

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Temu Blenyeh

Curcuma purpurascens Blume merupakan salah satu tanaman yang kurang dikenal pada spesies *Curcuma* dan dianggap tidak terlalu penting sehingga jarang dipelajari (Walker, 2016). Temu blenyeh biasa disebut sebagai koneng tinggang dan temu tis (Hong et al., 2014; Rouhollahi et al., 2014).



Gambar 2.1 Temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume)
(Dokumentasi pribadi, 2023)

1. Morfologi Temu Blenyeh

Temu blenyeh, yang dikenal sebagai 'temu tis' di Indonesia, memiliki akar yang mirip dengan kunyit, dapat tumbuh hingga 1,75 meter. Terdapat perbedaan antara kunyit dan temu blenyeh yang terletak pada kulitnya. Temu blenyeh cenderung memiliki kulit yang lebih pucat dan ukuran yang lebih besar daripada kunyit dan memiliki kulit yang cenderung kuning kehitaman (Hong et al.,

2014). Rimpang temu blenyeh memiliki morfologi mirip dengan jenis temu lainnya, dengan cabang-cabang rimpang yang berwarna oren-kuning diluar dan putih diujungnya. Daunnya berbentuk bulat memanjang, berukuran 55-70 cm panjang dan 19-23 cm lebar, dengan warna hijau, tetapi tulang daun utama memiliki warna keunguan (Rouhollahi et al., 2014).

Rimpang temu blenyeh memiliki cabang dengan warna kuning-jingga dibagian dalamnya dan berwarna keputihan hingga ujungnya. Terdapat bunga diujung daunnya, dimana daunnya berwarna putih dibagian pangkalnya dan sebagian besar berwarna hijau pucat, dengan sedikit coklat pucat dan bintik-bintik diatasnya. Bunga temu blenyeh memiliki mahkota putih dengan panjang hingga 5 cm, daunnya berbentuk elips, dan pelepah daun bagian atasnya agak ungu (Rouhollahi, 2016). Batang rimpang dari temu blenyeh memiliki tinggi bisa mencapai 1 m dari rimpang yang bercabang. Tiap batang memiliki beberapa helai daun dengan ukuran berkisar antara 19-23 cm dan 55-77cm (Rajkumari & Sanatombi, 2018).

2. Taksonomi Temu Blenyeh

Menurut WCSP (2019) taksonomi dari temu blenyeh meliputi:

Kerajaan : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Liliopsida

Bangsa : Zingiberales

Suku : Zingiberaceae
Marga : Curcuma
Jenis : *Curcuma purpurascens* Blume

3. Kandungan dan Kegunaan Temu Blenyeh

Rimpang temu blenyeh telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai kondisi seperti bisul, batuk, demam, gatal, kudis, dan luka. Meskipun ada beberapa penelitian ilmiah yang dilakukan tentang tanaman ini, informasi rinci masih terbatas. Rimpang temu blenyeh sering digunakan dalam campuran dengan ramuan lain untuk mengobati batuk dan infeksi kulit, serta digunakan sebagai tapal setelah melahirkan (Hong et al., 2014). Kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu blenyeh berguna sebagai sumber antioksidan, misalnya fenol, flavonoid, tannin dan lainnya (Pramiastuti & Murti, 2022). Ekstrak etanol rimpang temu tis mengandung flavonoid, saponin, quinon dan triterpenoid (Sinaga et al., 2018). Bagian rimpang *Curcuma purpurascens* blume mengandung senyawa kimia berupa minyak atsiri, khampor dan borneol yang dapat berkhasiat sebagai obat bisul dan gatal-gatal pada kulit (Sudirga, 2012).

Berdasarkan penelitian Rouhollahi (2016) dan Rouhollahi et al (2014), rimpang temu blenyeh dapat memberikan aktivitas antikanker. Ekstrak diklorometana rimpang temu blenyeh memiliki efek sitotoksik, menekan proliferasi kanker usus besar HT-29 sel dan

memicu induksi apoptosis melalui jalur mitokondriadependen dengan nilai $IC_{50} 7,79 \pm 0,54$ g/mL (Rouhollahi et al., 2015). Ekstrak rimpang temu blenyeh juga mempunyai sifat antibakteri dan antijamur. Pertumbuhan bakteri yang dapat dihambat oleh temu blenyeh berupa bakteri gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Jamur *Candida albican* merupakan salah satu jenis jamur yang pertumbuhannya dapat terhambat oleh ekstrak temu blenyeh (Pramiastuti et al., 2023).

