BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina)*

2.1.1 Definisi Pule Pandak

Tumbuhan pule pandak merupakan herbal yang sangat terkenal digunakan untuk menenangkan saraf. Akar atau bubuknya diminum dengan teh atau susu. Sejak zaman pra-Weda, pule pandak telah digunakan untuk tujuan medis tradisional. Dalam Ayurveda, *Rauvolfia serpentina* disebut sebagai *Sarpagandha*. *Rauvolfia serpentina*, juga dikenal sebagai pule pandak, biasanya disebut dengan istilah Jawa "Pulai Pandak", namun lebih sering dikenal dengan istilah Sumatera "Akar Tikus". "*Yin tu lou fu mu*" yang merupakan frasa yang digunakan di Cina, sedangkan dalam bahasa inggris disebut '*Serpent wood* atau *serpentine*'. "*Chandrika chhota chand* dan *Sarpagandha*" merupakan istilah yang digunakan di India dan Pakistan (Ratih & Warditiani, 2024) Pule pandak berasal dari spesies tanaman berbunga dalam keluarga Apocynaceae yang mengandung 80 alkaloid yang diantaranya itu reserpine (Soni et al., 2016)

2.1.2 Klasifikasi Pule Pandak



a



b

Gambar 2. 1. a). Tumbuhan pule pandak b) Akar pule pandak (Paul et al., 2022)

Pule pandak diklasifikasikan dengan nama ilmiah *Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex. Kurz. Berikut merupakan klasifikasi dari *Rauvolfia serpentina* (Paul et al., 2022). Tumbuhan dan akar pule pandak bisa dilihat pada gambar 2.1.

Kingdom : *Plantae*

Phylum : *Angiospermae*

Subphylum : *Eudicotidae*

Class : *Asterids*

Ordo : *Gentianales*

Family : *Apocynaceae*

Genus : *Rauvolfia*

Species *: Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex. Kurz

2.1.3 Morfologi Pule Pandak

Pule pandak merupakan semak abadi yang memanjat berwarna hijau yang tumbuh hingga ketinggian 60 cm dengan batang berbentuk silinder (Rajalakshmi et al., 2016). Akarnya memiliki panjang 10-18 cm, berukuran diameter 1-3 cm, berbentuk sub-silinder, agak meruncing, dan tajam, batangnya berbentuk silinder dengan tinggi 1 meter, (Srivastava et al., 2021). Daunnya berbentuk elips hingga lanset atau lonjong, pangkal daun meruncing, dan ramping. Bunga berbentuk *corymbose* tidak beraturan (bunga tersusun dengan tangkai yang berbeda panjang sehingga ketinggian bunga tidak sepenuhnya rata, menghasilkan pola yang tidak simetris atau konsisten), tersusun dalam tandan, berwarna putih-merah muda-merah.

Buahnya berbiji, berbiji tunggal, berwarna hijau saat masih mentah, dan berwarna keunguan-hitam keunguan hingga hitam saat matang, biji berbentuk bulat telur (Singh, 2017). Tumbuhan pule pandak biasanya tumbuh di bawah naungan pepohonan hutan gugur yang lembab, di daerah rawa (Paul et al., 2022).

