sebagai pigmen tumbuhan. Flavonoid meliputi antosianin, flavonol dan flavon. Pola sebaran flavonoid digunakan dalam kajian taksonomi spesies tumbuhan (Radam dan Purnamasari, 2016). Flavonoid memiliki fungsi penting bagi proses fotosintesis, antimikroba, dan sebagai antivirus, aktivitas antioksidan juga dimiliki oleh komponen aktif flavonoid tertentu digunakan untuk menghambat pendarahan dan anti skorbut (Putra dkk., 2016).

Flavonoid berfungsi sebagai antibiotika pada manusia, misalnya pada penyakit kanker dan gangguan ginjal. Beberapa jenis flavonoid seperti slimirin dan slyburn terbukti mengobati gangguan fungsi hati, menghambat sintesis prostaglandin sehingga bekerja sebagai hepatoprotektor (Putra dkk., 2016). Senyawa flavonoid memiliki 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 dimana kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Saponin merupakan senyawa aktif yang kuat dan akan menimbulkan busa apabila dikocok, saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga dapat menyebabkan

sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015). Senyawa saponin telah diketahui dapat membentuk busa karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya, yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air, dan saponin mempunyai rasa pahit, berbusa dalam air, mempunyai sifat detergen yang baik (Rachmawati dkk., 2018).

Steroid atau triterpenoid merupakan senyawa yang memiliki kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isopropena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini memiliki struktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Senyawa tersebut merupakan senyawa tanpa warna berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan aktif optik, yang umumnya sukar dicirikan karena tidak ada kereaktifan kimianya. Senyawa triterpenoid pada tumbuhan berfungsi sebagai pertahanan terhadap serangga pengganggu dan faktor pengaruh pertumbuhan (Putra dkk., 2016).

Steroid atau triterpenoid memiliki peran penting bagi tumbuhan yaitu sebagai pengatur pertumbuhan. Karotenoid sebagai pewarna dan memiliki peran dalam membantu proses fotosintesis. Steroid pada bidang farmasi digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat yang saat ini disebut steroida

dan dianggap sebagai senyawa yang hanya terdapat pada hewan, namun saat ini semakin banyak ditemukan pada tumbuhan seperti fitosterol yang merupakan senyawa steroida yang berasal dari tumbuhan. Senyawafitosterol biasa terdapat pada tumbuhan tinggi yaitu sitosterol, stigmasterol dan kampesterol (Putra dkk., 2016).

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin juga merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, dan terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Tanin terbagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi dkk., 2012).

### **C. Standarisasi Simplisia**

Simplisia merupakan bahan baku obat alami yang sudah dikeringkan dan sudah dalam bentuk serbuk. Simplisia terbagi menjadi 3 jenis yaitu simplisia nabati dimana simplisia ini merupakan simplisia yang berasal dari bagian utuh atau bagian tertentu tumbuhan maupun eksudat tanaman. Kedua yaitu simplisia hewani, simplisia ini berasal dari hewan utuh atau zat-zat berguna dari hewan yang belum diubah menjadi bahan kimia murni seperti minyak ikan dan madu. Terakhir ada simplisia pelican dan mineral,

simplisia ini berasal dari pelican atau mineral yang diolah dengan sederhana yang belum berupa bahan kimia murni contohnya yaitu serbuk seng dan tembaga (Evifania dkk., 2020).

Standarisasi simplisia merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mengetahui kualitas dari simplisia yang akan diuji, dan juga untuk menjamin mutu simplisia. Standarisasi simplisia dilakukan karena memiliki tujuan yaitu untuk menjaga stabilitas dan keamanan serta mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif dalam simplisia. Dalam standarisasi simplisia terdapat dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Parameter spesifik merupakan aspek yang menguji kandungan kimia kualitatif dan kuantitatif senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis dan akan dilakukan uji organoleptis. Parameter non-spesifik merupakan aspek yang pengujiannya tidak berkaitan dengan aktivitas farmakologis namun mempengaruhi keamanan dan stabilitas sampel, dan pada parameter non-spesifik terdapat uji kadar abu total dan uji kadar abu tidak larut asam (Evifania dkk., 2020).

