

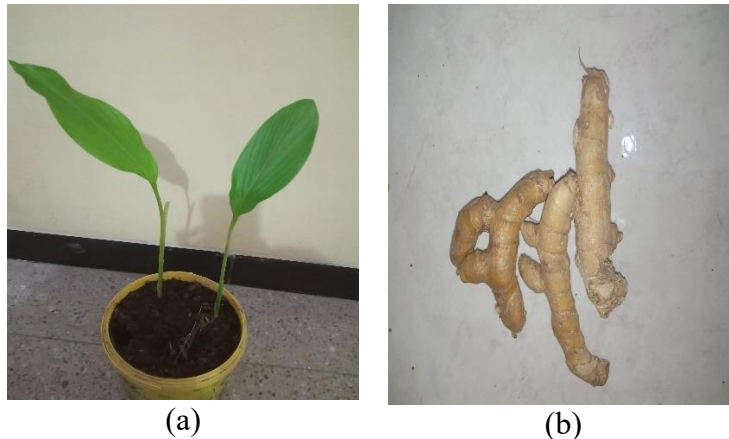
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Temu Blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume)

Curcuma purpurascens Blume adalah salah satu spesies tanaman dalam genus *Curcuma* yang kurang dikenal dan dianggap tidak terlalu penting, sehingga jarang menjadi fokus penelitian (Walker, 2016). Tanaman ini biasa disebut dengan nama koneng tinggang atau temu tis (Hong *et al*, 2014; Rouhollahi *et al*, 2014).



(a) (b)

**Gambar 2.1 (a) Tanaman Temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume)
(b) Rimpang Temu Blenyeh (Dokumentasi pribadi, 2024).**

1. Morfologi Temu Blenyeh

Temu blenyeh, yang juga dikenal dengan nama temu tis di Indonesia, memiliki akar yang mirip dengan kunyit dan bisa tumbuh mencapai tinggi 1,75 meter. Perbedaan utama antara kunyit dan temu blenyeh terletak pada kulitnya. Temu blenyeh biasanya memiliki kulit yang lebih terang dan ukuran yang lebih besar

dibandingkan kunyit, serta kulitnya cenderung berwarna kuning kehitaman (Hong *et al*, 2014). Rimpang temu blenyeh memiliki bentuk yang serupa dengan jenis temu lainnya, dengan cabang-cabang rimpang yang berwarna oranye-kuning di bagian luar dan putih di ujungnya. Daunnya berbentuk memanjang dengan panjang 55-70 cm dan lebar 19-23 cm, berwarna hijau, namun tulang daun utama memiliki warna keunguan (Rouhollahi *et al*, 2014).

Rimpang temu blenyeh memiliki cabang dengan warna kuning jingga di bagian dalamnya dan berwarna putih kehijauan hingga ujungnya. Di ujung daunnya terdapat bunga, dengan daun berwarna putih di bagian pangkal dan sebagian besar berwarna hijau pucat, ditambah sedikit coklat pucat dan bercak-bercak di permukaannya. Bunga temu blenyeh memiliki mahkota putih yang panjangnya bisa mencapai 5 cm, daunnya berbentuk elips, dan pelepah daun bagian atasnya cenderung berwarna ungu (Rouhollahi, 2016). Batang rimpang temu blenyeh dapat tumbuh hingga setinggi 1 m dari rimpang yang bercabang, dengan setiap batang memiliki beberapa helai daun yang ukurannya berkisar antara 19-23 cm dan 55-77 cm (Rajkumari & Sanatombi, 2018).