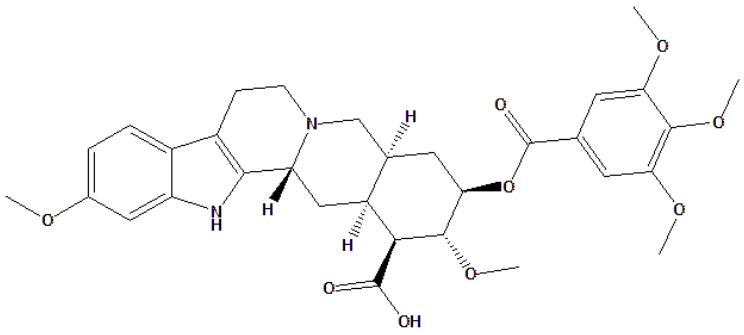
2.1.4 Kandungan Senyawa Pule Pandak

Pule pandak memiliki berbagai kandungan fitokimia antara lain alkohol, gula dan glikosida, flavonoid, asam lemak, alkaloid, *phytosterol*, steroid, dan tanin. Tumbuhan ini memiliki tiga jenis alkaloid yang bersifat basa lemah (Reserpin, *Rescinnamine, Deserpidine*), basa menengah (*Reserpiline, Ajmalie, Isoajmaline*), basa anhidronium kuat (*Serpentine, Serpentinine, Alstonine*) (Paul et al., 2022). Alkaloid yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan merupakan alkaloid indol dengan lebih dari 50 jenis alkaloid yang diisolasi dari tumbuhan. Alkaloid indol merupakan kelompok senyawa nitrogen yang berasal dari asam amino triptofan (Hrishikesh Pravin et al., 2021). Seluruh bagian pule pandak termasuk batang dan daun mengandung alkaloid indol tetapi konsentrasi tertinggi ditemukan pada akarnya. Bagian akar memiliki khasiat sedatif dan penurun tekanan darah (Ratih & Warditiani, 2024).

2.1.5 Reserpin

Reserpin merupakan alkaloid indol dari akar *Rauvolfia serpentina* yang berfungsi sebagai antihipertensi kuat dan pengobatan lini kedua untuk hipertensi. Reserpin menurunkan tekanan arteri, resistensi perifer total, denyut jantung, dan curah jantung dengan menipiskan neurotransmiter di

ujung saraf postganglionik. Penggunaan bersama diuretik efektif menurunkan tekanan arteri serta mengurangi morbiditas dan mortalitas terkait hipertensi (Abdelfatah & Efferth, 2015). Reserpin juga digunakan untuk mengobati gejala diskinesia pada penyakit Huntington dengan menghabiskan cadangan katekolamin di ujung saraf adrenergik pembuluh darah tepi, sehingga bertindak simpatomimetik tidak langsung tanpa memicu pelepasan katekolamin. Efek ini meningkatkan kepekaan terhadap simpatomimetik langsung, memberikan reserpin efek sedatif dan menenangkan dengan menghabiskan katekolamin di SSP (Singh, 2017). Struktur *reserpine* dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2. 2. Struktur *reserpine*

2.1.6 Manfaat Farmakologi Pule Pandak

Pule pandak, tumbuhan tegak dengan batang halus, memiliki berbagai manfaat terapeutik, terutama sebagai obat antihipertensi karena kandungan alkaloid seperti reserpin. Selain menurunkan tekanan darah, reserpin juga telah digunakan untuk mengobati skizofrenia dan tardive dyskinesia. Akar pule pandak yang pahit bermanfaat sebagai pereda demam, penurun panas, dan obat insomnia berkat sifat sedatifnya. Untuk mengatasi insomnia, 1 gram akar bubuk dapat diminum dua kali sehari dengan 250 mL

susu kambing yang ditambahkan gula (Ratih & Warditiani, 2024) ; (Biradar et al., 2016).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemindahan zat terlarut dari satu fase ke fase yang baru. Ekstraksi juga merupakan langkah pertama yang penting dalam analisis tumbuhan herbal atau obat, karena perlu untuk mengekstrak bahan fitokimia yang diinginkan dari tumbuhan untuk dilakukan pemisahan dan karakterisasi di masa depan. Proses ini melibatkan tahapan-tahapan seperti pra-pencucian, pengeringan sampel tumbuhan atau pengeringan beku, penggilingan untuk mendapatkan sampel yang seragam untuk meningkatkan kinetika ekstraksi analitik dan juga untuk meningkatkan luas permukaan kontak sampel dengan sistem pelarut (Fonmboh et al., 2020).