Menurut Departemen Kesehatan (2017), dalam standarisasi simplisia terdapat syarat mutu untuk masing-masing tanaman obat baik dalam bentuk simplisia maupun ekstrak. Syarat mutu sendiri merupakan parameter uji yang tertera dalam monografi simplisia dan ekstrak yang bersangkutan. Suatu simplisia atau ekstrak tidak dapat dikatakan bermutu jika tidak memenuhi syarat mutu yang sudah ada dalam Farmakope Herbal Indonesia edisi II tahun 2017. Syarat mutu simplisia herba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Simplisia Herba

Parameter	Persyaratan FHI Edisi II (2017)
Susut Pengeringan	$\leq 10\%$
Kadar Abu Total	$\leq 7,2\%$
Kadar Abu Tidak Larut Asam	$\leq 1,2\%$
Sari Larut Air	$\geq 20,3\%$
Sari Larut Etanol	$\geq 10,5\%$
Kadar Air	$\leq 10\%$

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik dalam memberikan rentang besarnya senyawa yang hilang pada saat pengeringan dilakukan (Utami dkk., 2017). Susut pengeringan merupakan pengukuran sisa dari simplisia setelah dilakukannya pengeringan dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit hingga berat simplisia konstan, kemudian susut pengeringan akan dinyatakan dalam nilai persen. Pemeriksaan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui total jumlah senyawa dengan sifat mudah menguap pada saat dilakukan pemanasan, semakin kecil nilai susut pengeringan yang dihasilkan maka semakin baik proses pengeringan yang sudah dilakukan terhadap simplisia (Wigati dan Rahardian, 2018).

Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam memiliki fungsi untuk mengetahui kandungan mineral yang terdapat pada tumbuhan, serta mengetahui kontaminan selama proses awal hingga didapatkan simplisia. Penetapan kadar abu juga berfungsi untuk mengontrol jumlah cemaran benda anorganik yang terbawa pada sediaan nabati seperti tanah (Wigati dan Rahardian, 2018). Suatu tumbuhan memiliki kandungan mineral internal yang tinggi dapat dilihat dari tingginya kadar abu yang didapatkan, sedangkan pengujian kadar abu tidak larut asam akan memberikan

gambaran terhadap adanya kontaminasi mineral atau logam yang tidak dapat larut dengan asam yang didapatkan dari tanah maupun pasir atau timbal dan merkuri (Utami dkk., 2017). Kadar abu tidak larut asam memiliki fungsi lebih untuk mengetahui kadar abu total dari faktor eksternal seperti pasir dan tanah, kemudian pada proses penetapan kadar abu total maupun abu tidak larut asam terjadi proses destruksi senyawa organik dan turunannya pada suhu tinggi sehingga yang tertinggal hanya unsur mineral organik (Wigati dan Rahardian, 2018).

Kadar sari larut air memiliki fungsi untuk menentukan kemampuan tersari dalam pelarut air dari simplisia, sementara kadar sari larut etanol untuk mengetahui kemampuan simplisia dalam pelarut organik (Febrianti dkk., 2019). Penetapan kadar sari larut air dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif dengan sifat polar (larut dalam air) dan polar hingga non polar (larut dalam etanol). Sementara untuk kadar air sangat penting karena menjadi salah satu parameter dalam menetapkan residu air setelah proses pengeringan, dan kadar air berkaitan dengan kemurnian ekstrak. Kandungan air yang tinggi dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba sehingga dapat menurunkan stabilitas ekstrak (Utami dkk., 2017). Dalam penentuan kadar air dapat dilakukan dengan cara gravimetri, destilasi ataupun titrasi (Depkes RI, 2000).