2.1.2 Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V Depkes RI (2014), ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh melalui proses ekstraksi zat aktif dari tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Setelah itu, hampir seluruh pelarut diuapkan, dan massa atau serbuk yang tersisa diolah hingga mencapai standar yang telah ditetapkan. Ekstrak cair merupakan bentuk sediaan cair dari tumbuhan, yang umumnya mengandung etanol sebagai pelarut, pengawet, atau keduanya. Secara umum, tiap mililiter (ml) ekstrak cair mengandung zat aktif yang setara dengan 1 gram tumbuhan yang digunakan, kecuali ada ketentuan lain dalam monografi masing-masing. Jika ekstrak cair cenderung mengendap, bisa didiamkan dan disaring, atau bagian yang bening dapat diuapkan (Depkes RI, 2014).

2.1.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian suatu senyawa aktif dari suatu bahan atau simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut tertentu yang cocok. Ekstraksi bisa dilakukan dengan berbagai metode, sesuai dengan sifat dan tujuannya. Metode ekstraksi padat cair metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dapat dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas (Depkes, 2000):

1. Maserasi

Metode ekstraksi yang umum digunakan yaitu metode maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian tumbuhan dengan cara merendamnya dalam pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan (suhu kamar). Maserasi kinetik mengimplikasikan pengadukan yang berlangsung secara berkelanjutan. Setelah itu, ada tahap remaserasi yang mencakup pengulangan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes, 2000).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru hingga pencapaian total (*exhaustive extraction*), biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini dimulai dari pengembangan bahan, dilanjutkan dengan tahap maserasi awal, lalu dilanjutkan dengan tahap perkolasi sebenarnya

(pengaliran dan pengumpulan ekstrak) yang berlangsung secara berkelanjutan hingga diperoleh ekstrak (perkolat) sebanyak 1 hingga 5 kali berat bahan awal (Depkes, 2000).

3. Soxhletasi

Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan proses ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dan biasanya memerlukan alat khusus yang dilengkapi dengan pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, sampel padatan ditempatkan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sementara pelarut yang dipanaskan akan mengalir keatas dan kemudian mendingin dikondensor sebelum kembali menuju sampel, menghasilkan ekstraksi yang berkelanjutan. Kelebihan dari metode soxhlet yaitu proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, sehingga memerlukan waktu ekstraksi yang lebih singkat dan menggunakan jumlah pelarut yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Namun, kelemahannya yaitu pemanasan yang berlangsung secara terus menerus dalam proses ini dapat mengakibatkan kerusakan pada senyawa atau komponen yang tidak tahan panas (Sarker, S. D., et al., 2006; Prashant Tiwari, et al., 2011).

4. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi panas yang populer. Metode ini terkenal karena biayanya yang terjangkau dan sederhana, serta tingkat rendemen yang relatif tinggi dibandingkan

dengan metode perkolasi dan maserasi. Proses refluks melibatkan pelarut yang dipanaskan yang terus-menerus mengalir dan dikondensasi berulang kali pada kondensor (Agung, 2017).

2.1.4 Parameter Pengujian Ekstrak Temu Blenyeh

Beberapa parameter dikaitkan dengan faktor kualitas ekstrak, antara lain:

1. Faktor Biologi

Sifat biologis ekstrak dipengaruhi oleh bahan aslinya (tumbuhan obat). Ciri-ciri biologi suatu tumbuhan ditentukan oleh jenisnya, lokasi asal (tanaman), musim/waktu panen, keadaan penyimpanan, umur tumbuh, dan bagian yang dimanfaatkan (Depkes, 2000).

2. Faktor Kimia

Faktor kimia berkaitan dengan pengujian mutu ekstrak dapat dilihat dari faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal yang perlu diperhatikan antara lain jenis senyawa bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif dan rata-rata kandungan total suatu bahan aktif. Sedangkan faktor eksternal mencakup metode ekstraksi yang digunakan, perbandingan ukuran alat ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, adanya kandungan logam berat, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan (Depkes, 2000).

2.1.5 Skrinning Fitokimia Ekstrak Temu Blenyeh

Analisis fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan golongan senyawa yang terdapat pada temu blenyeh. Macam-macam skrinning fitokimia yang dapat dilakukan meliputi:

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos=bunga, kyanos, biru tua) merupakan pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola (Julianto, 2019).

2. Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Tanin (dari bahasa Inggris tannin, dari bahasa

Jerman yang berarti “pohon ek” atau “pohon berangan) pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan tannin nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang (kulit mentah) hewan agar menjadi masak yang awet dan lentur (penyamakan). Namun kini pengertiannya meluas, mencakup berbagai senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lainnya yang sesuai (misalnya gugus karboksil) membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain (Julianto, 2019).

3. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Definisi yang tepat dari istilah ‘alkaloid’ (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan mereka biasanya memiliki aktivitas fisiologis yang pada manusia atau hewan lainnya (Julianto, 2019).

4. Terpenoid

Senyawa terpena merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Terpenoid juga dihasilkan oleh serangga. Senyawaan ini pada umumnya memberikan bau yang kuat dan dapat melindungi tumbuhan dari herbivora dan predator. Terpenoid juga merupakan komponen utama dalam minyak atsiri dari beberapa jenis tumbuhan dan bunga. Minyak atsiri digunakan secara luas untuk wangi-wangian parfum, dan digunakan dalam pengobatan seperti aromaterapi (Julianto, 2019).

2.1.6 Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan derajat kerusakan akibat suatu senyawa asing yang dipejani ke dalam organisme. Terdapat berbagai macam tingkatan toksisitas suatu senyawa antara lain: toksisitas akut (terjadi dalam waktu cepat), subakut (terjadi dalam waktu sedang), kronik (terjadi dalam waktu lama) ataupun letal (terjadi pada konsentrasi yang dapat menimbulkan kematian secara langsung) dan subletal (terjadi di bawah konsentrasi yang menyebabkan kematian secara langsung) (Kurt, 2004). Pengujian toksisitas akut merupakan langkah awal dalam menilai keamanan suatu zat (Depkes RI, 1992).

Uji toksisitas terhadap ikan zebra tergolong dalam uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang

yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral, sediaan uji umumnya dalam beberapa tingkatan dosis yang diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian (BPOM, 2022). Selain itu, uji toksisitas akut bertujuan untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat dan memperoleh informasi mengenai nilai LC_{50} yang merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi zat uji yang diberikan menyebabkan 50% kematian pada hewan uji secara akut (BPOM, 2014).

Pada pengaplikasiannya uji toksisitas biasanya mengacu pada The OECD (*Organization for Economic Co-operation and Development*) *Guidelines for the Testing of Chemicals* yang merupakan standar yang diterima secara internasional untuk menguji keamanan produk, meliputi bahan kimia, pestisida, perawatan dan lain-lain. Standar ini selalu ditinjau oleh banyak pakar dari berbagai negara yang termasuk anggota OECD. Metode ini dianggap cukup ideal karena menggunakan sedikit hewan coba, mudah aplikasinya dan dapat sekaligus memperkirakan nilai LD 50. Pengujian mengenai uji toksisitas sendiri dibagi menjadi 2 metode uji sesuai dengan OECD 414 dan OECD 236 (OECD, 2013, 2018):

a) Uji toksisitas berdasarkan teknik OECD 414

Metode uji toksisitas teratogenik sesuai dengan OECD 414 merupakan pengujian secara *in vivo*. Uji toksisitas teratogenik

dengan metode ini menggunakan spesies hewan rodent dan non rodent. Jenis hewan rodent yang disukai yaitu tikus dan spesies non-rodent yang disukai yaitu kelinci. Setiap kelompok uji dan kontrol harus mengandung jumlah hewan betina sekitar 20 ekor. Prinsip pengujian dengan metode ini yaitu bahan uji diberikan pada hewan bunting setidaknya dari masa implantasi hingga satu hari sebelum jadwal pembunuhan secara manusiawi. Pedoman ini ditujukan untuk memeriksa pada periode organogenesis, (misalnya hari ke 5-15 pada hewan pengerat, dan hari ke 6-18 pada kelinci) dan juga untuk mengamati efek dari praimplantasi, melalui seluruh periode kehamilan sampai hari dilakukannya pembedahan (operasi caesar). Untuk pengamatan, betina dibunuh secara manusiawi, kandungan uterus diperiksa, dan janin dievaluasi untuk perubahan jaringan lunak dan kerangka (OECD, 2018).

b) Uji toksisitas berdasarkan teknik OECD 236

Pengujian toksisitas teratogenik yang digunakan pada OECD 236 ini menggunakan cara *in vitro* menggunakan telur ikan zebra. Pengujian ini menggunakan embrio ikan zebra sebagai pengamatan terhadap toksisitas pada janin oleh paparan sediaan uji. Ikan zebra merupakan salah satu model hewan coba untuk uji toksisitas herbal. Keuntungan menggunakan ikan zebra karena hampir 82% sekuen DNA berhubungan dengan gen manusia (OECD, 2013).