2. Taksonomi Temu Blenyeh

Taksonomi dari temu blenyeh (*Curcuma Purpurascens* Blume) meliputi (Rouhollahi, 2016) :

Kingdom : Plantae

Division : Fanerogamer

Class : Monocot flowering plants

Family : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Spesies : Curcuma purpurascens Blume

3. Kandungan dan Kegunaan Temu Blenyeh

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

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Rouhollahi, 2016; Rouhollahi *et al*, 2014), rimpang temu blenyeh memiliki potensi untuk memberikan aktivitas antikanker. Ekstrak diklorometana dari rimpang temu blenyeh menunjukkan efek sitotoksik dengan kemampuan menghambat proliferasi sel kanker usus besar HT-29. Ekstrak rimpang temu blenyeh dapat memicu induksi apoptosis melalui jalur yang bergantung pada mitokondria dengan nilai IC_{50} $7,79 \pm 0,54$ g/mL (Rouhollahi *et al*, 2015). Selain itu, ekstrak temu blenyeh juga memiliki sifat antibakteri dan antijamur. Pertumbuhan bakteri yang dapat dihambat oleh temu blenyeh mencakup bakteri gram positif seperti *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, serta bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Jamur *Candida albicans* juga termasuk dalam jenis jamur yang pertumbuhannya dapat terhambat oleh ekstrak temu blenyeh (Pramiastuti *et al*, 2023)

2.1.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode dalam kimia analitik yang bertujuan untuk memisahkan atau mengisolasi satu atau lebih senyawa (analit) dari suatu sampel dengan memanfaatkan pelarut yang memiliki kecocokan polaritas terhadap senyawa target. Sementara itu, ekstrak merupakan sediaan pekat hasil pemisahan zat aktif dengan pelarut tertentu, kemudian pelarutnya dihilangkan dan sisanya diolah sesuai

standar. (Winanda *et all*, 2021; Depkes, 1995). Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode, bergantung pada sifat bahan dan tujuan ekstraksi. Metode ekstraksi padat-cair, berdasarkan ada tidaknya pemanasan, dibagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan ekstraksi dengan cara panas (Depkes, 2000).

1. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling sederhana dan telah digunakan sejak lama. Meski demikian, metode ini masih sering dipilih karena memiliki beberapa keunggulan, seperti penggunaan peralatan yang sederhana dan biaya yang rendah. Selain itu, proses ini tidak melibatkan pemanasan, sehingga cocok untuk mengekstraksi senyawa termolabil atau senyawa yang sensitif terhadap panas (Nugroho, 2017). Ekstraksi dengan maserasi memiliki prinsip kerja mengisolasi senyawa bahan alam melalui perendaman sampel, sampel yang melalui proses perendaman akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan didalam dan di luar sel (Iswandi, 2022).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut baru secara terus-menerus hingga tercapai ekstraksi total (exhaustive extraction), yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini dimulai dengan pengembangan bahan, diikuti dengan tahap maserasi

awal, dan dilanjutkan dengan tahap perkolasi utama (pengaliran dan pengumpulan ekstrak), yang berlangsung secara berkesinambungan hingga diperoleh ekstrak (perkolat) sebanyak 1 hingga 5 kali berat bahan awal (Depkes, 2000). Prinsip kerja perkolasi yaitu bekerja dengan cara mengalirkan pelarut dari atas melalui simplisia dalam alat perkolator, sehingga zat aktif larut dan menetes ke bawah untuk ditampung (Tutik *et al*, 2022).

3. Soxhletasi

Soxhletasi adalah metode ekstraksi dengan pemanasan yang dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah lebih banyak, menggunakan pelarut yang lebih sedikit (memaksimalkan efisiensi bahan), serta mempersingkat waktu ekstraksi. Proses ini dilakukan berulang-ulang sehingga sampel diekstraksi secara menyeluruh. Selain itu, aktivitas biologis tetap terjaga meskipun dipanaskan, sehingga teknik ini sangat efektif dalam pencarian bahan obat (Nugroho, 2017). Prinsip kerja soxhletasi yaitu proses ekstraksi berulang yang memungkinkan pemisahan senyawa berlangsung lebih maksimal dengan penggunaan pelarut yang efisien (Anam *et al*, 2014).

