

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Jeruk Lemon

Pohon jeruk berasal dari Asia, pohon jeruk benar – benar tumbuh dengan sangat baik di daerah tropis dan subtropis (Oktafia Adelina & Adelina, 2017). Yang paling terkenal dari 6 genera adalah citrus, tetapi yang lainnya termasuk *Fortunella*, *Poncirus*, *Cymenia*, dan *Eremocitrus*. Jeruk lemon adalah salah satunya. Pohon lemon pertama kali ditanam di Cina selatan dan Burma utara. Pulau Jawa di Indonesia terkenal dengan tanaman lemonnya. Kulit, daging, bunga, dedaunan, dan jus lemon semuanya bisa dimakan.



**Gambar 2.1** Jeruk Lemon

##### 2.1.1 Klasifikasi Jeruk Lemon

Klasifikasi jeruk lemon adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f.

##### 2.1.2 Morfologi Jeruk Lemon

Menurut Wicaksana (2021), tinggi rata – rata pohon jeruk perdu berkisar antara 3,05 hingga 6,09 meter. Batang silindris memiliki bentuk surfacelicin, dan daun lonjong berwarna hijau tua, berselang – seling, bermata rata memiliki ujung meruncing dan panjang 7 sampai 8 cm dan lebar 4 sampai 5 cm. Bunga yang kompleks memiliki kelopak berbentuk bintang berwarna hijau, benang sari yang

panjangnya sekitar 1,5 cm, dan kepala sari berwarna kuning berbentuk seperti ginjal. Tangkai putik silindris panjangnya sekitar 1 cm. Maulida (2019) menyatakan bahwa lemon dicirikan oleh kulitnya yang kasar, daging buah berwarna keemasan, bentuk bulat agak membulat, ketebalan berkisar antara 0,5 cm hingga 7 cm, dan pangkal yang menonjol. Panjangnya berkisar antara 5 dan 8 cm. Bunga putih lemon mengandung arglikosida, yang memberikan aroma yang menyenangkan.



**Gambar 2.2** Pohon Jeruk Lemon (*Citrus limon*)

### **2.1.3 Kandungan Jeruk Lemon (*Citrus limon*)**

Fosfor, kalsium, minyak atsiri limon 70%, bioflavonoid kumarin, *geranyl acetate*, asam sitrat, *linalyl acetate*, serat, dan vitamin C konsentrasi tinggi semuanya ditemukan dalam lemon. Nutrisi lainnya termasuk vitamin A, B1, B2, fosfor, dan kalsium.

Buah ini memiliki 176 gram air, 66% yang dapat dimakan, 0,6% protein, 0,2% lemak, 1,8% gula, dan 7,37% asam organik. Jus membentuk 40% dari 100 gram lemon, pulp 35%, flavedo 10%, dan albedo 12 – 15% dari total padatan (Wicaksana, 2021).

Kulit lemon terdiri dari 2 bagian, bagian luar dan bagian dalam. Seperempat jus lemon mengandung minyak esensial, termasuk limonen, terpineol, asetat geranil, dan linali, selain 5% citral dan limonen. Seperempat lemon mengandung kumarin, glikosida, dan flavonoid. Ada konsentrasi jus lemon 6,26%. Ada sekitar 5% gula dalam jus lemon, yang memberikan rasa lemon.

Beberapa bahan kimia yang ditemukan dalam lemon antara lain :

#### a) Tannin

Protein dapat mengikat dan mengendap atau menyusut saat terkena tanin, yang merupakan bahan kimia astringen dengan rasa pahit karena gugus polifenolnya. Kekeringan dan kerutan pada mulut adalah gejala dari sifat astringen tanin. Komponen fenolik tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 hingga 3000 Da dan larut dalam air.

b) Flavonoid

Tanaman dengan kegunaan terapeutik sering kali mengandung bahan kimia yang disebut flavonoid. Karena kemampuannya untuk mengubah karakteristik fisik dan kimia sitoplasma, mengubah sifat dinding sel bakteri melalui ikatan hidrogen, dan membuat senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, flavonoid bersifat antibakteri. Tindakan ini akan membunuh bakteri dengan mengganggu kapasitasnya untuk menyerap secara selektif, mengangkut secara aktif, dan mengatur komposisi proteinnya.

c) Asam Sitrat

Adanya muatan isotonik dapat merusak jembatan garam, mengubah sifat protein sel bakteri, dan asam sitrat (konsentrasi 7,7 – 7,6%). Asam sitrat bekerja dengan menghambat translasi produk gen tertentu, menghancurkan dinding sel bakteri, dan mengurangi aktivitas enzim bakteri (Maulida, 2019).

## 2.2 Simplisia

Badan Pengawas Obat dan Makanan Nasional (2019) menyatakan bahwa kecuali ditentukan lain, suhu pengeringan simplisia, zat alami yang digunakan untuk pengobatan, tidak melebihi 60°C.

Simplisia botani, hewan, dan pelikan (mineral) adalah tiga divisi utama. Tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan dikenal sebagai simplisia botani. Istilah eksudat tumbuhan mengacu pada berbagai zat, termasuk isi sel yang muncul secara spontan dari tumbuhan, isi sel yang hanya dimuntahkan, dan komponen nabati lainnya yang diisolasi dari tumbuhan tetapi bukan merupakan senyawa kimia murni. (Barus, 2023).

Simplisia harus dibilas dengan baik sebelum diproses kembali, dan harus disimpan di tempat yang kering dan dingin (8 - 15° C). Ada 2 cara untuk merebus simplisia yaitu : infusa (selama 15 menit dengan api kecil) dan dekokta (selama 30 menit dengan api kecil) dengan menggunakan suhu 90°C, logam selain baja tahan karat tidak boleh diunakan alat perebusan. Instrumen simplisia yang paling baik untuk merebus adalah yang terbuat dari porselen, kaca atau keramik. Implisia direndam selama 5 – 10 menit dalam air yang tekah dipanaskan hingga mendidih, ditutup, kemudian didiamkan (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

## 2.3 Ekstrak

Bahan aktif dalam ekstrak terkonsentrasi ketika pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya diuapkan, suatu proses yang dikenal sebagai ekstraksi pelarut. (Marjoni, 2016).

### 2.3.1 Cara Pembuatan Ekstrak

Menggunakan pelarut yang sesuai, ekstrak dibuat dengan maserasi. Untuk ekstraksi metabolit sekunder bubuk simplisia yang optimal, pilih pelarut yang mampu melakukannya. Kecuali ditentukan secara berbeda dalam monograf, etanol 70% harus digunakan.

Tuang 10 bagian pelarut ke dalam maserator dengan 1 bagian bubuk kering simplisia. Sebelum didiamkan selama 18 jam, rendam selama 6 jam sambil diaduk secara berkala. Maserat harus disaring dengan penyaringan, sentrifugasi, atau dekantasi. Setelah menggunakan jenis pelarut yang sama dan setengah volume pelarut yang digunakan pada pengayakan awal, ulangi pengayakan.

Untuk mendapatkan ekstrak yang kental, kumpulkan semua maseratnya dan uapkan dengan *rotary evaporator* hingga padat (Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2022).

## 2.4 Ekstraksi

Dengan menggunakan pelarut yang tepat, ekstraksi dapat didefinisikan sebagai proses menghilangkan komponen dari suatu campuran. Menurut Mukhriani (2014), proses ekstraksi dapat dihentikan jika konsentrasi kimiawi dalam pelarut sesuai dengan yang ada pada sel tumbuhan.

Pemanasan ekstraksi dibagi menjadi 2 macam yaitu :

### a) Ekstraksi cara dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi adalah cara mudah untuk mengekstrak metabolit dengan sedikit degradasi atau kerusakan dengan merendamnya dalam pelarut pada suhu kamar

#### 2. Perkolasi

Proses perkolasi melibatkan pelarutan simplisia dengan terus – menerus melewatkannya melalui pelarut yang berbeda dari yang biasanya digunakan.

b) Ekstraksi cara panas

1. Soxhletasi

Salah satu cara untuk mengekstrak senyawa adalah dengan menggunakan alat soxhlet dan pelarut organik yang dipanaskan hingga mendidih. Istilah untuk jenis ekstraksi ini adalah ekstraksi berkelanjutan.

2. Refluks

Metode refluks melibatkan pemanasan pelarut hingga titik didihnya, kemudian menggunakan pelarut dalam jumlah tetap untuk jangka waktu tertentu sementara pendingin balik menjaga konsentrasi pelarut relatif konstan. Senyawa yang sensitif terhadap panas dapat dipecah menggunakan proses ini.

3. Infusa

Sediaan cair yang dikenal sebagai infus dibuat dengan merendam simplisai sayuran dalam air yang dipanaskan hingga 90°C selama 15 menit.

4. Dekok

Mirip dengan infus, rebusan melibatkan pemanasan ekstrak ke titik di mana ia mendidih, namun durasi ekstraksi adalah 30 menit daripada titik didih air.

5. Destilasi (Penyulingan)

Bahan kimia yang menguap saat terkena air dapat diekstraksi melalui distilasi (Aprilyanie dkk. 2023).

## 2.5 Toksisitas

Studi tentang bagaimana bahan kimia membahayakan makhluk hidup dikenal sebagai toksikologi. Paparan adalah langkah pertama dalam rantai yang sering dimulai dengan paparan, berlanjut dengan distribusi dan metabolisme (seringkali termasuk DNA dan protein), dan berpuncak pada ekspresi zat berbahaya. Dalam kebanyakan kasus, peristiwa molekuler tunggal digunakan untuk menggambarkan toksisitas. Efek samping ini dapat berkisar dari iritasi kulit ringan hingga kerusakan hati yang serius, kelainan bawaan, atau bahkan kematian (Berniyanti, 2018).

Istilah toksisitas menggambarkan dampak merugikan dari bahan kimia atau obat pada organ tertentu. Pemberian molekul kimia kepada makhluk hidup memiliki risiko toksisitas yang melekat. Zat beracun adalah zat yang memiliki kemampuan menyebabkan kerusakan pada organisme hidup.

Kemampuan suatu zat untuk membahayakan makhluk hidup dikenal sebagai toksisitasnya. Dengan demikian, tingkat toksisitas melekat pada semua senyawa, termasuk obat – obatan.

Untuk menentukan apakah suatu obat berbahaya bagi organisme hidup dan untuk mengumpulkan data yang representatif tentang hubungan antara dosis dan reaksi, para ilmuwan melakukan uji toksisitas (Aprilyanie dkk., 2023)

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2022).

Tiga kategori utama uji toksisitas adalah :

a) Uji toksisitas akut

Pengujian ini dikembangkan untuk memastikan toksisitas jangka pendek suatu zat saat terpapar atau diberikan dengan dosis tertentu. Untuk melakukan tes ini, hewan diberi konsentrasi tunggal zat yang sedang diselidiki. Dosis yang dianjurkan mencakup keseluruhan dari tingkat yang sangat rendah yang tidak berpengaruh pada hewan uji hingga tingkat yang sangat tinggi yang berdampak buruk pada semua hewan uji. Kecuali ditentukan lain, durasi khas pengamatan adalah satu hari (Simangunsong, 2018).

Waktu paruh bahan kimia, atau  $LD_{50}$ , dapat ditemukan dengan menggunakan studi toksisitas akut. Salah satu jenis pengujian praklinis adalah uji toksisitas akut, dimana tujuannya adalah untuk mengetahui seberapa berbahayanya suatu obat dalam jangka waktu tertentu setelah pemberian dosis (Jumain, 2018).

b) Uji toksisitas sub-kronik

Hewan menjalani banyak evaluasi dalam waktu singkat (kurang dari tiga bulan) setelah menerima zat kimia. Selain menentukan apakah efek toksik dari bahan kimia uji bergantung pada dosis, tes ini juga akan menunjukkan berbagai efek berbahaya yang ditimbulkan oleh obat tersebut.

c) Uji toksisitas kronik.

Untuk melakukan ini, hewan uji secara teratur diberi obat setidaknya selama tiga bulan, dan kadang – kadang selama sebagian besar hidup mereka. Dibandingkan dengan uji toksisitas akut dan toksisitas sub-akut, uji ini memakan waktu lebih sedikit, namun masih lebih lambat (Simangunsong, 2018).

Selanjutnya, uji toksisitas praklinis in vivo berikut ini diwajibkan oleh BPOM :

a) Uji Teratogenitas

Tes teratogenitas adalah salah satu cara untuk mempelajari potensi cacat lahir yang mungkin terjadi ketika zat tertentu diberikan kepada wanita hamil selama organogenesis.

Kelainan janin, seperti yang mempengaruhi kerangka, jaringan lunak, dan tubuh luar, dapat ditemukan dengan menggunakan tes teratogenitas, yang berupaya mengumpulkan data tentang obat – obatan yang menyebabkan masalah ini saat diberikan pada embrio.

b) Uji Karsinogenitas

Tujuan dari uji karsinogenitas adalah untuk mengetahui apakah suatu zat tertentu berpotensi karsinogenik atau tidak. Untuk melakukan ini, persiapan pengujian diberikan kepada hewan di lingkungan yang terkendali dengan beberapa dosis yang tersebar selama masa pakainya.

Tujuan berikut dicapai dengan melakukan uji karsinogenitas untuk menentukan apakah suatu bahan memiliki kemampuan untuk meningkatkan kejadian neoplasma, meningkatkan proporsi neoplasma ganas, atau mengurangi waktu kemunculan neoplasma; untuk menentukan organ mana yang paling terpengaruh oleh karsinogenitas zat; untuk menentukan kapan neoplasma pertama kali muncul; untuk mengkarakterisasi hubungan dosis-respons; dan untuk memberikan bukti yang mendukung teori tentang efek zat (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2022).

## 2.6 BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji BSLT merupakan salah satu metode penentuan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan jentik udang yaitu *Artemia salina* (Simangunsong, 2018). Pada dosis tertentu, jumlah larva udang yang dibunuh oleh ekstrak atau senyawa bahan alami merupakan indikator yang baik dari aksi toksiknya. "hasil pengujian dinyatakan sebagai  $LC_{50}$ " (Hasanah dkk., 2018), menunjukkan bahwa BSLT dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat anti-kanker. Kurang dari 1000 g/ml dianggap sebagai harga  $LC_{50}$ , suatu zat dianggap berbahaya menurut pendekatan BSLT (Marliza et al, 2021).

$LC_{50}$  adalah konsentrasi bahan kimia dimana 50% hewan dalam percobaan akan mati setelah waktu tertentu berlalu. *Part per million* (ppm) adalah satuan pengukuran untuk laju ini, yaitu mg bahan kimia per meter kubik media uji. (Aprilyanie dkk., 2023).

Karena biayanya yang rendah, kemudahan aplikasi (tidak ada persyaratan untuk kondisi aseptik), dan keandalannya, pendekatan ini sering digunakan untuk pra-penyaringan bahan kimia aktif yang ditemukan dalam ekstrak tumbuhan. Jumlah larva yang dibunuh pada dosis tertentu dapat digunakan untuk mengukur karakteristik sitotoksik suatu senyawa. (Widyastuti dkk., 2019).

## 2.7 Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

Sarcopenia pada awalnya, Larva dikenal sebagai *Cancer salinus linnaeus*. Leach kemudian berubah menjadi *Artemia salina* pada tahun 1819. Di antara udang primitivis adalah Artemia, sering dikenal sebagai udang air asin



**Gambar 2.3** Udang *Artemia salina* Leach

### 2.7.1 Klasifikasi (*Artemia salina* Leach)

Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustaceae</i>
Subkelas	: <i>Branciopoda</i>
Ordo	: <i>Anostraca</i>
Famili	: <i>Artemidae</i>
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach

### 2.7.2 Morfologi *Artemia salina* Leach

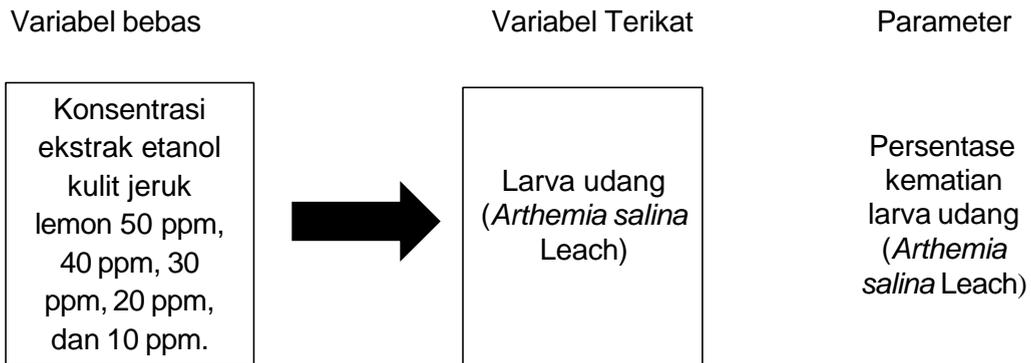
Artemia sering terlihat sebagai kista berbentuk telur berwarna abu – abu kecoklatan saat diam; ukuran kista dapat berkisar dari diameter 200 – 350 mikron. Rata-rata, antara 200.000 dan 300.000 kista membentuk 1 gram Artemia kering.

Baru menetas nauplius adalah nama yang diberikan untuk artemia. Nauplius yang baru terbentuk berukuran panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg; memiliki bentuk bulat lonjong dan berwarna jingga.

Artemia dewasa biasanya berukuran panjang 8 – 10 mm dan memiliki 11 pasang torakopoda, antena untuk penginderaan, jalur pencernaan yang terlihat

jasas, dan tangkai mata di setiap sisi kepala. Artemia pada dasarnya adalah omnivora.

## 2.8 Kerangka Konsep



## 2.9 Definisi Operasional

- a) Ekstrak etanol kulit jeruk lemon  
Pembuatan ekstrak kulit jeruk lemon pekat menggunakan proses maserasi dan pelarut etanol 96% disebut simplisia
- b) Konsentrasi ekstrak etanol kulit jeruk lemon  
Hewan percobaan dipelihara dalam larutan air laut 5 ml dengan konsentrasi 50, 40, 30, 20, dan 10 ppm.
- c) Konsentrasi 50 ppm  
Dibuat dengan menggabungkan 25 ml air laut dengan 1,25 ml ekstrak etanol kulit jeruk lemon.
- d) Konsentrasi 40 ppm  
1 ml ekstrak etanol kulit jeruk lemon dan 25 ml air laut diperlukan untuk persiapannya.
- e) Konsentrasi 30 ppm  
Untuk menyiapkannya, campurkan 0,75 ml ekstrak etanol kulit jeruk lemon dengan 25 ml air laut.
- f) Konsentrasi 20 ppm  
Dibuat dengan menggabungkan 25 ml air laut dengan 0,5 ml ekstrak etanol kulit jeruk lemon.
- g) Konsentrasi 10 ppm  
Dibuat dengan menggabungkan 25 ml air laut dengan 0,25 ml ekstrak etanol kulit jeruk lemon.

h) Larva udang (*Artemia salina* Leach)

Tujuan melakukan uji toksisitas akut pada makhluk tersebut, digunakan Uji BSLT. Larva udang (*Artemia salina* Leach) yang digunakan dalam penelitian ini berumur 48 jam dan dibudidayakan di media hidup yaitu air laut.

i) Persentase kematian larva udang (*Arthemia salina* Leach)

Proporsi kematian dihitung dengan membagi jumlah total jentik mati dengan jumlah jentik udang uji kemudian dikalikan hasilnya dengan 100%.

## 2.10 Hipotesis

BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon berbahaya bagi larva udang (*Artemia salina* Leach).