#### **D. Ekstraksi**

Ekstraksi atau penyarian adalah proses pemisahan suatu senyawa

kimia (analit) dalam suatu sampel dengan pelarutnya. Tujuan dari ekstraksi adalah menarik atau memisahkan metabolit sekunder yang terdapat dalam bahan alam atau senyawa tersebut (Nasyanka, 2020). Proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia maupun efek farmakologis yang terkandung dalam suatu tanaman obat terutama senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan. Kandungan fenolik dan flavonoid total dalam suatu simplisia yang mempunyai aktivitas antioksidan kestabilannya dapat dipengaruhi oleh proses pengeringan (Luliana dkk., 2016).

Penyerbukkan bahan alam dilakukan untuk memperkecil ukuran simplisia, dengan luas permukaan besar cairan penyari mudah melarutkan senyawa kimia aktif dari simplisia yang akan digunakan (Salamah dkk., 2017). Proses pembuatan serbuk simplisia dapat mempengaruhi kualitas dari ekstrak, sehingga harus dilakukan dengan hati-hati, jika serbuk terlalu besar atau kasar maka dapat mempersempit daerah penyerapan kandungan kimia oleh pelarut yang digunakan sehingga proses ekstraksi akan kurang optimal. Namun jika serbuk halus atau berukuran kecil maka senyawa maupun debris yang tidak diinginkan pada tahap filtrasi akan terikut dan mempengaruhi kualitas ekstrak (Depkes RI, 2000).

Pengujian menggunakan metode maserasi dimana metode ini akan menggunakan salah satu jenis ekstraksi padat cair yang paling sederhana dengan proses ekstraksi dengan cara merendam sampel pada suhu kamar yaitu 25-27°C dengan menggunakan pelarut yang sesuai agar dapat melarutkan analit pada sampel (Leba, 2017). Maserasi juga merupakan

metode ekstraksi secara dingin yang dilakukan dengan memasukkan serbuk dan pelarut ke dalam wadah inert yang telah tertutup rapat yang berada pada suhu kamar. Setelah diekstraksi pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara disaring, lalu dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan menggunakan oven (Nasyanka, 2020).

Metode maserasi mempunyai kelebihan yaitu tidak memerlukan peralatan yang rumit, relatif murah, dapat menghindari terjadinya penguapan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas. Kekurangan dari metode maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mengekstrak zat aktif dalam sampel dan juga tidak dapat menghasilkan rendemen yang tinggi (Sholihah dkk., 2017). Waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal namun jika waktu maserasi terlalu singkat maka tidak semua senyawa akan terlarut pada pelarut yang digunakan begitu juga apabila waktu maserasi yang terlalu lama maka tidak akan berpengaruh lagi karena jumlah dari pelarut dalam zat terlarut telah jenuh (Amelinda dkk., 2018).

Pelarut ialah bahan yang digunakan untuk memisahkan bahan atau sampel dari kandungan lain yang tidak diinginkan, pelarut yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah etanol dikarenakan etanol termasuk kedalam pelarut yang banyak digunakan dalam mengekstrak senyawa pada tumbuhan serta aman saat digunakan (Hidayah dkk., 2016). Pelarut etanol juga dapat masuk hingga ke dalam jaringan tumbuhan sehingga pengestrakan senyawa pada tumbuhan akan menghasilkan ekstrak yang