2.1.7 Konsentrasi Letal (LC₅₀)

Nilai LC₅₀ merupakan parameter dalam uji toksisitas akut. Berdasarkan nilai LC₅₀ diketahui suatu bahan bersifat sangat toksik atau tidak toksik (Gad, 2014). LC₅₀ merupakan indikator toksisitas yang efektif pada ikan zebra (*Danio rerio*) (Boyd, 2005). Penggunaan LC₅₀ pada embrio, larva, dan ikan dewasa memungkinkan hasil yang lebih cepat dan mudah diamati (Nagel, 2002). Studi pada embrio (*early-life stage*) dapat memberikan perkiraan yang lebih akurat tentang toksisitas jangka panjang pada sekitar 80% bahan uji (OECD, 2013).

Tabel 2.1 Kategori Toksisitas (Meyer et al., 1982)

Kategori	LC ₅₀ (ppm)
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

2.1.8 Ikan Zebra Sebagai Hewan Uji

Pemilihan hewan uji dalam penelitian didasarkan pada berbagai pertimbangan, termasuk aspek biologis, teknis, dan sejarah. Kriteria umum untuk pemilihan hewan uji termasuk ukuran kecil, reproduksi yang cepat, biaya pemeliharaan yang rendah, kemudahan dalam teknik percobaan, dan ketersediaan informasi dasar yang lengkap. Dalam penelitian biomedis, penggunaan hewan sebagai model berkembang dan mengarah pada konservasi fungsional genetik pada proses biologis dasar antara mamalia dan invertebrata seperti lalat buah (*Drosophila melanogaster*) dan cacing nematoda (*Caenorhabditis elegans*) (Khotimah & Ali, 2020).

Meskipun ada perbedaan signifikan antara mamalia dan invertebrata, seperti sistem organ dan perkembangan, ikan zebra (*Danio rerio*) saat ini sering digunakan sebagai organisme model karena berperan sebagai penghubung antara invertebrata dan vertebrata. Ikan zebra menjadi hewan uji unggulan dalam penelitian biomedis karena beberapa alasan ilmiah, termasuk tingkat homologi yang tinggi dengan manusia (sekitar 75%), embrio yang transparan, tingkat reproduksi yang tinggi, perkembangan embrio yang cepat, masa hidup yang relatif singkat, biaya pemeliharaan yang terjangkau, sensitivitas terhadap perubahan lingkungan (membuatnya menjadi bioindikator yang baik untuk uji toksisitas), serta penggunaan dalam pengujian dan pengembangan obat (Khotimah & Ali, 2020).

1. Definisi Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Danio rerio merupakan ikan air tawar yang berasal dari India dan Asia Selatan termasuk Indonesia, ikan zebra memiliki panjang tubuh 4,5 cm dan memiliki garis panjang di bagian perut dan siripnya. Ikan zebra merupakan golongan ikan bertulang belakang (vertebrata) (Raible and Granoto, 2011). Ikan zebra atau yang disebut *Danio rerio* merupakan hewan vertebrata atau hewan bertulang belakang yang cocok untuk digunakan untuk sebagai hewan uji coba contohnya dalam bidang genetika perkembangan, akuatik toksikologi, neurosains, dan masih banyak lagi untuk kepentingan penelitian biologi medis (Rahmah, 2021).

Ikan zebra merupakan ikan yang tergolong omnivora. Zooplankton dan serangga merupakan pakan alami ikan zebra. Walaupun demikian berdasarkan analisis telah dilaporkan bahwa fitoplankton, alga dan tanaman vaskular, spora dan telur invertebrata, sisik ikan, arakhnida, detritus, pasir dan lumpur juga terdapat dalam usus ikan zebra (McClure et al., 2006). Tingginya proporsi planktonik menunjukkan bahwa ikan zebra makan terutama di kolom air, serangga terestrial dan arachnida juga dikonsumsi yang menunjukkan ikan zebra makan dipermukaan, sedangkan keberadaan elemen anorganik dan detritus menunjukkan bahwa ikan zebra juga makan di substratum. Berdasarkan pengambilan sampel selama 12 bulan, komposisi makanan tampak berbeda secara signifikan disetiap bulan meskipun tidak ada pola musiman yang jelas terlihat (Spence et al., 2007).

2. Klasifikasi Ikan Zebra

Berikut ini merupakan klasifikasi ikan zebra (*Danio rerio*) menurut (Destrach, et al, 2009) :

Regnum : Animalia

Phylum : Chordata

Classis : Actinopterygii

Ordo : Cypriniformes

Familia : Cyprinidae

Genus : Danio

Species : *Danio rerio*

3. Morfologi Ikan Zebra

Ikan zebra merupakan jenis ikan tropis berukuran kecil yang dapat ditemukan disungai-sungai di negara India dan Asia Selatan. Ikan zebra atau dikenal dengan nama ilmiah *Danio rerio* memiliki kurang lebih 45 spesies di dunia. Ikan ini termasuk ke dalam famili *Cyprinidae*. Tubuh ikan zebra terdapat garis-garis sebagai corak yang terdiri dari beberapa tipe sel pigmen. Garis berwarna biru hitam terdiri dari dua sel pigmen, yaitu melanofor dan iridiofor, sedangkan pada garis berwarna kuning perak terdiri dari sel pigmen xantofor dan iridiofor. Garis-garis pada ikan berfungsi untuk adaptasi terhadap lingkungannya melalui mekanisme kamuflase (Yuniarto et al., 2017).

Danio rerio yang lebih dikenal dengan nama ikan zebra atau *zebrafish* merupakan salah satu ikan hias yang sangat populer di kalangan pecinta akuarium. Ikan ini diminati karena warnanya yang menarik dan harganya yang terjangkau. Ikan zebra memiliki dasar warna emas atau perak yang indah, dengan garis-garis horizontal yang mencolok dari insang hingga ujung ekor. Garis-garis ini dapat memiliki warna biru atau ungu. Jantan memiliki tubuh torpedo, sementara betina memiliki perut yang lebih besar. Ukuran maksimal ikan zebra biasanya mencapai 5 cm (Marihot dan Sjarif, 2019).



Gambar 2.2. Ikan zebra
(Dokumentasi pribadi, 2024)

4. Habitat Ikan Zebra

Ikan zebra masuk kedalam keluarga ikan air tawar (*cyprinidae*) yang banyak ditemukan di sungai Gangga dan Brahmaputra ditimur India, Bangladesh dan Nepal. Keberadaan ikan zebra juga telah dilaporkan di sungai-sungai seluruh India, Pakistan, Mnyanmar, Sri lanka dan daerah sungai yang mengalir kelaut Arab (Engeszer et al., 2007). Ikan zebra dapat ditemukan di berbagai habitat, terutama di sungai, danau dan juga area persawahan yang memiliki substrat berlumpur. Sesuai dengan bukaan mulutnya, zooplankton dan serangga kecil merupakan salah satu pakan ikan zebra. Ikan zebra mempunyai sistem reproduksi yang berlangsung sepanjang tahun dan sudah siap untuk bereproduksi ketika umur sudah mencapai 4 – 6 bulan (López-Olmeda & Sánchez-Vázquez, 2011).

5. Kelebihan dan Kelemahan Uji Toksisitas pada Ikan Zebra

Keunggulan penggunaan *zebrafish* dapat mengurangi jumlah pengujian *in vivo* menggunakan hewan uji golongan rodent. Masa hidup *zebra fish* yang lebih singkat daripada mencit dan

kemudahan penginduksiannya menjadi alternatif metode uji yang dapat mengatasi kendala pemenuhan prinsip 3R (*reduce, replace, refinement*) pada etik penggunaan hewan coba. Metode pemeliharaan memang memerlukan pengkondisian yang cukup ketat, namun lebih mudah daripada kondisi pemeliharaan standar yang biasa digunakan untuk hewan coba golongan rodent (Indriyanti, 2020). Ikan zebra dikenal luas sebagai model hewan yang populer karena serangkaian karakteristik luar biasa yang dimilikinya. Beberapa diantaranya yaitu ukurannya yang kecil, reproduktifitas yang sangat tinggi, perkembangan yang cepat, transparansi embrio dan kemampuan untuk melakukan penyaringan genetik dan kimia (Strähle et al., 2012).

Ikan zebra diketahui merupakan hewan berukuran kecil sehingga dapat ditangani tanpa kesulitan apapun. Telur menetas dengan cepat, dan larva dapat mulai makan setelah 120 jam pembuahan yang menunjukkan dimulainya percobaan pada larva ikan zebra sejak saat itu (Easter & Nicola, 1996). Keuntungan lainnya yaitu embrionya transparan dan semua sel dapat diamati sejak tahap larva awal. Selain itu, organ dan jaringan juga dapat dengan mudah divisualisasikan secara *in vivo* dan dapat diperiksa secara instan (Fishman, 1999; Parichy et al., 2009).