4. Refluks

Ekstraksi refluks adalah salah satu metode ekstraksi yang paling sering digunakan. Metode ini dianggap ekonomis dan sederhana, serta menghasilkan rendemen yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan

metode maserasi atau perkolasi. Dalam ekstraksi refluks, pelarut berputar terus-menerus atau digunakan kembali melalui proses kondensasi berulang di dalam kondensor (Nugroho, 2017). Prinsip kerja metode refluks bekerja dengan cara memanaskan pelarut hingga menguap, kemudian uap tersebut dikondensasi kembali menjadi cairan oleh kondensor dan dialirkan kembali ke wadah reaksi, sehingga pelarut tetap tersedia sepanjang proses berlangsung (Susanty & Bachmid, 2016).

2.1.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode untuk memisahkan dan mengelompokkan kandungan kimia dalam ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran. Proses ini melibatkan penggunaan dua pelarut yang tidak saling tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat dengan pelarut yang berbeda, berdasarkan tingkat kepolaritasannya, menghasilkan ekstrak alami yang beragam, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat terlarut secara maksimal oleh pelarut tersebut (Putri *et al*, 2023). Metode fraksinasi pada umumnya dijadikan acuan dalam pendugaan sifat kepolaran suatu senyawa yang akan dipisahkan (senyawa target). Berdasarkan hal tersebut metode fraksinasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, sebab dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran karena senyawa yang bersifat polar larut dalam

pelarut polar sedangkan senyawa semi polar larut dalam pelarut semi polar dan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar (Harborne, 1987).

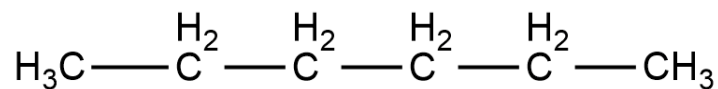
Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi. Metode fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan sejumlah senyawa dari campuran senyawa dalam ekstrak yang telah terlarut dalam suatu pelarut, dengan cara menambahkan pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak saling bercampur (immiscible). Biasanya, fraksinasi menggunakan metode ini dilakukan dengan bantuan labu pemisah (separating funnel). Pada fraksinasi metode kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi di mana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas, prinsip yang sama seperti pada liquid-liquid extraction (Nugroho, 2017). Metode kromatografi yang biasa digunakan pada isolasi senyawa flavonoid adalah kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), dan kromatografi lapis tipis (KLT) (Hepni, 2019).

2.1.4 N-heksan, Etil Asetat dan Metanol

a. N-heksan

N-heksan adalah suatu hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . N-Heksan merupakan hasil refining minyak mentah.

Komposisi dan fraksinya dipengaruhi oleh sumber minyak. Umumnya berkisar 50% dari berat rantai isomer dan mendidih pada 60 – 70 °C. Seluruh isomer n-heksan dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena non-polarnya (Utomo, 2016). Sifat fisika n-heksan yaitu tak berwarna dengan bau seperti bensin yang lembut dan dapat dideteksi pada 65 hingga 284 ppm. Cairan ini mudah menguap ke udara, cairan ini dapat bercampur dengan alkohol, kloroform, dan eter. Dengan titik leleh -95 °C, titik didih 68,7 °C, berat jenis 0,659, kepadatan uap 2,97 (Utomo, 2016). Struktur kimia n-heksan dapat dilihat pada gambar 2.2.



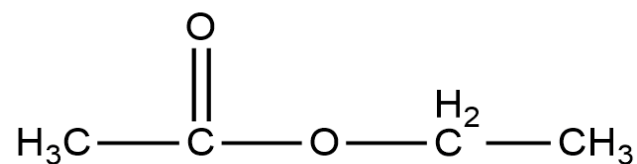
Gambar 2. 2 Struktur n-heksan (Yuniar & Marwati, 2019).

b. Etil Asetat

Etil asetat adalah cairan jernih dan tidak berwarna dengan bau khas, yang sering digunakan sebagai pelarut untuk tinta, perekat, dan resin (Azura *et al*, 2015). Dibandingkan dengan etanol, etil asetat memiliki koefisien distribusi yang lebih tinggi, termasuk kelarutannya dalam bensin. Selain itu, etil asetat dapat dimanfaatkan sebagai aditif untuk meningkatkan bilangan oktan bensin dan juga berfungsi sebagai bahan baku kimia serbaguna. Proses pembuatan etil asetat umumnya dilakukan melalui reaksi esterifikasi (Azura *et*

al, 2015). Sifat fisika etil asetat menurut Yuliani (2008) yaitu wujud cairan bening, berat molekul 88,105 gr/mol, densitas 0,897 gr/ml, titik leleh -83,6 °C titik didih 77,1 °C, titik Nyala -4 °C, (Data diambil pada keadaan standar 25 °C, 100 Kpa).