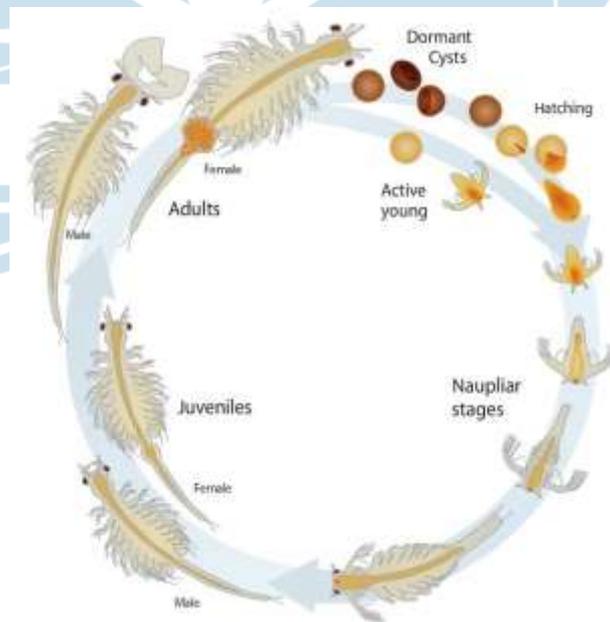
banyak. Etanol merupakan pelarut yang sudah termasuk ke dalam GRAS (*Generally Recognized as Safe*) oleh FDA (*Food and Drug Administration*). Etanol 70% sering digunakan karena pelarut ini dapat masuk hingga ke dalam jaringan tumbuhan sehingga banyak senyawa yang dapat terekstrak (Jos dkk., 2011). Etanol 70% sangat efektif menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dan bahan pengganggu hanya dalam skala kecil yang ada di dalam cairan pengekstraksi, selain itu mudah didapatkan dan memiliki harga yang lebih ekonomi dibandingkan etanol 90% (Aziz dkk., 2014).

#### **E. Hewan Uji Larva Udang (*Artemia salina* L.)**

Larva udang (*Artemia salina* L.) merupakan salah satu organisme yang sangat sesuai dan sering juga digunakan untuk mengetahui bioaktivitas senyawa melalui uji sitotoksik atau toksisitas. Larva udang *Artemia* juga merupakan spesies perairan sejenis udang primitif, hewan ini ditemukan di Lymington, England pada tahun 1755. *Artemia* biasa dapat ditemukan di pedalaman danau air asin tetapi hewan ini tidak dapat ditemukan di samudra. Udang *Artemia* yang biasa digunakan maupun yang dikenal dengan baik dan sudah banyak dikembangkan yaitu dari spesies *Artemia salina* (Surya, 2018).

Udang *Artemia* sering juga digunakan sebagai hewan uji untuk skrining aktivitas antikanker di *National Cancer Institute* (NCI), Amerika Serikat. Siklus hidup udang (*A. salina*) secara umum dapat dilihat dalam tiga fase yaitu bentuk telur, larva (*nauplii*) dan artemia dewasa. Telur

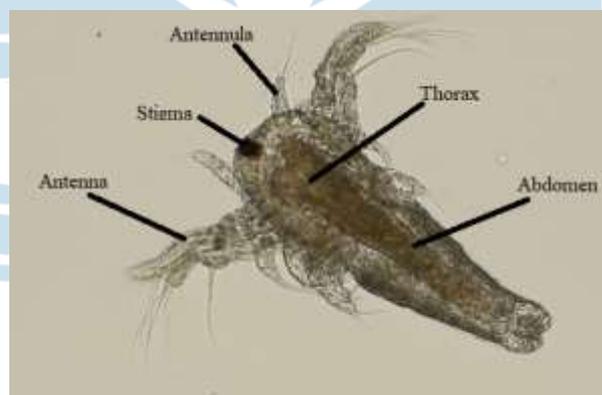
berbentuk bulat dengan ukuran 0,2-0,3 mm, selanjutnya telur akan menetas menjadi larva. Telur yang baru menetas ini akan memiliki ukuran kurang lebih 300 mikron, sebelum berubah menjadi artemia dewasa, larva akan mengalami 15 kali perubahan bentuk dalam satu tingkatan hidup. Waktu yang dibutuhkan hingga menjadi artemia dewasa sekitar 2 minggu. Pada fase artemia dewasa akan memiliki bentuk yang silinder dengan panjang 12-15 mm dan tubuh terbagi menjadi kepala, dada, dan perut. Hewan ini juga dapat hidup dalam air dengan suhu 25-30°C, perairan yang memiliki kadar garam antara 5300-5700 ppm, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L dan pH sekitar 7-9 (Ajrina, 2013). Siklus hidup udang *A. salina* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus Hidup *A. salina* L.