Kelemahan model ikan zebra untuk studi nanotoksitas diketahui dengan mengevaluasi profil toksisitas bahan nano, model

ikan zebra digunakan dalam berbagai penelitian sebagai system model *in vivo*. Tingkat toksisitas nanopartikel dinilai dengan mengamati malformasi dan cacat fungsional pada ikan zebra. Namun, sangat jelas dari survei literatur bahwa uji imunotoksikitas berbasis nanomaterial masih kurang. Selain itu, karena tahap perkembangan yang cepat pada ikan zebra, sangat sulit untuk melakukan uji toksisitas nano berbasis embrio secara sistematis. Namun, otomatisasi dan teknologi canggih dapat membantu dalam skrining nanotoksikitas dengan embrio ikan zebra. Beberapa bahan nano digunakan untuk tujuan terapeutik seperti pemberian obat dan terapi antimikroba. Oleh karena itu, diperlukan pemahaman tentang sifat penyerapan, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME) dari bahan nano tersebut (Chakraborty et al., 2016).

2.2 Landasan Teori

Tanaman herbal yang belum diteliti khasiat dan keamanannya merupakan permasalahan yang masyarakat hadapi saat ini. Badan Pengawas Obat dan Makanan menghimbau agar masyarakat tidak menyebarkan informasi mengenai tanaman herbal yang belum teruji kebenarannya (BPOM, 2021). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan dari penggunaan obat herbal yang ada di masyarakat. Nilai toksisitas akut (*Lethal concentration/LC₅₀*) dapat menjelaskan tingkat mortalitas organisme yang dapat mempengaruhi dinamika populasinya (Diaz-Sosa et al., 2020).

Pengujian toksisitas dalam tanaman herbal perlu dilakukan untuk mengevaluasi kandungan senyawa yang terdapat didalamnya dan memprediksi keamanannya. Saat ini pengujian toksisitas secara *in vivo* dapat dilakukan dengan menggunakan model hewan uji ikan zebra dewasa. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Fakri *et al.*, (2020) dengan ekstrak etanol keladi tikus konsentrasi tinggi menunjukkan adanya toksisitas pada embrio, penurunan detak jantung, edema perikardial, tidak terbentuknya tulang rahang dan ekor. Penelitian dengan fraksi buah karonda yang juga menggunakan embrio ikan zebra diketahui mengakibatkan malformasi pada tulang ekor, edema kantong kuning telur dan perikardial (Rusli *et al.*, 2020).

Pemanfaatan serta studi terkait toksisitas untuk mengetahui keamanan dari suku *Zingiberaceae* telah banyak dipublikasikan oleh peneliti-peneliti terdahulu dengan menggunakan hewan pengerat sebagai model uji. Akan tetapi penggunaan hewan mamalia ini dinilai mahal dan tidak efisien dalam pengamatan perubahan morfologi yang terjadi akibat paparan sampel. Oleh karenanya perlu dilakukan optimasi pengujian toksisitas dengan menggunakan hewan alternatif yaitu ikan zebra (Paramita, Wibowo dan Insanu, 2021).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sinaga *et al.* (2018), prosentase kandungan senyawa aktif yang paling tinggi dari ekstrak etanol temu blenyeh yaitu flavonoid mencapai 4,77%. Selain itu ekstrak etanol temu blenyeh memiliki kandungan senyawa aktif lain seperti terpenoid, triterpenoid, quinon dan saponin. Hal ini dapat menjadikan gambaran bagi

penulis untuk menganalisa toksisitas dari ekstrak etanol temu blenyeh yang dapat berguna bagi masyarakat dalam mengonsumsi temu blenyeh. Berdasarkan penelitian Rita, Suirta dan Sabikin (2008), ekstrak kasar yang paling toksik dapat dilihat dari kemampuannya menyebabkan banyak kematian pada hewan uji. Pada kadar tertentu, senyawa alkaloid, steroid, dan flavonoid dapat bersifat toksik, yang dapat menyebabkan kematian terhadap hewan uji larva *Artemia salina*. Nurhayati et al. (2006) menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

2.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian dilakukan untuk menjawab suatu tujuan penelitian yang berfungsi sebagai pembuktian. Berikut merupakan hipotesis dalam penelitian ini:

Ha : Adanya efek toksik pada ekstrak etanol temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume).

Ho : Tidak adanya efek toksik pada ekstrak etanol temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume).