BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan

Tanaman Pare hutan termasuk dalam kelompok bangsa *Cucurbitaceae*, Pare Hutan adalah jenis pare yang tumbuh liar, buahnya kecil dan rasanya yang pahit (Oktofiani et al., 2021). Tanaman ini tersebar luas di daerah iklim tropis dan tumbuh baik di dataran rendah. Dapat juga ditemukan tumbuh di tanah terlantar, rawa-rawa, dan juga dapat dibudidayakan dan ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar untuk diambil buah dan daunnya. Tanaman ini tidak membutuhkan banyak sinar matahari sehingga dapat hidup dengan baik di tempat yang terlindungi (Suriyawati, 2018).

Terdapat tiga macam tumbuhan pare diantaranya pare gajih, pare kodok dan pare hutan. Pare gajih mempunyai daging buah yang tebal, berwarna hijau muda keputihan, berukuran besar dan panjang, serta memiliki rasa yang tidak begitu pahit. Pare kodok buahnya berbentuk bulat pendek, rasanya pahit. Pare hutan adalah pare yang dapat berkembang secara liar dengan buah kecil dan rasanya yang pahit (Cahyadi, 2009).

Gambar 2.1. Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina*)
(Sumber : Dokumen Pribadi)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Tanaman pare hutan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Magnoliopyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Bangsa : *Cucurbitales*
Keluarga : *Cucurbitaceae*
Marga : *Momordica*
Jenis : *Momordica balsamina*

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman pare memiliki nama yang berbeda-beda di beberapa daerah di antaranya, paria (Bugis Makassar); pare pahit, paria, pare, pepareh (Jawa); Paya, paria, truwuk, paita, paliak, pariak, pania, pepule (Nusa Tenggara); Poya, pudu, pentu, paria belenggede, palia (Sulawesi); pepare, kambeh, paria (Sumatra) (Kusuma, 2014).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Menurut morfologi, tanaman pare hutan mempunyai batang berstruktur tidak berkayu, berwarna hijau, beralur lima dan permukaan batang tegak. Tanaman pare hutan mempunyai panjang batang kurang lebih 2-5 meter dan mempunyai banyak cabang, tanaman muda dengan rambut lebat, yang akan menghilang setelah tua. Akar tumbuhan pare hutan merupakan akar tunggang dengan bentuk mengerucut dan bercabang banyak. Akar tanaman pare hutan berwarna putih kekuningan (Maghfoer dkk, 2019).

Pare hutan merupakan tumbuhan berdaun tunggal, panjang tangkai 1,5-5,3 cm, berseling, elips, rasio daun terbagi 5- 7, pangkal daun berbentuk jantung dengan panjang sekitar 3,5-8,5 cm, dan lebar 2,5-6 cm berwarna hijau tua. Tanaman pare hutan memiliki bunga bertipe tunggal, dan setiap pohon mempunyai dua jenis kelamin yaitu bunga jantan dan betina. Tangkai bunga jantan panjangnya sekitar 2-5,5 cm, sedangkan bunga betina memiliki panjang 1-10 cm. Kelopak berbentuk lonceng dan mahkota berwarna kuning. Bentuk buah pare hutan jenis ini berukuran kecil, berwarna hijau dan bergerigi. Selain itu, terdapat biji pipih dengan

alur tidak beraturan dan biji yang keras berwarna coklat kekuningan, yang dimana akan dibutuhkan untuk memperbanyak tanaman pare hutan (Iswanto, 2022).

2.2 Simplisia

Berdasarkan kitab materi medika Indonesia, definisi simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan menjadi obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia botani, simplisia hewani serta simplisia pelikan (mineral). Simplisia botani adalah simplisia yang berupa tanaman utuh bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara impulsif keluar berasal tumbuhan atau isi sel yg dengan cara eksklusif dimuntahkan berasal selnya atau senyawa nabati lainnya yang menggunakan cara eksklusif dipisahkan dari tumbuhannya serta belum berupa senyawa kimia murni (Hujjatusnaini., 2021).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi ialah suatu proses pemisahan satu atau beberapa zat yg bisa larut berasal suatu kesatuan yang tidak mampu larut dengan donasi bahan pelarut. Ekstrak merupakan sedian kering, kental atau cair dibuat menggunakan menyari simplisia nabati botani berdasarkan cara yg cocok, diluar dampak cahaya surya eksklusif. Sesuai prosesnya, ekstraksi dibedakan sebagai berikut: ekstraksi cara dingin serta cara panas. Ekstraksi cara dingin ialah tidak adanya proses pemanasan. Metode ekstraksi cara dingin terbagi atas: maserasi, perlokasi. Sedangkan Ekstraksi cara panas merupakan meningkatkan kecepatan. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas penyarian, refluks, soxhletasi, infusa, dekok, destilasi.

2.4 Maserasi

Maserasi ialah metode ekstraksi paling sederhana. Proses maserasi artinya proses menggabungkan bahan yg sudah dihaluskan menggunakan bahan ekstraksi. Metode ekstraksi maserasi mempunyai kelebihan sebab pengerjaan serta alat yang digunakan lebih sederhana. Proses pengekstrakan simplisia dilakukan dengan memakai suatu pelarut,

menggunakan beberapa kali pengadukan di temperatur ruang (kamar) yaitu di suhu 20ºC - 25ºC (Hujjatusnaini., 2021).

2.5 Skrining Fitokimia

Skrining Fitokima merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu.

a. Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Dengan rumus kimia $C_3H_4N_2$
b. Flavonoid tersusun dari dua cincin aromatis yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan C_6-C_3-C_6
c. Glikosida adalah suatu disakarida yang dibentuk dari monomer-monomernya yang berupa unit glukosa dan fruktosa, dengan rumus kimia $C_{12}H_{22}O_{11}$
d. Saponin adalah senyawa dalam bentuk glikosida yang terbesar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin tersusun atas C_{27} dengan molekul karbohidrat
e. Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar serta terdiri dari gugus hidroksi (-OH) dan Karboksil (-COOH)
f. Triterpenoid adalah kelompok senyawa kimia yang terbentuk dari tiga unit terpena dengan rumus kimia $C_{30}H_{48}$ (Depkes.,1980).

2.6 Toksisitas

Toksisitas bisa diartikan menjadi cabang ilmu pengetahuan yang bekerjasama menggunakan zat toksik atau racun yang bisa menyampaikan dampak jelek bagi tubuh. Penelitian tentang toksisitas dilakukan bukan hanya melindungi insan dan lingkungan asal dampak-imbas zat toksik akan tetapi pula memfasilitasi pengembangan ilmu toksik yg lebih selektif mirip obat kanker serta obat-obat klinis lain, serta pestisida.

Metode yang dikembangkan pada pengujian toksisitas buat mencari bahan alam yg berpotensi menjadi bahan antikanker, salah satunya adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diusulkan menjadi bioassay sederhana buat memonitor adanya

kegiatan farmakologis berasal suatu ekstrak bahan alam. Metode ini mempunyai beberapa kelebihan yaitu, cepat, murah, sampel yg diperlukan cukup sedikit serta sederhana. Metode ini bisa dimanfaatkan menjadi bioassay pendahuluan sebelum dilanjutkan ke termin uji yang lebih rumit buat aktivitas farmakologis eksklusif (Kurniawan & Ropiqa, 2022).

Secara umum uji toksisitas dibagi menjadi tiga kategori, yaitu:

a. Uji toksisitas akut

Uji ini didesain buat menentukan dampak toksik suatu senyawa waktu terpapar dalam waktu singkat atau waktu konsentrasi tunggal senyawa uji diberikan pada hewan uji. takaran konsentrasi yang direkomendasikan setidaknya empat taraf konsentrasi, asal konsentrasi terendah yang hampir tidak membunuh hewan uji hingga konsentrasi tertinggi yg membunuh seluruh atau hampir seluruh hewan uji. Pengamatan umumnya dilakukan selama 24 jam, tetapi pada beberapa kasus berlangsung selama 7 s.d 14 hari.

b. Uji toksisitas subkronis atau subakut

Pengujian ini dilakukan menggunakan bahan kimia uji secara berulang-ulang pada binatang uji selama kurang dari 3 bulan. Tujuan pengujian ini adalah untuk membagikan spektrum efek toksik dari kombinasi uji serta melihat apakah spektrum toksisitas berhubungan dengan dosis konsentrasi.

c. Uji toksisitas kronis

Pengujian ini dilakukan menggunakan cara pemberian bahan kimia secara berulang-ulang pada hewan uji selama 3 bulan atau hampir sepanjang hidupnya. Meski penelitiannya lebih singkat, tetapi masih lebih lambat dari uji toksisitas akut serta subakut.

Toksisitas akut dapat diukur sebagai jumlah atau konsentrasi yang membunuh 50% hewan dalam populasi uji. Jumlah ini sering didefinisikan sebagai LC_{50} (mematikan konsentrasi 50) atau LD_{50} (mematikan dosis 50). LD_{50} dan LC_{50} dapat didefinisikan sebagai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) adalah konsentrasi zat yang diberikan sekali atau beberapa kali dalam 24 jam. LD_{50} (*Lethal Dose 50*) adalah dosis dalam miligram bahan uji per kilogram berat badan makhluk hidup yang, jika beberapa zat diberikan secara bersamaan di suatu lingkungan, menyebabkan kematian 50 persen makhluk hidup. berkontribusi terhadap lingkungan segera (Puspitasari et al., 2018).

Tabel 2.1 Klasifikasi Toksisitas

Tingkatan	Klasifikasi	LD_{50}(mg/kg)	LC_{50}(ppm)
1	Supertoksik	<1	<10
2	Amat sangat toksik	1-50	10-100
3	Sangat toksik	50-100	100-1000
4	Toksik sedang	500-5000	1000-10.000
5	Tidak toksik	5000-15.000	10.000-100.000
6	Tidak berbahaya	>15.000	>100.000

(sumber : BPOM, 2014)

Penentuan nilai LC_{50} dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya:

a. Cara farmakope Indonesia (FI edisi III Tahun 1979)

Untuk menghitung LD_{50} dengan cara ini, harus dipenuhi beberapa syarat seperti:

i. Menggunakan seri dosis atau konsentrasi yang berkelipatan tetap
ii. Jumlah hewan percobaan atau biakan jaringan tiap kelompok harus sama
iii. Dosis harus diukur sedemikian rupa supaya memberikan respon dari 0-100 % dan hitungan dibatasi rentang tersebut.

Rumus perhitungan LD_{50}, adalah

$m=a-b\ (\sum pi - 0{,}5)$

$m=\log LD_{50}$

a= logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok

b= beda log dosis berurutan

pi= jumlah hewan yang mati menerima dosis dibagi jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis

b. Thompson- Well

Metode Thompson-Well adalah metode yang umum digunakan untuk mengukur toksisitas suatu senyawa. Metode ini dipilih karena menawarkan tingkat kepercayaan yang relatif tinggi dan hasil yang akurat serta tidak memerlukan uji coba yang banyak.

Rumus:

Log m=log D+ d (f+1)

Keterangan:

m = nilai LD_{50}

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log dari kelipatan dosis

f = suatu nilai dalam tabel Well, karena angka kematian tertentu(r)

c. Metode probit

Metode probit adalah analisis yang menggunakan hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategoris (kualitatif) dan variabel independen yang bersifat kualitatif dan kuantitatif. Beberapa hal yang perlu diperhatikan saat menghitung LD_{50} atau LC_{50} menggunakan metode Probit antara lain:

i. Menentukan nilai probit dari % kematian tiap kelompok hewan uji
ii. Menentukan nilai log dosis dari tiap-tiap kelompok
iii. Menentukan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log dosis, Y=mX+b
iv. Memasukkan nilai 5 (probit dari 50 % kematian hewan coba) pada persamaan garis lurus, pada nilai Y. Nilai LD_{50} atau LC_{50} dihitung dari nilai antilog X pada saat Y=5

d. Reed dan Muench

Metode ini menggunakan nilai nilai kumulatif. Diasumsikan bahwa hewan yang mati pada dosis tertentu juga akan mati pada dosis yang lebih tinggi dan hewan yang bertahan pada dosis tertentu akan bertahan pada dosis rendah. Agar dapat menggunakan cara Reed dan Muench, yang harus dihitung terlebih dahulu adalah:

a = Persentase kematian yang lebih kecil dari 50%

b = Persentase kematian yang lebih besar dari 50%

i = kenaikan dosis (logk/s)

k = dosis yang menyebabkan kematian > 50

s = dosis yang menyebabkan kematian <50%

h = ukuran jarak $\frac{50\%-a}{b-a}$

g = hasil perkalian antara kenaikan dosis dengan ukuran jarak (h x i)

Y = hasil penjumlahan antara g dengan log s .

Kemudian dicari persamaan Y = g + log s, sehingga nilai LD_{50} dapat diketahui dengan menentukan nilai antilog Y (Fatimatuzzahra, 2014).

2.7 Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam memandu pencarian senyawa antikanker yang berasal dari tumbuhan. Beberapa kelebihan metode ini ialah mudah, relatif, murah, dan tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam pelaksanaannya dan memiliki hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi (95 %) untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak tanaman. Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva Artemia salina leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan. Suatu ekstrak atau senyawa bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas toksik melalui metode BSLT jika nilai LC_{50}< 1000 µg/ml.

2.8 Larva Udang *Arthemia salina* Leach

Artemia Salina Leach adalah kelompok *crustacea* milik keluarga arthropoda. Mereka berkerabat dekat dengan zooplankton lain seperti siput dan kutu air. *Artemia Salina* Leach hidup di danau garam (air asin) di seluruh dunia. Spesies udang ini mentolerir berbagai salinitas, dari hampir segar hingga jenuh. Tentu saja, salinitas danau yang mereka tinggali dapat sangat bervariasi tergantung pada curah hujan dan penguapan.

Filum : *Arthropoda*
Kelas : *Crustacea*
Bangsa: *Anostraca*
Suku : *Artemidae*
Marga : *Artemia*
Jenis : *Artemia salina* Leach (Setiawan, 2017)

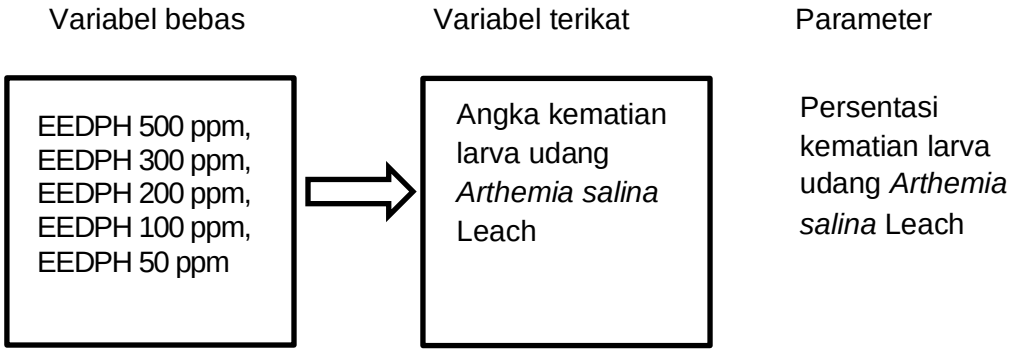
Tingkat hidup *Artemia salina* Leach mengalami beberapa tingkatan, tetapi secara jelas dapat dilihat dalam 3 bentuk yang sangat berlainan yaitu bentuk telur, nauplius (larva) dan artemia dewasa. Secara berkala, pada saat air laut atau danau menguap, partikel partikel yang berwarna coklat, berdiameter sekitar 0,2-0,3 mm akan naik ke permukaan, oleh angin akan dibawa hanyut ke darat. Partikel tersebut merupakan telur-telur yang inaktif atau tidur dari *Artemia salina* Leach. Sepanjang telur-telur tersebut terhidrasi dan dalam keadaan *dispauze*, akan memiliki ketahanan dan kestabilan dalam penyimpanan yang lama. Jika telur-telur tersebut (yang embrionya dalam keadaan *dispauze*) direndam dalam larutan bergaram (air laut), telur akan

menyerap air laut hingga menggembung. Proses penyerapan ini berlangsung secara hiperosmotik yaitu adanya tekanan osmosis di dalam telur yang lebih tinggi daripada diluarnya (Mudjiman, 1988).

Setelah telur menggembung dan metabolisme 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, banyak mengalami metamorfosis. 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 mereka sudah mencari makanan. Demikian seterusnya sampai Instar XV. Setelah itu berubah menjadi artemia dewasa. Proses ini biasanya berlangsung 1-3 minggu (Mudjiman, 1988).

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 masingmasing mempunyai sepasang kaki renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* Leach dewasa bentuknya telah sempurna. Reproduksi *Artemia salina* Leach dapat dengan bertelur atau dengan melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan faktor 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, 1988).

2.9 Kerangka Konsep



2.10 Definisi Operasional

a. Ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*): sediaan ekstrak kental dari simplisia nabati (*Momordica balsamina*) dengan cara mengekstraksi daun pare hutan kering dengan pelarut etanol 70 % dengan metode maserasi.
b. Konsentrasi ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500,300,200,100,50 ppm yang larut dalam volume akhir 9 ml air laut sebagai media hidup hewan percobaan.
c. Skrining Fitokima merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu. Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaann kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, tanin, saponin dan glikosida.
d. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT): metode uji toksisitas akut dengan cara memaparkan ekstrak ke dalam media hidup larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba dan digunakan sebagai uji hayati sederhana untuk penelitian bahan alam.
e. *Artemia salina* Leach: sejenis udang-udangan primitif yang termasuk dalam filum *Arthropoda* yang digunakan sebagai hewan percobaan pada uji toksisitas akut dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Usia larva udang *Artemia salina* Leach yang digunakan dalam penelitian ini adalah 48 jam dengan media hidup yaitu air laut.

f. *Lethal consentration 50* (LC_{50}): merupakan konsentrasi ekstrak dalam lingkungan di mana hewan uji yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan. Dalam penelitian ini *Lethal consentration 50* (LC_{50}) adalah konsentrasi ekstrak etanol daun pare hutan didalam air laut pada setiap tabung uji yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % larva udang *Artemia salina* Leach.

2.11 Hipotesis

H1: Ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*) memiliki efek toksisitas terhadap larva udang *Arthemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).