Udang *Artemia* memiliki telur atau *cyste* yang berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh saat dalam keadaan basah.

Warna yang dimiliki yaitu coklat dengan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan juga kuat, cangkang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar UV, dan dapat mempermudah pengapungan. Cangkang telur *Artemia* dibagi ke dalam dua bagian yaitu korion atau biasa disebut bagian luar dan kutikula embrionik yaitu bagian dalam. Lapisan ketiga pada cangkang dinamakan selaput kutikuler luar yang terdapat di antara kedua lapisan tersebut. Larva yang biasa digunakan adalah nauplii atau nauplius yang memiliki warna tubuh kemerah-merahan karena masih banyak mengandung cadangan makanan sehingga belum perlu makanan (Ajrina, 2013). Larva udang *A. salina* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Larva Udang *A. salina* L

Menurut Surya (2018), telur *Artemia* dapat mengabsorpsi air jika mendapatkan sinar matahari atau pada suhu sekitar 26-28°C, dengan hal itu maka telur akan menetas setelah 24-48 jam. Penetasan telur dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan lainnya, dan telur udang *Artemia* yang baru menetas akan disebut naupli atau larva yang memiliki ukuran 0,25 mm. Telur udang ini diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebut

dengan kista, dimana kista ini berbentuk bulat-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter sekitar 300 mikron jika dilihat dengan mata telanjang. *Artemia* akan mengalami pubertas atau perkembangan selama 8-14 hari dan akan hidup selama 4-5 minggu tergantung dari konsentrasi garam, jika terlalu banyak garam maka harapan hidup untuk larva udang akan semakin berkurang. Berikut merupakan klasifikasi dari larva udang (*Artemia salina* L.).

Kerajaan	: Animalia
Divisi	: Arthropoda
Subdivisi	: Crustacea
Kelas	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: <i>Artemia</i> L.
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach

Larva udang dapat bertumbuh dan berkembang pada air garam, dan larutan air garam dapat dibuat dengan cara melarutkan sekitar 30 gram garam ke dalam 1 L air. Garam yang biasanya digunakan adalah garam biasa tanpa adanya penambahan iodium dan zat kimia lainnya karena dapat merusak atau memperburuk pertumbuhannya. *Artemia salina* dapat berkembangbiak melalui perkawinan antara *A. salina* jantan dan *A. salina* betina, namun *A. salina* juga dapat berkembangbiak tanpa dengan adanya perkawinan. Makanan atau pakan yang biasa diberikan untuk *A. salina* yaitu bubuk alga maupun ragi (*yeast*), makanan lainnya saat dalam proses pemeliharaan dapat diberikan seperti bekatul, padi, tepung, beras, dan tepung kedelai. *Artemia* hanya dapat menelan makanan yang berukuran

kecil yaitu kurang dari 50 mikron, apabila makanannya lebih besar dari ukuran itu maka tidak akan bisa tertelan (Surya, 2018).

Makanan yang sering diberikan terhadap *A. salina* adalah ragi (fermipan) atau *yeast*. Fermipan merupakan ragi instan kering yang berisi mikro organisme dari keluarga jamur spesies *Saccharomyces cerevisiae* dan biasanya digunakan sebagai bahan pengembang roti dan kue. Dalam fermipan terdapat kandungan glutathione non aktif (protein) yang dibutuhkan larva udang selama pertumbuhannya. Proses makan *A. salina* yaitu makanan yang diberikan nantinya akan ditelan lalu akan dikumpulkan terlebih dahulu di bagian depan mulut dengan menggerak-gerakkan kakinya. Gerakan kaki akan dilakukan secara terus-menerus hingga makanan yang tersedia akan terus bergerak masuk ke dalam mulutnya, selain untuk mengambil makanan, kaki *Artemia* dapat juga berfungsi sebagai alat untuk bergerak dan bernafas (Woo, 2013).

#### **F. Toksisitas**

Toksisitas merupakan kerusakan yang ditimbulkan oleh suatu bentuk dari reaksi kimia yang memiliki bentuk dan variasi yang luas. Asam-asam kuat atau alkalis yang mengalami kontak langsung dengan organ seperti mata, kulit, dan atau saluran pencernaan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan dan bahkan kematian pada sel-sel (Meyer, 1982). Uji toksisitas juga dapat dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik, uji toksisitas akut merupakan uji pra klinik yang bertujuan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa pada waktu tertentu setelah

pemberian dosis tunggal (Farid dkk., 2018). Uji toksisitas juga dilakukan dengan mengamati efek suatu zat pada hewan uji, dapat berupa kematian hewan uji dan imobilisasi atau ketidakmampuan hewan uji untuk bergerak bebas (immobilisation test), tergantung dari hewan yang diujikan (Nugroho dkk., 2018).

Toksisitas memiliki manfaat dalam berbagai bidang yaitu dapat digunakan sebagai skrining ekstrak tumbuhan untuk kepentingan pengobatan, menilai potensi dan efek berbahaya dari pestisida baru, dan dapat menilai toksisitas yang mungkin ditimbulkan oleh sumbernya. Uji toksisitas akut dilakukan untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam masa pemejanaan dengan waktu yang singkat atau dengan pemberian takaran tertentu. Takaran konsentrasi yang dianjurkan paling tidak empat peringkat dan berkisar dari konsentrasi terendah yang tidak menyebabkan kematian terhadap seluruh hewan uji sampai dengan konsentrasi tertinggi yang menyebabkan kematian terhadap seluruh hewan uji dan biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam (Hasanah dan Wijayanti, 2019).

#### **G. Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Metode BSLT sendiri merupakan pengujian atau skrining untuk menentukan ketoksikan suatu senyawa. Metode ini sering digunakan untuk bioassay dalam upaya untuk mengisolasi senyawa toksik, dan biasanya parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi

suatu senyawa adalah kematian dari *Artemia salina*. Senyawa-senyawa yang menunjukkan ketoksikan yang tinggi dalam BSLT memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker (Hasanah dan Wijayanti, 2019).

Menurut Hasanah dan Wijayanti (2019), metode uji BSLT sering digunakan untuk penapisan awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam suatu ekstrak dikarenakan uji ini cepat, mudah diperbanyak, sederhana dan dapat dipercaya karena menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker. Metode BSLT merupakan uji toksisitas akut dimana nantinya efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu yang singkat setelah pemberian dosis atau konsentrasi uji. Prosedur ujinya yaitu dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap *A. salina*. Menurut Nur (2021), klasifikasi tingkat toksisitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi Tingkat Toksisitas

Kategori	Nilai $LC_{50}$ (ppm)
Sangat Toksik	0,01 – 1
Cukup Toksik	1 – 10
Sedikit Toksik	10 – 100
Tidak Toksik	100 – 1000
Relatif Tidak Berbahaya	>1000

Data yang diperoleh akan diolah untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$  dengan menggunakan waktu pengamatan dan konsentrasi ekstrak yang berbeda. Penggunaan  $LC_{50}$  untuk melakukan pengujian ketoksikan dengan perlakuan terhadap hewan coba secara inhalasi atau menggunakan media air, dan kematian pada hewan percobaan akan digunakan sebagai pedoman

untuk memperkirakan dosis kematian pada manusia (Asmiyarti dan Wibowo, 2014).

Uji imobilisasi akut, terbagi menjadi berbagai konsentrasi zat yang nantinya akan diujikan dan menghasilkan berbagai tingkat efek toksik yang berkorelasi pada ketidakmampuan berenang hewan uji (Nugroho dkk., 2018). Mekanisme dari uji toksisitas akut adalah dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali, atau beberapa kali dalam jangka waktu 1 jam hingga 24 jam. Tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut adalah  $LD_{50}$  (Farid dkk., 2018).

$LD_{50}$  sendiri memiliki pengertian yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (Warsi dan Guntarti, 2016). Dosis letal 50% atau  $LD_{50}$  adalah dosis atau konsentrasi suatu toksikan yang secara statistik diharapkan dapat membunuh 50% hewan uji.  $LD_{50}$  digunakan sebagai standarisasi biologis untuk berbagai agen termasuk digitalis, insulin dan toksin difteri, nilai ini dapat dipakai sebagai acuan untuk uji selanjutnya, yaitu uji toksisitas subkronik dan uji toksisitas kronik (Listyorini, 2012).

Penentuan  $LD_{50}$  merupakan tahap awal untuk mengetahui keamanan bahan yang akan digunakan manusia dengan menentukan besarnya dosis yang menyebabkan kematian 50% pada hewan uji setelah pemberian dosis tunggal (Listyorini, 2012). Nilai  $LD_{50}$  dapat dikatakan aman jika indeks terapinya semakin besar. Uji  $LD_{50}$  juga dapat digunakan untuk membantu

mengidentifikasi reaksi racun, memberikan informasi tentang dosis yang terkait dengan target-organ toksisitas, serta dapat diekstrapolasi untuk digunakan dalam diagnosis dan pengobatan reaksi beracun pada manusia. Nilai  $LC_{50}$  yang didapatkan dari pengujian toksisitas akan diakumulasikan dengan *software* melalui perhitungan menggunakan program SPSS Versi 25.0 atau program statistik lainnya yang mendukung perhitungan nilai  $LC_{50}$ . Setelah didapatkan data persen kematian pada beberapa konsentrasi (Angelinadkk., 2014).

Nilai  $LC_{50}$  menunjukkan konsentrasi senyawa atau ekstrak yang dapat mematikan hewan uji hingga 50% dibandingkan terhadap kontrol (Angelina dkk., 2014). Perbedaan  $LD_{50}$  dan  $LC_{50}$  adalah  $LC_{50}$  atau *Lethal Concentration* merupakan konsentrasi senyawa bioaktif yang menyebabkan 50% kematian hewan uji dalam jangka waktu yang singkat, sedangkan  $LD_{50}$  adalah dosis tertentu yang dinyatakan dalam miligram berat bahan uji per kilogram berat badan hewan uji yang menghasilkan 50% kematian dalam jangka waktu tertentu (Andriani, 2008). Dosis merupakan banyaknya larutan yang dibutuhkan dalam suatu luasan seperti 5 kg/L, sementara pengertian konsentrasi yaitu banyaknya larutan pengenceran yang diperlukan untuk dapat melarutkan suatu cairan. Pada umumnya semakin tinggi nilai  $LC_{50}$  suatu senyawa maka semakin rendah toksisitasnya, namun sebaliknya, semakin kecil nilai  $LC_{50}$  maka semakin toksik senyawa tersebut (Hasanah dkk., 2019). Kategori nilai  $LC_{50}$  atau kategori toksisitas untuk larva udang yaitu sangat toksik berkisar dari 0,01-1 ppm, cukup toksik berkisar dari 1-10

ppm, sedikit toksik berkisar dari 10-100 ppm, tidak toksik berkisar dari 100-1000 ppm, dan relatif tidak berbahaya >1000 (Surya, 2018).

#### H. Hipotesis

1. Ekstrak etanol herba harendong bulu memiliki banyak golongan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid atau triterpenoid.
2. Ekstrak etanol herba harendong bulu memiliki efek toksisitas terhadap larva udang *A. salina*.