Struktur kimia etil asetat dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Struktur kimia Etil Asetat (Azura *et al*, 2015).

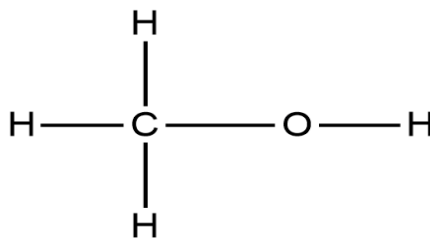
c. Metanol.

Metanol merupakan bahan pelarut paling banyak digunakan untuk melarutkan senyawa organik yang berasal dari bahan alam karena kemampuannya dalam melarutkan golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000). Metanol bersifat polar dan dapat bercampur dengan air serta beberapa jenis alkohol lain seperti eter, keton, ester, dan pelarut organik lainnya (Utomo, 2011).

Sifat polar pada metanol karena metanol memiliki gugus hidroksil (-OH) dan bersifat non polar karena memiliki gugus metil (-CH₃), Metanol mampu menarik senyawa saponin, steroid, dan flavonoid dari tanaman (Ramdani *et al*, 2017). Metanol merupakan senyawa alkohol dengan struktur yang sangat sederhana. Rumus kimia metanol yaitu CH₃OH, dengan sifat fisika yaitu titik didih

pada suhu 64,7°C, viskositas 0,597 mpa.s. pada 20°C, konstanta dielektrik sebesar 33,62 pada 20°C, indeks polaritas 33,1 (Adnan, 1997; Stahl, 1962; Sudarmadji *et al*, 1989).

Struktur kimia metanol dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Struktur Kimia Metanol (Iswara et al, 2016).

2.1.5 Uji Toksisitas

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. Bahan alam yang digunakan oleh masyarakat dan diduga berpotensi sebagai obat secara empiris diawali dengan pengujian secara praklinik untuk memprediksi tingkat kematiannya kemudian dilanjutkan uji farmakologi lainnya (Nuralifah *et al*, 2021; Prayoga *et al*, 2024). studi uji toksisitas yaitu untuk mengetahui sifat dan mekanisme efek toksik dari berbagai bahan terhadap makhluk hidup serta sistem biologi lainnya. Mekanisme yang mendasari efek toksik ini umumnya dapat diketahui melalui perubahan yang terjadi pada tingkat subseluler. Bagian-bagian yang rentan terhadap pengaruh toksin antara lain nukleus, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma, serta

struktur subseluler lainnya, termasuk membran plasma. Mekanisme toksik ini juga dapat diklasifikasikan berdasarkan sifat kimia dari molekul sasaran, seperti protein, koenzim, lipid, dan asam nukleat. Sementara itu, karbohidrat jarang terpengaruh oleh toksin (Akhsanita, 2012).

Toksisitas merujuk pada tingkat kerusakan yang disebabkan oleh suatu senyawa asing yang masuk ke dalam organisme. Secara umum, uji toksisitas dapat dilakukan secara in-vitro, yaitu di luar tubuh makhluk hidup (sel) dan secara in-vivo, yaitu di dalam tubuh makhluk hidup (hewan uji). Terdapat berbagai tingkatan toksisitas suatu senyawa, antara lain: toksisitas akut (terjadi dalam waktu singkat), subakut (terjadi dalam waktu sedang), kronik (terjadi dalam waktu panjang), letal (terjadi pada konsentrasi yang dapat langsung menyebabkan kematian), dan subletal (terjadi pada konsentrasi yang lebih rendah dari yang menyebabkan kematian langsung) (Apriasari *et al*, 2024; Kurt, 2004). Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/ sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014)

Zat toksik yang terpapar ke dalam tubuh manusia mengalami beberapa tahapan. Dimulai dari proses liberasi, yaitu penghancuran sediaan di saluran cerna. Selanjutnya, toksin diserap ke dalam darah dan getah bening, lalu tersebar ke seluruh tubuh. Di dalam sel, terjadi fase toksikodinamik, yaitu interaksi antara toksin dan reseptor. Setelah itu, berlangsung proses biotransformasi yang menghasilkan senyawa baru. Senyawa ini bisa menjadi kurang toksik (detoksifikasi) atau justru lebih toksik dan mengganggu fungsi sel (Mutschler, 1999). Menurut BPOM, (2014) Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* yaitu pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan, cara pemberian sediaan uji, pemilihan dosis uji, efek samping sediaan uji, teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan.

2.1.6 Konsentrasi Letal (LC_{50} dan LC_{90})

Nilai LC_{50} adalah parameter yang digunakan dalam uji toksisitas akut dengan mortalitas 50%, sedangkan LC_{90} merupakan uji toksisitas dengan konsentrasi zat yang menyebabkan mortalitas 90% pada hewan uji. Berdasarkan nilai LC_{50} dan LC_{90} , dapat diketahui apakah suatu bahan bersifat sangat toksik atau tidak toksik (Rusli *et al*, 2020). Penggunaan LC_{50} pada embrio, larva, dan ikan dewasa memungkinkan untuk memperoleh hasil yang lebih cepat dan mudah diamati dibandingkan penggunaan LC_{90} (Nagel, 2002).

Metode BSLT merupakan salah satu metode pengujian toksisitas akut yang paling banyak digunakan untuk mengetahui potensi batas keamanan dari suatu tanaman (Prayoga *et al*, 2024). Menurut Abriyani, (2022) suatu senyawa dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ dan dikatakan tidak toksik bila nilai $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. kategori toksisitas dapat dilihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Kategori Toksisitas (Abriyani, 2022)	
Kategori	LC_{50} (ppm)
Sangat toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

2.1.7 Larva Udang Sebagai Hewan Uji

Artemia salina Leach, yang sering disebut sebagai *brine shrimp*, adalah jenis udang-udangan primitif. Nama lainnya adalah *Cancer salinus* atau *Artemia salina*. *Artemia* hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi antara 15-300 per mil, temperature 25-30°C dan pH berkisar 7,3-8,4. Larva yang keluar disebut sebagai nauplius dan langsung hidup sebagai *artemia* muda. Terjadinya proses ovovivipar sangat tergantung pada kadar garam dan oksigen. *Artemia* mulai dewasa pada umur sekitar 2 minggu dan dapat hidup hingga 6 bulan, apabila keadaan lingkungannya cukup baik (Dici, 2004) *Artemia salina* Leach merupakan salah satu komponen penting dalam ekosistem laut, memainkan peran vital dalam perputaran energi dalam rantai makanan. Selain itu, *Artemia salina* Leach juga dapat digunakan dalam uji

laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa yang berasal dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007).

a. Klasifikasi *Artemia Salina Leach* (Mioara, 2011).