Metode Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa cara, meliputi cara dingin (maserasi dan perkolasi) dan cara panas (refluks, sokhletasi, digesti, infusa, dan dekoktasi):

2.2.1 Cara Dingin

1. Maserasi

   Maserasi merupakan teknik yang paling umum diterapkan dalam pembuatan anggur dan sekarang diadopsi secara umum dalam penggunaan untuk penelitian produk alami/tumbuhan obat. Prosesnya melibatkan perendaman bahan tumbuhan biasanya dalam bentuk bubuk atau kasar dalam wadah tertutup dengan pelarut tertentu. Pengaturan dibiarkan pada suhu kamar (±25°C) selama minimal 72 jam dengan pengadukan yang konstan (Pougoue et al., 2020). Proses ini

dikondisikan untuk melunakkan dan memecah dinding sel tumbuhan untuk membebaskan metabolit bioaktif terlarut. Setelah 3 hari, seluruh campuran dipres dan diayak dengan penyaringan menggunakan kertas saring *Whatman* no 1. Dalam maserasi, pemilihan pelarut sangat penting untuk menentukan jenis fitokimia yang diekstraksi dari sampel (Fonmboh et al., 2020).

2. Perkolasi

Metode yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu perlokator. Metode ini bekerja dengan menambahkan pelarut secara terus menerus sehingga proses ekstraksi ini selalu dilakukan dengan pelarut yang baru, seluruh proses ini dilakukan sampai analit yang berada dalam sampel dapat terekstraksi dengan sempurna (Leba, 2017). Keuntungan dari metode ekstraksi perkolasi senyawa yang akan didapatkan akan lebih banyak karena proses dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut terus menerus dengan waktu yang relatif singkat dan mampu melindungi senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Namun kekurangan metode perkolasi yaitu cairan penyari lebih banyak dan resiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka (Verawati et al., 2017).

2.2.2 Cara Panas

1. Refluks

Ekstraksi refluks merpukan proses ekstraksi padat-cair pada suhu konstan dengan penguapan dan kondensasi pelarut yang berulang-ulang

untuk jangka waktu tertentu tanpa kehilangan pelarut. Sistem ini banyak digunakan dalam industri herbal karena efisien, mudah dioperasikan dan hemat biaya (Chua et al., 2016). Kelebihan metode refluks meliputi waktunya lebih singkat, terjadi kontak langsung dengan pelarut secara terus menerus, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit sehingga efektif dan efisien (Fajri & Daru, 2022).

2. Sokhletasi

Ekstraksi soxhletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan pemanasan dan memungkinkan pelarut bersirkulasi (Faizal & Alifah, 2023). Keuntungan soxhletasi meleiputi pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisiensi bahan) waktu yang digunakan lebih cepat, sampel yang diekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang (Nurhasnawati et al., 2017). Soxhletasi bekerja dengan menambahkan pelarut untuk mengekstrak senyawa dalam sampel, lalu memanaskan pelarut untuk menguapkannya, sehingga proses ekstraksi dapat diulang pada suhu yang lebih tinggi (M. H. Hasanah, 2020).

3. Digesti

Digesti merupakan proses maserasi kinetik (pengadukan terus menerus) yang dilakukan pada pada suhu diatas suhu kamar, biasanya 40-50ºC (Endah, 2017). Digesti cocok digunakan untuk senyawa yang tahan panas (Dewatisari, 2020).

4. Infundasi

Infusa merupakan metode ekstraksi yang melibatkan pemanasan dengan pelarut etanol untuk mengekstrak senyawa aktif polar seefisien mungkin (A. Putri et al., 2022). Infus dan dekoktasi menggunakan prinsip yang sama seperti maserasi; keduanya direndam dalam air dingin atau direbus. Namun, periode maserasi untuk infus lebih pendek dan sampel direbus dalam volume air tertentu (misalnya 1:4 atau 1:16) untuk waktu tertentu untuk rebusan (Fonmboh et al., 2020).

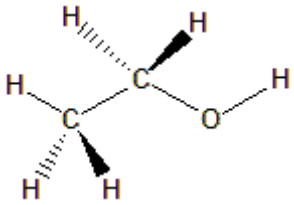
5. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan infundasi pada waktu yang lebih lama (~30 menit) dan suhu sampai titik didih udara (90-100^{O}C) (Endah, 2017). Produk mentah direbus dalam air dengan rasio tetap (misalnya 1:4 atau 1:16), didinginkan, lalu disaring untuk ekstraksi metabolit larut air dan tahan panas. Dekoktasi cocok untuk senyawa tahan panas dan bagian tumbuhan keras seperti akar dan kulit kayu, menghasilkan lebih banyak fitokimia larut minyak dibandingkan maserasi dan infus (Fonmboh et al., 2020). Dekoktasi mudah untuk dilakukan namun produk yang dihasilkan tidak bertahan lama (Yulinar & Suharti, 2022).

2.3 Etanol

Etanol merupakan pelarut golongan alkohol, sering digunakan dalam isolasi senyawa organik bahan alam karena mampu melarutkan semua senyawa metabolit sekunder. Gugus hidroksilnya bersifat polar, sedangkan gugus alkilnya bersifat non-polar (Sulistyorini, 2015). Sifat kimia etanol yaitu: BM 46,07, mudah menguap, mudah terbakar, tidak berasap dan nyala

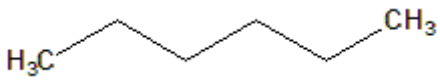
api kebiru-biruan, berat jenis lebih kecil dari berat jenis air (Anggraini et al., 2017). Struktur kimia etanol dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Struktur kimia etanol

2.4 N-Heksana

N-heksana merupakan suatu hidrokarbon alkana (C_6H_{14}) yang dihasilkan dari refining minyak mentah dengan komposisi isomer sekitar 50% berat dan titik didih 60–70˚C. Bersifat non-polar dan inert, heksana sering digunakan sebagai pelarut organik (Utomo, 2016). Karakteristik n-heksana meliputi cairan bening tak berwarna dengan bau seperti minyak bumi, titik nyala -9°F, dan tidak larut dalam air. Heksana banyak digunakan sebagai pelarut non-polar yang murah, aman, inert, dan mudah menguap (CAMEO Chemicals, 2017). Struktur kimia n-hekesana dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Struktur kimia n-heksana

2.5 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas merupakan suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (Nuralifah et al., 2021). Uji Toksisitas dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksik dan menilai batas keamanan dalam penggunaan suatu senyawa dan untuk mengetahui kemampuan racun yang

dapat menimbulkan kerusakan ketika masuk kedalam tubuh dan organ yang rentan terhadapnya. Uji toksisitas yang dilakukan dengan menggunakan metode BSLT ditujukan untuk menentukan potensi suatu senyawa bersifat racun dengan mengetahui tingkat toksisitasnya (Saragih et al., 2022).

BSLT merupakan suatu metode yang digunakan untuk uji yang sederhana dalam menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak menggunakan hewan uji bioindikator larva *Artemia salina* Leach yang berusia 48 jam, dengan melihat nilai *Lethal Concentration* 50 (LC_{50}) yang merupakan suatu kadar atau konsentrasi suatu zat dinyatakan dalam ppm yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan uji setelah pemaparan larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi selama 24 jam (Rosyadi et al., 2021). BSLT dimanfaatkan sebagai uji pendahuluan sebelum dilanjutkan ke tahap uji yang lebih rumit untuk kegiatan farmakologis tertentu. Dengan menggunakan metode BSLT ini juga akan diketahui batas keamanan penggunaannya untuk tujuan pengobatan (Handayani, 2022). Penentuan kategori toksik digunakan penggolongan klasifikasi seperti pada Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Tingkat Toksik Berdasarkan Nilai LC_{50} (Meyer et al., 1982).

Konsentrasi (ppm)	Keterangan
LC50 ≤ 30	Sangat Toksik
LC50 ≥31 - ≤ 1000	Toksik
LC50 > 1000	Tidak Toksik

Keuntungan BSLT meliputi tidak memerlukan teknik khusus, relatif murah, efektif, dan mudah karena menggunakan sebagian besar organisme untuk validasi statistik serta jumLah sampel yang diperlukan yang relatif kecil (± 2-20 mg) (Putri & Nasution, 2022). Kerugiannya meliputi hasilnya tidak selalu dapat diekstrapolasi langsung ke mamalia, termasuk manusia,

dikarenakan perbedaan sistem biologi, organ, dan jalur metabolisme antara *A. salina* dan manusia yang membatasi pemahaman toksikologi pada spesies mamalia (Da Silva & Da Silva, 2023).

2.6 *Artemia salina* Leach

Menurut Munteanu et al., (2011), klasifikasi *Artemia salina* Leach sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Arthropoda*

Subfilum : *Crustacea*

Kelas : *Branchiopoda*

Ordo : *Anostraca*

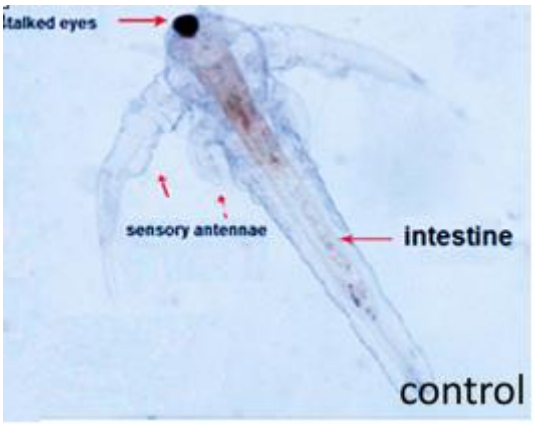
Familia : *Artemiidae*

Genus : *Artemia*

Spesies : *Artemia salina* Leach

Dalam melakukan uji toksisitas, dalam banyak riset peneliti menggunakan larva udang *Artemia salina*, hal ini dikarenakan larva *Artemia salina* memiliki sifat yang peka terhadap bahan uji yang disebabkan oleh membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinan terjadinya difusi zat dan lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Selain itu, larva *Artemia salina* mudah dibiakkan, serta waktu siklus hidup yang cepat (Mudjiman, 1988). Selain sifatnya yang peka terhadap bahan uji, larva *Artemia salina* juga memiliki kesamaan respon *stress* (respons perilaku dan fisiologis terhadap *stressor* lingkungan) yang sama dengan manusia. Maka, dengan alasan inilah larva *Artemia salina*

digunakan dalam skrining toksisitas awal dari ekstrak tumbuhan sebelum melakukan uji sitotoksik (Altinok et al., 2016). Morfologi larva dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 5. Morfologi larva *Artemia salina* usia 48 jam (Altinok et al., 2016).

2.7 Landasan Teori

Menurut penelitian oleh Sitompul et al., (2022) akar pule pandak (*R.serpentina*) mengandung positif alkaloid. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% dari akar pule pandak memiliki efek antihipertensi, yang terbukti mampu menurunkan tekanan darah mencit yang diinduksi hipertensi. Dosis ekstrak yang paling efektif dalam menurunkan tekanan darah mencit yaitu 280 mg/kg BB.

Menurut penelitian Alshahrani et al., (2021), menunjukkan bahwa nanopartikel anorganik yang disintesis menggunakan ekstrak daun *Rauvolfia serpentina* (R-AuNPs) memiliki aktivitas biologis yang lebih unggul dibandingkan ekstrak murni (RSALE). R-AuNPs menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri 1,4-2,1 kali lipat, aktivitas antioksidan yang lebih kuat dengan nilai IC_{50} lebih rendah dalam uji DPPH, dan potensi

antikanker yang lebih tinggi terhadap sel HeLa yang menunjukkan bahwa enkapsulasi ekstrak *R. serpentina* dalam bentuk nanopartikel anorganik secara signifikan meningkatkan efektivitas terapeutiknya, menjadikan R-AuNPs kandidat potensial untuk pengembangan obat baru dengan spektrum aktivitas luas.

Menurut penelitian oleh Suciati et al., (2021), hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol akar pule pandak menghambat enzim AChE dengan nilai IC50 7,46 µg/mL. Dari tiga fraksi (n-heksana, etil asetat, dan n-butanol), fraksi n-butanol memiliki penghambatan terkuat dengan IC50 5,99 µg/mL. Fraksinasi VLC (*Vacuum Liquid Chromatography*) pada fraksi n-butanol menghasilkan 13 subfraksi, empat di antaranya (VLC 4-7) menunjukkan penghambatan >80% terhadap AChE, dengan IC50 4,87-47,22 µg/mL. Ekstrak dan fraksi juga menunjukkan penghambatan lebih tinggi terhadap BChE dibandingkan AChE, dengan perbedaan signifikan berdasarkan hasil uji *unpaired t-test*.

Menurut penelitian oleh Abir et al., (2023), *patch transdermal* yang diformulasikan dengan ekstrak metanol *Rauvolfia serpentina* (MERS) menunjukkan hasil yang memuaskan untuk mengatasi kecemasan. Dari enam formulasi yang menggunakan empat jenis polimer berbeda, semuanya berhasil melewati uji fisikokimia dan menunjukkan signifikansi yang dapat diterima dalam uji *in-vivo*. Khususnya, formulasi PF-VI menunjukkan hasil terbaik di antara semua formulasi untuk pelepasan berkelanjutan. Reserpin, yang merupakan senyawa aktif utama dalam pule pandak, terbukti dapat

menembus kulit dengan cepat karena sifatnya yang sangat lipofilik dan mampu melewati sawar darah otak, sehingga dapat mencapai level otak dalam waktu minimal. *Patch transdermal* ini berhasil mengurangi kecemasan pada tikus percobaan tanpa menyebabkan iritasi kulit, dan karena menghindari efek lintas pertama melalui rute *transdermal*, MERS dapat bekerja dengan cepat dan efektif mengelola kecemasan untuk periode yang lebih lama berkat pelepasan yang konstan dan berkelanjutan dari patch.

Pule pandak menunjukkan potensi yang signifikan dalam pengobatan berbagai penyakit, termasuk kanker payudara. Namun, analisis lebih lanjut mengindikasikan bahwa tidak terdapat peningkatan insidensi kanker payudara pada pasien yang menggunakan *Rauvolfia* sebagai bagian dari terapi mereka. Selain itu, ekstrak *R. serpentina* juga telah dilaporkan memiliki berbagai manfaat terapeutik dalam pengobatan kondisi kesehatan lain, seperti demam, malaria, penyakit mata, pneumonia, asma, AIDS, sakit kepala, penyakit kulit, dan gangguan limpa, yang menunjukkan keberagaman khasiatnya dalam bidang kesehatan (Biradar et al., 2016).

Pengujian toksisitas dalam tanaman herbal perlu dilakukan untuk mengevaluasi kandungan senyawa yang terdapat didalamanya dan memprediksi keamanannya. Saat ini pengujian toksisitas secara *in vivo* dapat dilakukan dengan menggunakan model hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Mangirang et al., (2019) dengan ekstrak etanol daun pare *M.*

charantia dapat memberikan efek toksik terhadap larva udang menggunakan metode BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 200,2 ppm.

Landasan teori ini memberikan dasar untuk penulis untuk melakukan penelitian toksisitas dari ekstrak akar pule pandak dengan metode BSLT yang dapat berguna untuk masyarakat dalam mengkonsumsi ekstrak akar pule pandak, juga untuk memberikan informasi lebih lanjut tentang potensi toksisitas dan keamanan penggunaan ekstrak akar pule pandak.

2.8 Hipotesis

H0 : Ekstrak etanol dan n-heksana dari akar pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz.) memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT

H1 : Ekstrak etanol dan n-heksana dari akar pule pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz.) tidak memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT