

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

2.1.1 Definisi Kanker

Kanker merupakan salah satu penyakit utama penyebab kematian di dunia. Pada tahun 2012 diperkirakan terdapat 14 juta kasus baru kanker dan 8,2 juta kematian akibat kanker di dunia (Dewi, 2017). Kanker adalah sel-sel jaringan tubuh yang menjadi ganas yang ditandai oleh pembelahan sel yang cepat dan tidak terkendali yang menghasilkan sel yang serupa dengan sel aslinya, tetapi dalam bentuk yang tidak sempurna dan primitif (Prastiwi, 2012). Berubahnya suatu gen dapat menyebabkan kanker. Ini karena sifat sel yang terus membelah, yang seharusnya membentuk sel baru untuk menggantikan sel lama, tetapi sebaliknya membuat sel yang tidak normal membelah dan tumbuh. Terkadang, sel kanker dapat menyebar dan berkembang ke bagian tubuh lain. Penyebaran sel kanker ini biasanya disebut sebagai tumor kedua atau metastasis (Cancer Research UK). Penamaan sel kanker dapat dilihat dari tempat sel berasal dan di mana sel berkembang (Kelvin, *et al.*, 2011).

2.1.2 Mekanisme Terjadinya Kanker

Di antara fenotip yang tidak biasa yang dapat ditemukan pada sel kanker adalah diferensiasi, peningkatan mortalitas, tingkat invasi, dan sensitivitas terhadap obat. Walaupun ada banyak fenotip, faktor utama adalah disregulasi kontrol terhadap siklus sel. Mekanisme kontrol yang tidak efektif menyebabkan hal ini terjadi. Keadaan ini memungkinkan sel berkembang tanpa mekanisme kontrol yang biasanya terjadi pada sel. Transformasi ini bergantung pada mutasi gen dalam mekanisme yang mengatur siklus sel. Tiga mekanisme umum dapat menyebabkan keganasan. Yang pertama adalah penurunan jumlah sel yang mati karena gangguan pada proses apoptosis atau nekrosis. Yang kedua adalah pertumbuhan yang tidak terkontrol (Budhy, 2019)

2.1.3 Penyebab Kanker

Faktor genetik, karsinogen dan gaya hidup adalah beberapa faktor penyebab kanker (PUSDATIN Kemekes RI, 2015). Selain itu, menurut Dewi (2017) Penggunaan tembakau, obesitas, asupan sayur dan buah yang rendah, aktivitas fisik, konsumsi alkohol, infeksi HPV yang ditransmisikan melalui hubungan seksual, polusi udara, dan pembakaran asap rumah tangga menggunakan bahan bakar padat adalah faktor risiko utama kanker. Ada kanker paru-paru, kolorektum, lambung, dan hati yang disebabkan oleh penggunaan tembakau atau konsumsi rokok, dan kanker payudara dan kolorektal yang dikaitkan dengan kurangnya aktivitas fisik dan obesitas. Untuk risiko infeksi kanker hati, lambung, dan serviks uteri (Dewi, 2017).

2.1.4 Pengobatan Kanker

Dalam kebanyakan kasus, pengobatan kanker terdiri dari lebih dari satu jenis pengobatan, seperti pembedahan yang diikuti radioterapi, atau bahkan kombinasi dari tiga jenis pengobatan operasi, radiasi, dan kemoterapi. (Kirana, 2016). Pembedahan merupakan prosedur untuk mengangkat kanker. Ukuran, lokasi tumor, dan adanya metastasis di jaringan sekitar menjadi penentu jenis operasi yang akan dilakukan. Terdapat 2 jenis operasi yaitu, operasi terbuka atau laparotomi dengan mengangkat jaringan melalui pembedahan. Operasi invasif minimal, yaitu operasi invasif minimal menggunakan beberapa sayatan kecil dan memasukkan alat melalui setiap sayatan (NCCN, 2021). Terapi radiasi menggunakan energi radiasi tinggi dari Sinar-X, foton, elektron, dan sumber lain untuk mengecilkan tumor dan membunuh sel kanker. Terapi radiasi dapat digunakan sebagai perawatan suportif atau perawatan paliatif untuk membantu meringankan rasa sakit atau ketidaknyaman oleh sel kanker. Terapi ini juga diberikan sebelum, selama, atau setelah operasi untuk mengobati dan memperlambat pertumbuhan kanker (NCCN, 2021). Kemoterapi adalah penanganan preparat antineoplastik sebagai upaya untuk membunuh sel-sel tumor dengan mengganggu fungsi dan reproduksi seluler (Sukardja, 2000). Efek samping yang ditimbulkan oleh kemoterapi sangat kuat karena tidak hanya

membunuh sel kanker tetapi juga dapat membunuh sel normal (Kirana, 2017).

2.2 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Mengkudu

Tanaman mengkudu diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : *Morinda*

Spesies : *Morinda citrifolia* L. (Meilyana, 2021)

2.2.2 Morfologi Tanaman Mengkudu

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah pohon yang tingginya antara 4 dan 6 meter. Batangnya berkelok-kelok, dahannya kaku, dan kulitnya coklat keabu-abuan. Daun berwarna hijau tebal dengan bentuk jorong lanset 15-50 x 5-17 cm. Tepi daun rata, serat menyirip, dan tidak berbulu. Akar tunggang tanaman mengkudu berwarna coklat kehitaman. Bunga tanaman mengkudu berwarna hijau saat masih kuncup, tetapi ketika mereka matang, mereka akan berwarna putih dan harum. Buah mengkudu berbentuk bulat lonjong dan memiliki diameter 7,5-10 cm dan terbagi dalam sel-sel polygonal berbintik-bintik di permukaannya. Pada saat buah mengkudu masih hijau, warnanya akan berubah menjadi kuning. Buah yang matang akan lunak dan berwarna putih transparan. Aroma keju busuk dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) karena percampuran asam kaprik dan asam kaproat (Bangan & Sarwono, 2004).



Gambar 2.1 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2024)

2.2.3 Metabolit Sekunder Tanaman Mengkudu

Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid, namun tidak memiliki kandungan terpenoid (Sudewi & Lolo, 2016). Sedangkan menurut Olivia, *et al* (2017) tanaman mengkudu juga memiliki metabolit sekunder berupa antrakuinon. Dengan menghentikan aktivitas protein kinase, metabolit sekunder flavonoid mencegah proliferasi tumor dan kanker. Ini terjadi dengan menghentikan jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti.

2.2.4 Khasiat Tanaman Mengkudu

Dilaporkan bahwa ekstrak tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki beberapa manfaat farmakologis (Sharma *et al.*, 2015). Tanaman Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) memiliki banyak efek terapi, termasuk antivirus, antitumor, anthelmitik, hipotensi, dan peningkatan sistem kekebalan tubuh (Sridevi, *et al*, 2013). Menurut Ahmed, *et al* (2016) Mengkudu telah terbukti memiliki potensi pengobatan untuk beberapa penyakit, seperti diabetes, artritis, infeksi, pilek, dan kanker. Selain itu, mengkudu memiliki aktivitas pembersihan radikal yang tinggi dan sifat antioksidan lainnya.

2.2.5 Mekanisme Mengkudu Sebagai Antikanker

Menurut Haryoto & Firdaus (2022) ekstrak tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia*) dapat dikembangkan sebagai pengobatan kanker. Hal tersebut dikarenakan adanya metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan mengkudu berupa, antrakuinon, flavonoid, dan alkaloid. Mekanisme antikanker dari senyawa antrakuinon adalah dengan cara senyawa antrakuinon menargetkan DNA, beberapa senyawa antrakuinon dapat digunakan untuk pengobatan kanker dengan menargetkan DNA dengan cara mengatasi kerusakan DNA yang disebabkan oleh sel kanker (Tian, *et al.*, 2020). Menurut (Chahar, *et al.*, 2011), sifat antikanker yang signifikan pada flavonoid kemungkinan karena apoptosis. Apoptosis merupakan bentuk aktif kematian sel yang memainkan peran penting dalam perkembangan dan pertahanan hidup dengan menghilangkan sel yang rusak atau tidak diinginkan. Sedangkan kandungan alkaloid, menurut (Habli, *et al.*, 2017) alkaloid pada tumbuhan dapat menghentikan onkogenesis dengan efektif. Alkaloid adalah bagian penting dari beberapa obat antikanker klinis karena kemampuan mereka untuk mengontrol jalur pensinyalan yang bertanggung jawab atas proliferasi, siklus sel, dan metastasis. Alkaloid melawan sel kanker melalui mekanisme molekuler.

2.3 Pembuatan Simplisia

Menurut Midian, *et al.*, (1985) pembuatan simplisia biasanya terdiri dari langkah-langkah berikut: pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan, dan pemeriksaan mutu.

2.3.1 Pengumpulan Bahan Baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada:

1. Bagian tanaman yang digunakan
2. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen
3. Waktu panen
4. Lingkungan tempat tumbuh

Waktu panen sangat berkaitan dengan pembentukan senyawa aktif di bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen adalah saat bagian tanaman mengandung jumlah senyawa aktif tertinggi (Midian, *et al.*, 1985)

2.3.2 Sortasi Basah

Sortasi basah adalah prosedur untuk menghilangkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya, pada simplisia yang dibuat dari akar tanaman obat, bahan-bahan asing, seperti tanah, harus dibuang. Pembersihan sederhana dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal karena tanah mengandung banyak jenis mikroba (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.3 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk membersihkan tanah dari simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, seperti air mata air, air sumur, atau air PAM. Bahan-bahan sederhana yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air harus dicuci secepat mungkin. Jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia sangat dipengaruhi oleh proses sortasi dan pencucian (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.4 Perajangan

Proses perajangan diperlukan untuk beberapa jenis bahan simplisia. Untuk membuat proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan lebih mudah, bahan dibagi menjadi bagian kecil. Setelah tanaman diambil, jangan langsung dirajang; sebaliknya, jemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Ini dapat dilakukan dengan pisau atau dengan alat mesin perajang khusus untuk menghasilkan irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang diinginkan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat air menguap, sehingga proses pengeringan dipercepat. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan zat berkhasiat yang mudah menguap atau hilang, yang berdampak pada komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan. (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.5 Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk menghasilkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan lebih lama. Penurunan mutu atau kerusakan

simplisia akan dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Sederhananya, pengering dilakukan dengan suatu alat pengering. Suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan semuanya harus diperhatikan selama proses pengeringan (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.6 Sortasi Kering

Sortasi setelah pengeringan adalah tahap terakhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda-benda asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan, dan kotoran lainnya yang tersisa di simplisia kering. Sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan, proses ini dilakukan. Sortasi di sini, seperti pada sortasi awal, dapat dilakukan dengan atau secara mekanik (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.7 Penyimpanan

Faktor luar dan dalam seperti cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang dapat menyebabkan simplisia rusak, berkurangnya mutu atau berubah kualitasnya. Kerusakan pada simplisia dapat terjadi selama penyimpanan, yang dapat menyebabkan degradasi mutu, yang berarti simplisia tersebut tidak lagi memenuhi syarat yang diperlukan atau yang ditentukan. Oleh karena itu, beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan penyimpanan simplisia harus diperhatikan. Ini termasuk metode pengepakan, pembungkusan, dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, metode sortasi dan pemeriksaan mutu, dan metode pengawetan. Air dan kelembaban adalah penyebab utama kerusakan simplisia (Midian, *et al.*, 1985).

2.3.8 Pemeriksaan Mutu

Mutu simplisia diperiksa saat diterima atau dibeli dari pengumpul atau pedagang simplisia. Untuk diterima, simplisia harus memenuhi persyaratan umum untuk simplisia, menurut buku farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia, dan Materia Medika Indonesia edisi terakhir. Jika simplisia tersebut dibahas dalam salah satu atau ketiga buku tersebut, simplisia tersebut harus memenuhi persyaratan yang disebutkan dalam paparannya. Memenuhi persyaratan yang disebutkan dalam buku-buku yang

bersangkutan, suatu simplisia dapat dinyatakan bermutu dalam Farmakope Indonesia, Ekstra Farmakope Indonesia, atau Materia Medika Indonesia. Pemeriksaan mutu simplisia dapat dilakukan secara organoleptik, makroskopik, atau kimiawi. Ada beberapa jenis simplisia yang memerlukan uji mutu biologi untuk diperiksa. (Midian, *et al.*, 1985).

2.4 Metode Ekstraksi

2.3.1 Ekstraksi Konvensional

1. Ekstraksi dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah teknik penyarian yang sederhana di mana serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan melewati dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, dan larutan di dalam sel akan terdesak keluar karena ada perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Proses ini berulang hingga konsentrasi larutan di dalam dan di luar sel kembali seimbang. Sederhana yang akan diekstraksi dicampur dengan suhu tertentu dan dimasukkan ke dalam bejana untuk maserasi. Setelah direndam dalam cairan penyari, simplisia tersebut sesekali diaduk. Proses ini berlangsung selama lima hari (Depkes, 1986). Cara ini paling sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan yaitu :

- 1) Karena suhu ekstraksi yang tidak tinggi tidak digunakan, senyawa yang mudah rusak akan tetap terjaga dengan baik.
- 2) Karena wadahnya dapat disesuaikan dengan jumlah sampel yang diekstraksi, jumlah sampel yang diekstraksi dapat dilakukan dalam jumlah yang berbeda. tidak menggunakan peralatan yang diperlukan.
- 3) Maserasi dapat dilakukan dengan wadah apa pun selama tidak bereaksi atau larut dengan pelarut yang digunakan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah teknik penyarian di mana simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan dalam suatu bejana silinder dengan sekat

berpori di bagian bawahnya, dan cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Sel-sel yang dilalui akan melarutkan zat aktif dalam cairan penyari sampai keadaan jenuh. Gerakannya ke bawah disebabkan oleh kekuatan beratnya sendiri dan cairan di atasnya, yang dikurangi oleh daya kapiler yang biasanya menghentikan gerakan kebawah. Keunggulan perlokasi adalah bahwa simplisia selalu dipenuhi dengan pelarut baru. Kelemahan perlokasi adalah bahwa diperlukan banyak pelarut, waktu yang lama, dan pelarut akan sulit mencapai setiap area jika simplisia tidak homogen (Depkes, 1986).

2. Ekstraksi panas

a. Infusa

Infusa adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk mengekstrak zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati. Ini dilakukan dengan membasahi bahan nabati dengan air. Biasanya, bahan ditimbang dua kali lipat, kemudian ditambahkan air secukupnya. Kemudian, dipanaskan dalam tangas air selama lima belas menit pada suhu 90–98 derajat Celcius, sambil diaduk sekali-kali. Ditambahkan melalui ampasnya untuk mencukupi kekurangan air. Secara umum, 10 bagian bahan diperlukan untuk 100 bagian sari (Depkes, 1986).

b. Refluks

Untuk membuat zat aktif yang tahan terhadap pemanasan, ekstraksi refluks digunakan. Alat refluks ini terbuat dari gelas, dan di bagian tengahnya ada lingkaran gelas berbentuk bola atau spiral. Untuk mengekstraksi bahan, alas bulat labu dimasukkan ke dalam cairan penyari dan kemudian dipanaskan. Pada suhu tegak, cairan penyari ini akan mendidih, menguap, dan berkondensasi. Setelah itu turun kembali ke labu dan diekstraksi sekaligus. Proses ini berlanjut sampai bahan tersari sepenuhnya. Proses ini dilakukan tiga atau empat kali selama tiga atau empat jam (Depkes, 1986). Kelebihan metode ekstraksi refluks adalah waktu yang singkat dan kontak terus-menerus dengan pelarut. Namun, kelemahan metode ini adalah suhu yang dapat

berubah-ubah, yang membuatnya tidak efektif dan membutuhkan banyak pelarut (Kiswando, 2017)

c. Destilasi uap air

Untuk membersihkan serbuk simplisia yang terdiri dari bahan-bahan dengan titik didih tinggi pada tekanan normal, destilasi uap dapat digunakan. Kerugian zat aktif dapat terjadi selama pemanasan biasa. Untuk menghindari hal ini, penyarian dilakukan melalui destilasi uap air (Depkes, 1986). Metode penyulingan uap air memiliki kelebihan karena membutuhkan sedikit air dan dapat menghasilkan jumlah minyak atsiri yang cukup besar, yang membuat metode ini efisien dalam penggunaan (Porawati & Kurniawan, 2019)

d. Soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi panas yang berkelanjutan. Alat soxhletasi terbuat dari gelas yang dibagi menjadi tiga bagian. Bagian tengah memiliki pipa di kiri dan kanan untuk menampung serbuk simplisia yang akan diekstraksi, dan bagian lain memungkinkan larutan uap berkondensasi menjadi cairan penyari yang tidak terlalu banyak digunakan. Sementara labu alas bulat di bagian bawah berisi cairan penyari dan ekstrak (Depkes, 1986). Metode ini memiliki kelebihan yaitu tidak memerlukan waktu yang panjang dalam proses ekstraksi. Akan tetapi metode soxhletasi memiliki kelemahan yakni tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabil akibat pemanasan berkepanjangan karena dapat menyebabkan degradasi senyawa. Metode ini memiliki kelebihan, yaitu tidak memerlukan waktu ekstraksi yang lama. Meskipun metode soxhletasi memiliki kelemahan, alat yang digunakan sederhana dan waktu ekstraksi yang relatif singkat; namun, metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabil karena pemanasan berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa. Meskipun metode infusa memiliki banyak kelebihan, itu juga memiliki kekurangan. Infusa tidak dapat disimpan dalam jangka waktu yang

lama karena dapat mengurangi kestabilan senyawa yang terkandung di dalamnya.

2.3.2 Ekstraksi Non-konvensional

1. *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Salah satu metode ekstraksi yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik disebut *Ultrasonic Assisted Extraction* atau sonikasi. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi (≥ 20 kHz). Penggunaan gelombang ultrasonik memungkinkan proses ekstraksi yang lebih cepat karena memungkinkan kontak yang lebih baik antara sampel dan pelarut yang digunakan. Gelombang ultrasonik menggetarkan partikel padat dan cair, yang membuat zat terlarut keluar dari sampel dari fase padat ke pelarut dengan cepat. UAE tidak membutuhkan instrumentasi yang rumit atau mahal, sehingga dapat digunakan baik dalam skala analitis maupun komersial (Akram, 2021).

Energi mekanik yang dihasilkan oleh gelombang ultrasound frekuensi tinggi menyebabkan rongga dalam cairan, yang memulai proses ekstraksi dengan metode UAE. Penyerapan energi menyebabkan ekspansi gelembung. Kemudian pecahnya gelembung mengganggu membran sel, memungkinkan pelarut masuk ke sampel. Terakhir, senyawa dilepaskan ke dalam pelarut yang digunakan. Kadar air dan ukuran partikel sampel, pelarut, derajat kehalusan, frekuensi, dan waktu sonikasi adalah komponen penting untuk mencapai ekstraksi yang efektif dan efisien menggunakan UAE (Akram, 2021).

Kelebihan metode ini adalah mekanisme bantuan ultrasound, yang menjadikannya alternatif yang murah, mudah, cepat, dan efisien dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Kekurangan metode ekstraksi ini adalah suhu yang dapat dipengaruhi; peningkatan atau penurunan suhu dapat meningkatkan atau menurunkan hasil ekstraksi sampel (Mawarda et al., 2020).

2. *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Untuk mengekstraksi bahan bioaktif dari berbagai tanaman, ekstraksi MAE adalah metode ekstraksi non konvensional. Difusi dari sampel ke

pelarut terjadi dengan kecepatan ekstraksi yang tinggi karena panas yang dihasilkan oleh radiasi gelombang mikro yang menghancurkan dinding sel (Sari *et al.*, 2020). MAE memiliki hasil dan kualitas ekstrak yang lebih baik daripada metode ekstraksi konvensional. Selain itu, penggunaan MAE sangat mengurangi waktu ekstraksi dan konsumsi pelarut (Melgar *et al.*, 2019). Beberapa faktor memengaruhi hasil ekstraksi MAE ini termasuk penggunaan pelarut yang tepat, waktu ekstraksi, daya microwave, karakteristik matrix dan ukuran partikel yang akan diekstraksi dengan microwave dapat mempengaruhi perolehan kembali senyawa dan penggunaan temperatur yang tepat. Keuntungan MAE antara lain: waktu ekstraksi relatif cepat, kebutuhan pelarut minimal, lebih akurat dan presisi (Ganzler, 1986). Sedangkan kelemahan MAE yaitu harganya yang mahal dan membutuhkan proses curing (Ulilalbab, 2012)

3. *Pressurized Liquid Extraction (PLE)*

PLE menggunakan pelarut cair untuk ekstraksi pada tekanan tinggi dan suhu yang telah ditentukan sebelumnya. Suhu tinggi menurunkan tegangan permukaan dan viskositas pelarut, memungkinkan difusi yang lebih besar ke dalam matriks biologis. Tekanan tinggi memaksa pelarut masuk ke dalam pori-pori matriks, yang memungkinkan kontak yang lebih baik antara pelarut dan senyawa yang akan diekstraksi. Akibatnya, PLE membutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat dan memerlukan pelarut yang lebih sedikit (Manzoor *et al.*, 2021). Jika dibandingkan dengan metode ekstraksi modern lainnya, metode PLE memiliki beberapa keunggulan, seperti ekstraksi lebih cepat, penggunaan pelarut yang lebih sedikit, dan hasil ekstraksi yang banyak. Namun, kelemahan metode ini adalah biayanya yang mahal.

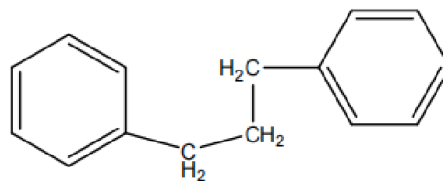
2.4 **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia adalah teknik untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Ini termasuk struktur kimia, biosintesis, penyebaran alami dan fungsi biologis, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai jenis tanaman. Kandungan senyawa kimia suatu

tanaman sangat dipengaruhi oleh lokasinya, suhu, iklim, dan kesuburan tanahnya. Uji fitokimia dapat menggunakan sampel tanaman seperti daun, batang, buah, bunga, dan akarnya. Tanaman-tanaman ini memiliki sifat obat yang bermanfaat dan dapat digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat-obatan modern maupun tradisional (Agustina, *et al.*, 2016). Adapun metabolit sekunder yang dilakukan uji skrining fitokimia meliputi:

2.4.1 Flavonoid

Kelompok polifenol, flavonoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan biosintesisnya. Flavonoid juga termasuk dalam kelompok senyawa fenol yang struktur benzenanya tersubstitusi dengan gugus OH (Seleem *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari lima belas atom karbon. dimana rantai propana (C3) mengikat dua cincin benzena (C6) Flavonoid tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Rompas, 2012).



Gambar 2.2 Struktur Dasar Flavonoid

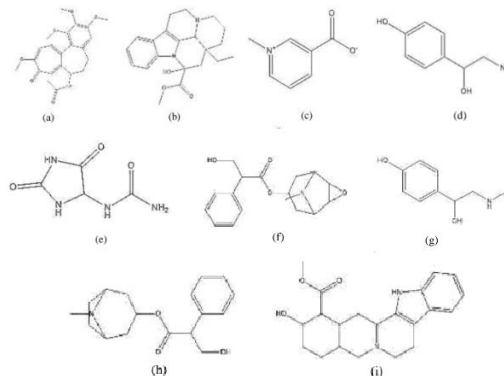
(Sumber: Noer, 2018)

Flavonoid yang ditemukan pada tanaman membantu membuat buah, bunga, dan daun berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan ungu. Famili polifenol yang larut dalam air terdiri dari flavonoid jenis flavon dan flavonol (Ningsih, 2023). Beberapa subkelas flavonoid adalah flavanon, falvon, antochyanidin, isoflavon, dan flavonol. Persamaan sifat-sifat struktural menentukan pembahagian subkelas (Yang *et al.*, 2018).

2.4.2 Alkaloid

Alkaloid menghambat esterase DNA dan RNA polymerase untuk menunjukkan sifat antifunginya (Fatma *et al.*, 2021). Senyawa alkaloid mengandung bahan kimia seperti antrakuinon, glikosida, dan resin yang dapat menembus dinding sel jamur. Akibatnya, proses metabolisme sel jamur terganggu, yang menghentikan pertumbuhan sel dan akhirnya

menyebabkan kematian sel jamur pada konsentrasi tertentu (Utami et al., 2022). Sistem lingkaran heterosiklis terdiri dari hetero atom alkaloid. Semua alkaloid terdiri dari karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen, tetapi beberapa tidak memiliki oksigen (Sumardjo, 2009). Berikut ini adalah contoh struktur alkaloid:



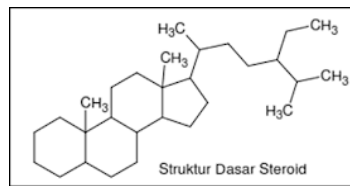
Gambar 2.3 contoh struktur alkaloid: (a) colchicin; (b) vincamine; (c) trigonelline; (d) octopamine; (e) allantoin; (f) scopolamine; (g) synephrine; (h) atropine; dan (i) yohimbine

(sumber: Maisarah, *et al.*, 2018)

Sebagai antifungi, alkaloid merusak membran sel, seperti yang dijelaskan oleh Dewi dan Wuryandari (2019). Ketika alkaloid berikatan kuat dengan ergosterol, mereka membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel, yang menyebabkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel fungi. Secara umum, tindakan suatu bahan kimia sebagai antifungi dapat menyebabkan perubahan yang mengarah pada kerusakan, sehingga menghambat proses penyembuhan (Chatri & Primayani, 2018).

2.4.3 Steroid dan Terpenoid

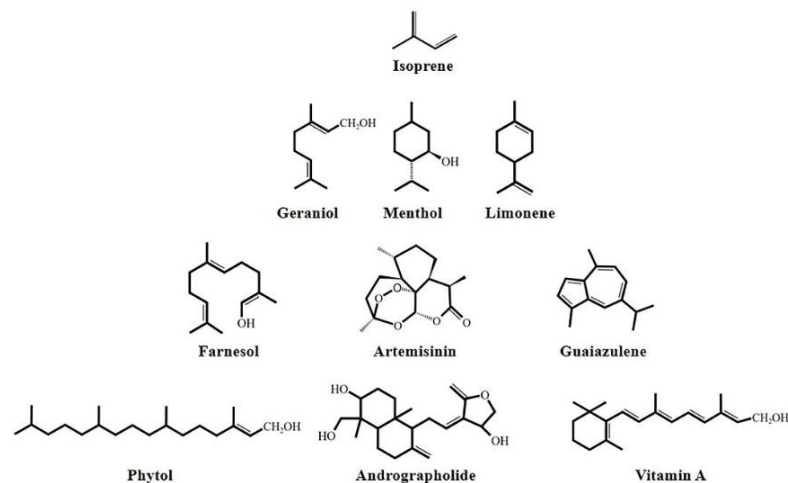
Jenis triterpenoid steroid terdiri dari inti siklopentana perhidrofenantrena, yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Steroid sangat penting untuk mempertahankan keseimbangan garam, mengontrol metabolisme, dan meningkatkan fungsi organ seksual dan fungsi biologis lainnya yang membedakan jenis kelamin. Tanaman telah menunjukkan steroid yang menurunkan kolesterol dan anti-kanker (Nasrudin, 2017).



Gambar 2.4 Struktur Dasar Steroid

(Sumber: Nasrudin, 2017)

Kelompok hidrokarbon yang terutama dihasilkan oleh tumbuhan dan beberapa hewan seperti serangga, terpenoid adalah turunan dari senyawa terpen yang terdehidrogenasi dan teroksidasi. Terpenoid atau isoprenoid memiliki rumus molekul $(C_5H_8)_n$. Ini karena kerangka karbon senyawa isoprena sama. Terpenoid adalah campuran unit isoprena, yang dapat berupa rantai terbuka atau siklik, dan dapat memiliki ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, atau gugus fungsional lainnya. Dalam hal ini, triterpenoid adalah turunan dari senyawa terpenoid. Aktivitas farmakologi signifikan yang ditunjukkan oleh senyawa golongan triterpenoid termasuk aktivitas antiviral, antibakteri, dan antiinflamasi, serta penghentian sintesis kolesterol dan antikanker (Balafif, *et al.*, 2013).



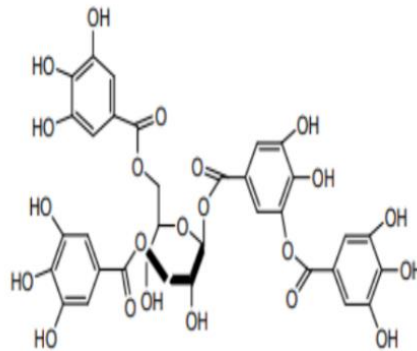
Gambar 2.5 Struktur Terpenoid

(Sumber: Fan, *et al.*, 2023)

2.4.4 Tanin

Salah satu senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman dan disintesis oleh tanaman adalah tanin (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Tanin

memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 dan mengandung banyak gugus hidroksi fenolik, yang memungkinkannya berikatan silang dengan baik dengan protein dan molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat (Fahey & Berger, 1988).



Gambar 2.6 Struktur Tanin

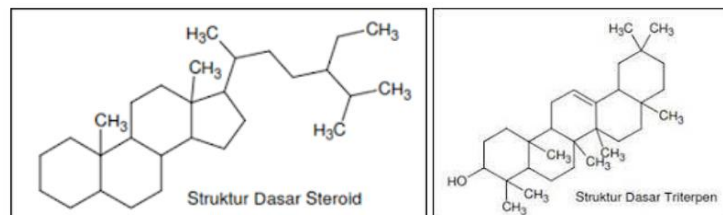
(Sumber: Hersila, *et al.*, 2023)

Tanin terkondensasi, yang berasal dari leguminosa, biasanya lebih kompleks dengan protein daripada tanin terhidrolisis (Fahey & Berger, 1988). Tanin dapat berinteraksi dengan protein dan ada tiga bentuk ikatan yaitu: (1) ikatan hidrogen, (2) ikatan ion, (3) ikatan kovalen. Tanin terhidrolisis dan terkondensasi dengan membentuk ikatan hidrogen antara kelompok fenol tanin dan kelompok karboksil protein (aromatik dan alifatik). Kecernaan protein akan dipengaruhi oleh ikatan tanin-protein yang kuat (Mueller, 2006).

2.4.5 Saponin

Saponin memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan air, yang menyebabkan buih terbentuk pada permukaan air setelah dikocok. Sifat ini mirip dengan surfaktan. Ada senyawa sabun dengan dua bagian yang berbeda yang memiliki kemampuan untuk merusak ikatan hidrogen pada air. Senyawa sabun ini menyebabkan penurunan tegangan permukaan (Dyck, 2010). Struktur kimia saponin adalah glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari sapogenin, seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Menurut Nurzaman (2018), sifat amfifilik ini dapat memungkinkan bahan alami yang mengandung saponin untuk berfungsi sebagai surfaktan.

Saponin disebut sebagai surfaktan alami karena sifatnya yang mirip dengan sabun atau deterjen. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang terikat pada posisi C3 dan C17 (Vincken et al., 2007). Gambar struktur saponin yang berupa steroid dan triterpenoid dapat dilihat pada gambar berikut:

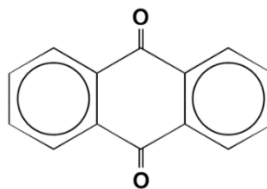


Gambar 2.7 Struktur Molekul Saponin

(Sumber: Putri, *et al.*, 2023)

2.4.6 Antrakuinon

Salah satu metabolit sekunder dari golongan kuinon fenolik adalah senyawa antrakuinon, yang biosintesisnya berasal dari turunan fenol (Ariningsih, *et al.*, 2003). Senyawa antrakuinon, yang merupakan kristal bertitik leleh tinggi, memiliki kemampuan untuk larut dalam pelarut organik dan basa dan menghasilkan warna violet merah (Robinson, 1991). Menurut Setyawaty, *et al.*, (2014) Senyawa antrakuinon dan turunannya sering ditemukan berwarna kuning hingga jingga dan memiliki berbagai manfaat farmakologis, seperti sebagai antijamur, antimalaria, antibakteri, antikanker, dan antioksidan. (Madje, et al., 2010).



Gambar 2.8 Struktur Antrakuinon

(Sumber: 123dok.com)

2.5 *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach adalah bagian penting dari ekosistem laut dan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan. Selain itu, dapat

digunakan dalam uji laboratorium untuk mengidentifikasi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). Adapun *Artemia salina* Leach secara morfologi diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Phylum : Arthropoda
 Class : Crustacea
 Subclass : Branchiopoda
 Ordo : Anostraca
 Family : Artemiidae
 Genus : Artemia
 Spesies : *Artemia salina* Leach (Ramdhini, 2010)



Gambar 2.9 Artemia Salina Leach

(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024)

Panjang tubuh *Artemia salina* Leach. dewasa biasanya sekitar 8–10 mm atau bahkan 15 mm, tergantung pada lingkungannya. Tubuhnya memanjang dengan sedikitnya dua puluh segmen dan dilengkapi dengan sepuluh pasang phyllopodia pipih, yaitu bagian tubuh yang mirip dengan daun yang bergerak secara teratur. *A. salina* Leach. dewasa biasanya hanya hidup beberapa bulan dan berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan. Memiliki dua mata dan mulut pada antenanya (Ramdhini, 2010). Dalam kondisi basah, telur *Artemia salina* Leach berbentuk bulat berlekuk dan bulat penuh. Cangkangnya tebal dan kuat dan memiliki warna coklat. Embryo dilindungi dari benturan keras, sinar ultraviolet, dan kekeringan oleh cangkang ini, yang juga membantu pengapungan. (Ramdhini, 2010). *Artemia salina* Leach. memiliki resistensi luar biasa pada perubahan dan mampu hidup pada variasi salinitas

air yang luas dari seawater (2.9-3.5%) sampai *the great salt lake* (25-35%), dan masih dapat bertoleransi pada kadar garam 50% (jenuh). Beberapa tidak ditemukan di lautan karena terlalu banyak predator di lautan, mereka hanya ditemukan di rawa asin di pedalaman bukit pasir pantai. Selain itu, *Artemia salina* Leach tinggal di kolom evaporasi buatan manusia, yang biasanya digunakan untuk mengambil garam dari lautan. Dengan mengabsorpsi dan mengeluarkan ion yang diperlukan, isang membantunya menyesuaikan diri dengan kadar garam tinggi dan menghasilkan urin pekat dari glandula maxillaris. Mereka juga hidup pada suhu air yang beragam, berkisar dari 6-37°C, dengan suhu reproduksi ideal pada 25°C. Pada daerah dengan kadar garam tinggi, keuntungan hidup terletak pada sumber sedikit (Ramdhini, 2010).

2.6 Uji Sitotoksitas

Kematian sel yang disebabkan oleh unsur-unsur kimia atau mediator sel (sel T sitotoksik) disebut sitotoksitas. Ini biasanya digunakan di dalam laboratorium untuk mengidentifikasi kematian sel tanpa melihat mekanismenya. Bagian penting dari pembunuhan sel-sel kanker adalah aktivitas sitotoksik (Wyllie, 2010). Sifat toksik suatu bahan kimia terhadap sel kanker yang diuji secara in vitro disebut sitotoksitas. Jika sifat toksik ini diuji terhadap sel kanker secara in vivo, bahan kimia tersebut dianggap memiliki aktivitas antitumor. Namun, kata "antikanker" digunakan untuk bahan yang bersifat toksik terhadap sel kanker setelah diuji secara klinis pada manusia (Itharat, 2007)

2.6.1 Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas ekstrak atau senyawa dimulai dengan metode BSLT, yang merupakan metode hayati yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya. Menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter konsentrasi kematian 50 (LC₅₀) adalah cara untuk mengetahui seberapa toksik suatu senyawa. Ekstrak tumbuhan dianggap toksik menggunakan metode BSLT ini jika LC₅₀ <1000 g/ml. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik, maka ekstrak tersebut dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi

senyawa sitotoksik tumbuhan untuk mengembangkan obat antikanker alternatif. Tingkat toksisitas suatu bahan dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.1 Kategori Toksisitas bahan

Kategori	LC ₅₀ (µg/mL)
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

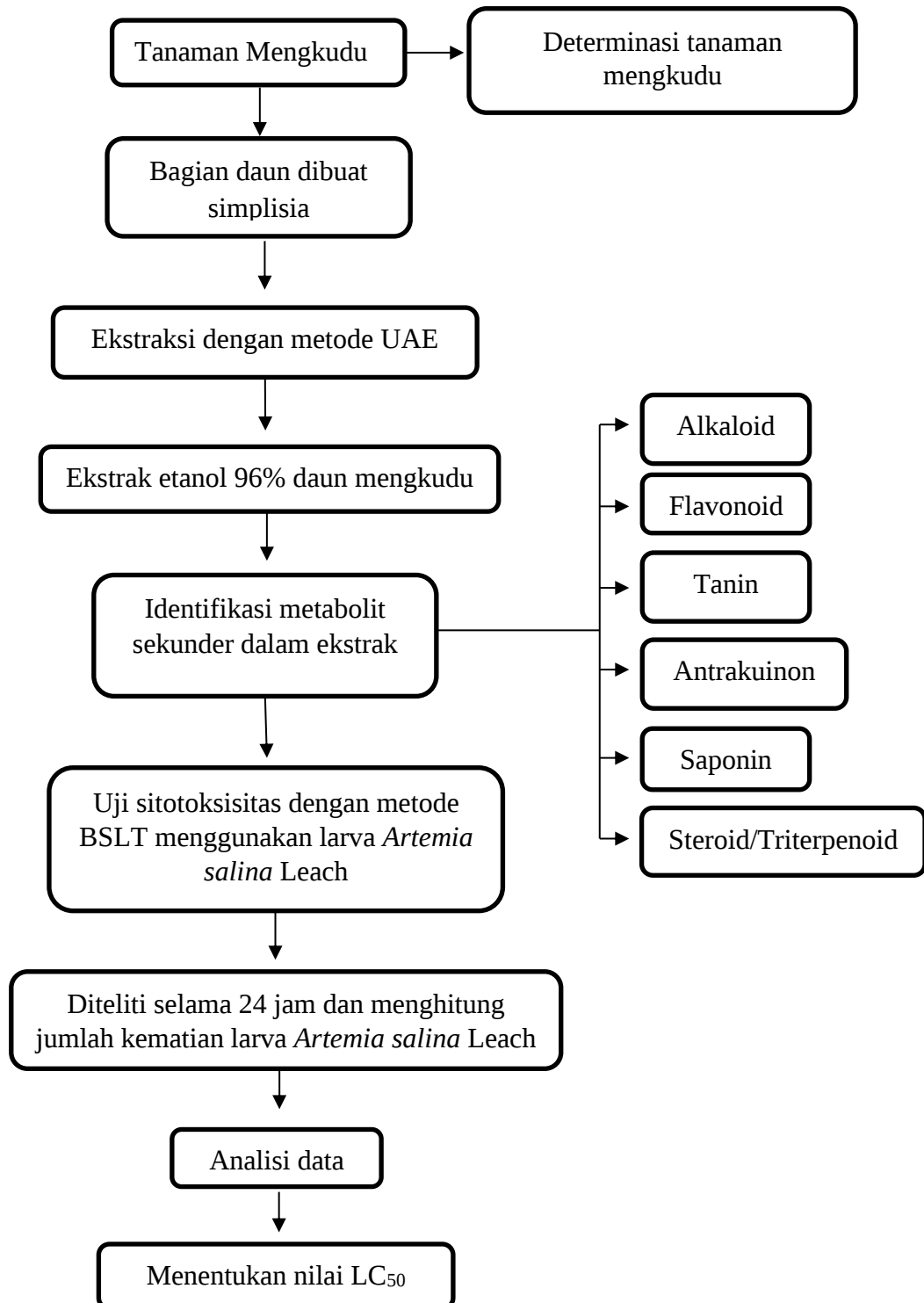
(Sumber: Mutiyani, 2013)

2.6.2 Metode MTT assay (*Microculture Tetrazolium salt*)

Metode MTT assay telah banyak digunakan dalam berbagai bidang. Metode MTT memiliki keunggulan yaitu cepat, sensitif, dan akurat, dan digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar. Hasilnya dapat memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle & Griffiths, 2000). Metode ini bergantung pada perubahan garam tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan yang aktif dalam mitokondria sel hidup. Tetrazolium diabsorpsi oleh sel hidup dan kemudian dipecah oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu (Doyle & Griffiths, 2000).

Nilai inhibisi konsentrasi (IC₅₀) dapat dihitung dengan menggunakan uji MTT. IC₅₀ adalah nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini juga merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel dan menunjukkan bahwa suatu senyawa berpotensi sebagai sitostatik. Semakin tinggi harga IC₅₀, semakin tidak toksik senyawa tersebut. (Meiyanto, *et al.*, 2009).

2.7 Kerangka konsep



Gambar 2.10 Kerangka Konsep