Divisi : *Animal*

Phylum : *Arthropoda*

Kelas : *Crustaceae*

Subkelas : *Branchiopoda*

Ordo : *Anostraca*

Familia : *Arthemidae*

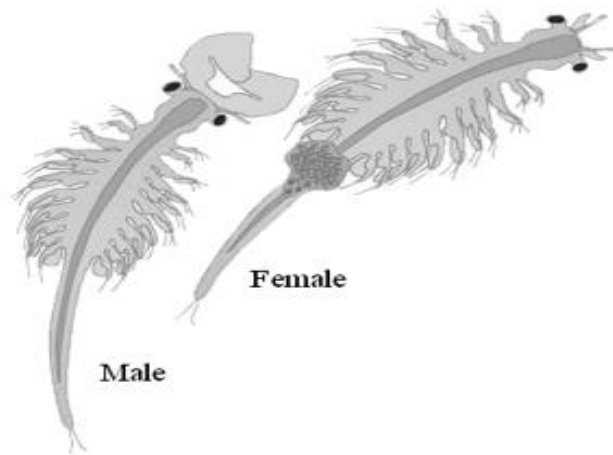
Genus : *Artemia*

Species : *Artemia salina Leach*

b. Karakteristik *Artemia salina*

Artemia salina Leach dewasa memiliki panjang tubuh sekitar 8–10 mm, namun dapat tumbuh hingga 15 mm tergantung pada kondisi lingkungan. Tubuhnya berbentuk memanjang dengan setidaknya 20 segmen dan dilengkapi sekitar 10 pasang phyllopodia pipih yang bergerak secara teratur seperti daun. Warna tubuh *Artemia* dewasa bervariasi, mulai dari putih pucat, merah muda, hijau, hingga transparan, dan umumnya hanya hidup selama beberapa bulan. Organismenya memiliki mulut serta sepasang mata yang terletak pada antena (Kanwar, 2007). *Artemia* dewasa memiliki 11 pasang thoracopoda atau kaki dada, yang terdiri dari

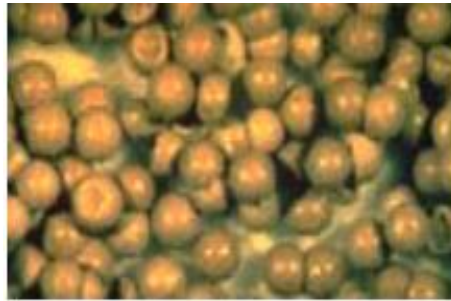
eksopodit, endopodit, dan epipodit, masing-masing berfungsi dalam pengambilan makanan, pergerakan, dan pernapasan. Pada individu jantan, antena kedua berkembang menjadi alat penjepit dan memiliki sepasang penis di bagian posterior. Sementara itu, betina memiliki antena sebagai alat sensorik serta sepasang ovarium di sisi saluran reproduksi, tempat telur matang dipindahkan ke uterus atau kantong telur (Akhsanita, 2012).



Gambar 2. 5 Artemia Salina Leach (Stappen, 2012).

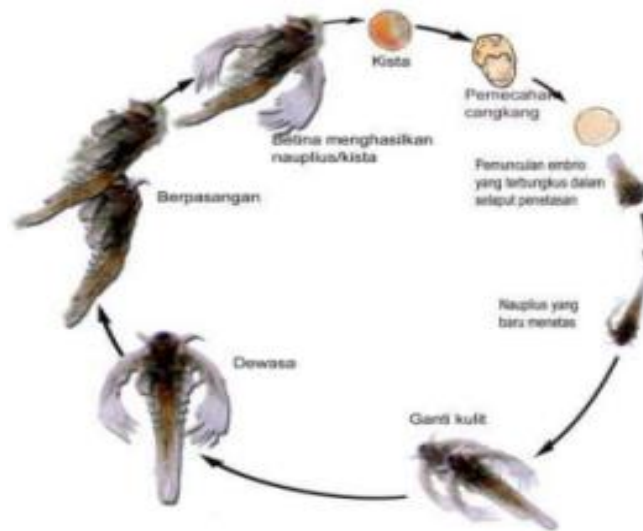
Telur *Artemia salina* berbentuk bulat, berlekuk saat kering, dan mengembang saat basah. Warnanya coklat dengan cangkang tebal yang melindungi embrio dari kekeringan, benturan, sinar UV, dan membantu mengapung. Artemia dewasa hidup hingga enam bulan. Betina bertelur setiap 4–5 hari, menghasilkan 50–300 telur atau nauplius yang tumbuh dewasa dalam 14 hari (Mudjiman, 1995). *Artemia salina Leach* dapat dijual dalam bentuk telur yang

dikenal sebagai kista. Kista yang berkualitas baik akan menetas dalam waktu 18-24 jam jika diinkubasi dalam air dengan salinitas 5-70 permil (Isnansetyo, 1995).



Gambar 2. 6 Telur Artemia Salina Leach (www.O-fish.com).

Artemia salina leach dapat dijual dalam bentuk telur yang dikenal sebagai kista. Sedangkan kista yang berukuran baik akan menetas dalam waktu 18-24 jam jika diinkubasi dalam air dengan salinitas 5-70 permil. Proses penetasan *Artemia salina* terdiri dari beberapa tahap, yaitu hidrasi, pecah cangkang, dan tahap payung. Pada tahap hidrasi, kista kering menyerap air, mengembang, dan mulai aktif secara metabolik. Selanjutnya, cangkang pecah, lalu dilanjutkan dengan tahap payung, yaitu saat sebelum nauplius keluar dari cangkang (Isnansetyo, 1995). Secara umum, siklus hidup larva udang mencakup 3 tahap yaitu stadium telur, stadium larva (nauplius), dan stadium larva udang dewasa (Reskianingsih, 2014).



Gambar 2. 7 Siklus hidup *Artemia salina* Leach (Aminudin, 2018).

Artemia yang baru menetas tidak langsung makan karena mulut dan anusnya belum berkembang dengan sempurna. Setelah 12 jam, mereka berganti kulit dan memasuki tahap larva kedua. Pada fase ini, mereka mulai mengonsumsi pakan seperti mikroalga, bakteri, dan detritus organik lainnya. Secara umum, *Artemia* tidak memilih-milih jenis pakan, asalkan bahan tersebut ada di air dan memiliki ukuran yang sesuai (Reskianingsih, 2014). Nauplius *Artemia* berganti kulit sebanyak 15 kali sebelum mencapai tahap dewasa dalam waktu sekitar 8 hari. *Artemia* dewasa biasanya berukuran sekitar 8 mm, meskipun dalam kondisi optimal, mereka dapat tumbuh hingga 20 mm. Pada ukuran ini, biomas mereka bisa mencapai 500 kali lipat dibandingkan dengan biomas pada fase nauplius. Fase kehidupan *Artemia salina* dapat dilihat pada Gambar 2.7 (Aminudin, 2018).

2.1.8 *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Metode BSLT merupakan uji pendahuluan yang menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai organisme uji. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ini digunakan sebagai metode skrining awal untuk mengidentifikasi tingkat toksisitas suatu ekstrak atau senyawa dari bahan alami secara sederhana dan efektif (Ningsih *et al*, 2013). Menurut Elhardallou, (2011) uji toksisitas dengan metode BSLT memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antikanker pada manusia.

Metode BSLT dipilih karena pengerjaannya lebih sederhana, hasilnya lebih cepat diperoleh, dan biayanya jauh lebih ekonomis. Pemilihan *Artemia salina* Leach didasarkan pada kemiripan respon terhadap stres dengan manusia, baik dari segi perilaku maupun fisiologis terhadap stresor lingkungan (Anisa *et al.*, 2022). Selain metode ini tergolong sederhana, murah, cepat, dan cukup akurat, metode uji toksisitas ini diukur berdasarkan jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati akibat paparan ekstrak atau senyawa bahan alami pada konsentrasi tertentu (McLaughlin *et al*, 1998; Meyer *et al*, 1982).

Kematian hewan uji digunakan untuk memperkirakan dosis kematian jika digunakan pada manusia. Apabila nilai LC_{50} dengan metode BSLT pada ekstrak tanaman bersifat toksik dapat dikembangkan sebagai obat antikanker (Carballo *et al.*, 2002; Priyanto, 2009). Hal ini sejalan dengan pemikiran bahwa efek farmakologis pada dosis rendah

merupakan bentuk sederhana dari toksikologi, dan karena sebagian besar senyawa antitumor bersifat sitotoksik, maka BSLT dapat dimanfaatkan sebagai uji awal untuk menilai potensi antitumor. Senyawa yang mampu membunuh larva *Artemia salina* diperkirakan juga memiliki kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel (Anderson et al, 1991).

Angka kematian pada hewan percobaan dihitung sebagai Median *Lethal Dose* (LD₅₀) atau Median *Lethal Concentration* (LC₅₀). Penggunaan LC₅₀ bertujuan untuk menguji toksisitas dengan perlakuan terhadap hewan percobaan melalui inhalasi atau dengan menggunakan media air. Kematian hewan uji digunakan sebagai acuan untuk memperkirakan dosis yang dapat menyebabkan kematian pada manusia (Cassarett & Doull, 1975). Proses ini dilakukan dengan menentukan nilai LC₅₀ selama 24 jam. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis probit untuk menghitung nilai LC₅₀. Jika nilai LC₅₀ untuk masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000 µg/mL, maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologis (Anderson et al, 1991).

Menurut Lisdawati & Kardono (2006), Beberapa keuntungan dari penggunaan metode BSLT antara lain: (1) metode ini telah terbukti efektif untuk mengamati toksisitas senyawa dalam ekstrak kasar tumbuhan dengan tingkat kepercayaan 95%, (2) merupakan metode

penapisan farmakologi awal yang sederhana, cepat, dan biaya rendah, (3) sering digunakan dalam pencarian senyawa antikanker, dan (4) berfungsi sebagai langkah awal dalam isolasi toksik yang terdapat dalam suatu ekstrak. Metode ini praktis, ekonomis, cepat, namun tetap efektif sebagai skrining awal untuk tanaman yang berpotensi sebagai antikanker dengan menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach (Meyer *et al*, 1982).

2.2 Landasan Teori

Masalah yang dihadapi masyarakat saat ini adalah banyaknya tanaman herbal yang belum diteliti khasiat dan keamanannya. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menghimbau agar masyarakat tidak menyebarkan informasi terkait tanaman herbal yang belum terbukti kebenarannya (BPOM, 2014). Uji toksisitas digunakan untuk mengevaluasi keamanan penggunaan obat herbal yang beredar di masyarakat. Nilai toksisitas akut (*Lethal Concentration/LC₅₀*) dapat memberikan informasi mengenai tingkat kematian organisme, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi dinamika populasi mereka (Diaz-Sosa *et al*, 2020).

Studi dan pemanfaatan terkait toksisitas untuk menilai keamanan tanaman dari suku Zingiberaceae telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya dengan menggunakan hewan pengerat sebagai model uji. Namun, penggunaan hewan mamalia dianggap mahal dan kurang efisien untuk mengamati perubahan morfologi yang disebabkan oleh paparan sampel. Oleh

karena itu, diperlukan optimasi pengujian toksisitas dengan mengganti model hewan uji dengan alternatif lain, seperti larva udang (Paramita *et al*, 2021).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sukmawati (2019), mendapatkan bahwa fraksi rimpang temu putih menunjukkan potensi toksisitas berdasarkan pengujian dengan metode BSLT. Nilai LC_{50} yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana memiliki efek toksisitas yang masuk dalam kategori toksik sedang. Hasil analisis probit menunjukkan fraksi etil asetat memiliki nilai LC_{50} sebesar 28,05227 ppm sedangkan pada fraksi n-heksana memiliki nilai LC_{50} sebesar 35,49229 ppm.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kaban *et al* (2016), Berdasarkan hasil uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*) diperoleh bahwa fraksi n-heksan memiliki toksisitas dengan nilai LC_{50} sebesar 63,8130 ppm, sedangkan fraksi etil asetat memiliki toksisitas yang rendah dengan nilai LC_{50} sebesar 3821,89 ppm.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rita, Suirta, dan Sabikin (2008), ekstrak kasar yang paling toksik dapat dilihat dari tingkat kematian hewan uji yang tinggi. Pada konsentrasi tertentu, senyawa seperti alkaloid, steroid, dan flavonoid dapat bersifat toksik, yang berpotensi menyebabkan kematian pada larva *Artemia salina*. (Nurhayati *et al*, 2006) menyebutkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

2.3 Hipotesis

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

- Ho : Tidak terdapat efek toksik pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol dari rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume).
- H1 : Terdapat efek toksik pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol dari rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume).