

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kekara Laut (*Canavalia rosea*)

2.1.1 Morfologi Tanaman

Kekara laut merupakan tanaman merambat yang memiliki Panjang 2-6 m dan memiliki batang yang berbentuk bulat berwarna hijau kecoklatan. Tanaman ini memiliki tiga helai daun lonjong di setiap tangkainya. Kekara laut memiliki nama lain krandan, *baybean*, *seaside jackbean*. Kekara laut memiliki nama latin sebagai *Canavalia rosea*. Tanaman ini dapat ditemukan di daerah pesisir pantai yang dapat hidup dengan baik diatas pasir. Tanaman kekara laut memiliki bunga dengan warna yang bervariasi seperti kuning, pink, ungu dan putih. Bunga kekara laut digunakan sebagai sayuran seperti pecel dan lodeh, dan kacangnya dapat dimanfaatkan untuk dijadikan tempe serta dijadikan sebagai makanan ikan. Bunga kekara laut yang berwarna ungu, pink dan kuning memiliki bau yang harum (Batoro, 2018).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman



Gambar 2. 1 Bunga Kekara Laut (*Canavalia rosea*)
(sumber: Bob Peterson, 2020)

Kerajaan : *Plantae*
Phylum : *Streptophyta*
Sub Kelas : *Magnoliidae*
Kelas : *Equisetopsida*

Ordo : *Febales*
family : *Fabaceae*
Genus : *Canavalia*
Jenis : *Canavalia rosea*

(Sumber : <https://powo.science.kew.org/>)

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Hasil identifikasi senyawa metabolit pada ekstrak bunga kekara laut (*Canavalia rosea*) mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan tanin (Idrus *et al.*, 2024).

Alkaloid merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari atom nitrogen yang dapat ditemukan pada jaringan hewan maupun tumbuhan. Alkaloid banyak ditemukan pada spesies tumbuhan angiosperm. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian ditanaman misalnya pada bagian bunga, biji, akar, daun, ranting, dan kulit batang. Alkaloid ditemukan dengan jumlah kadar yang kecil sehingga dalam proses isolasinya harus dipisahkann dari campuran senyawa metabolit yang lain (Retno *et al*, 2016). Alkaloid merupakan senyawa metabolit yang memiliki manfaat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan sebagai antimalaria. Golongan alkaloid juga memiliki sifat sebagai racun yang bertujuan untuk melindungi dari serangga juga sebagai salah satu faktor yang mengatur pertumbuhan serta sebagai senyawa yang mampu memenuhi nitrogen dan unsur-unsur lain yang dibutuhkan oleh tumbuhan (Retno *et al*, 2016).

Saponin merupakan senyawa metabolit yang memiliki 2 aglikon yaitu steroid dan triterpenoid. Saponin berkaitan dengan protein sehingga akan banyak ditemukan senyawa ini pada bagian yang banyak terkandung protein. Saponin lebih banyak ditemukan pada daun yang masih muda tetapi memiliki aktivitas hemolitik yang rendah dibandingkan dengan saponin yang berasal dari akar. Saponin merupakan senyawa nonvolatilem dan memiliki sifat yang sangat larut dalam air dan alcohol. Peranan steroid saponin dalam farmakologi adalah dapat mengobati reumatik, anemia, diabetes, dan antifungi sedangkan pada saponin triterpenoid memiliki potensi sebagai antibakteri, antijamur dan antiinflamasi (Anggraeni *et al.*,

2023). Saponin memiliki bermacam-macam sifat biologis seperti aktivitas hemolitik, antimolukosa, antivirus, sitotoksik atau antikanker, efek hipokolesterolemia dan antiprotozoa (Gusungi *et al.*, 2020). Tumbuhan yang mengandung saponin dapat ditemukan pada tumbuhan yang berbunga. Keberadaan saponin dalam tumbuhan dapat ditandai dengan adanya busa stabil ketika dilarutkan atau digojok dalam air (Darma *et al.*, 2020).

Flavonoid merupakan suatu senyawa metabolit yang dapat banyak ditemukan pada bagian jaringan tumbuhan. Flavonoid bisa secara langsung mereduksi radikal bebas oksigen, seperti superoksida yang dihasilkan oleh reaksi *xantin oksidase*. Aktivasinya sebagai antioksidan karena terdapat gugus hidroksil bebas pada cincin aromatik yang memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas (Fatwami *et al.*, 2023). Senyawa flavonoid dapat ditemukan di bagian tumbuhan yaitu pada kulit, daun, buah, biji serta akar. Berdasarkan mekanismenya flavonoid juga digunakan untuk pengobatan arteroskelosis, antiinflamasi, antitumor, antitrombogenik, antivirus, dan antiosteoporosis (Lindawati *et al.*, 2022).

Polifenol merupakan suatu senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan dan memiliki fungsi sebagai penangkal radikal bebas (Nursan *et al.*, 2023). Polifenol juga berperan aktif dalam mencegah penyakit degeneratif, gangguan kardiovaskular dan menonaktifkan zat yang memacu pertumbuhan kanker. Senyawa ini banyak ditemukan pada suatu tanaman, keberadaan senyawa ini dapat ditandai dengan adanya cincin aromatik yang dapat membawa lebih dari satu ion hidrogen (Proklamasiningsih *et al.*, 2019). Senyawa metabolit polifenol dibedakan menjadi dua golongan yaitu flavonoid (flavon, flavonol, flavonon, isoflavone, antosianin dan kalkon) serta tanin (polimer asam fenolat, katekin atau isokatekin) (Proklamasiningsih *et al.*, 2019).

Tanin merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang mudah ditemukan dan disintesis pada tanaman. Tanin mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Metan *et al.*, 2016). Umumnya tanin dapat ditemukan di hampir semua bagian tanaman seperti pada daun, batang, kulit kayu dan juga buah. Tanin terbagi atas dua

jenis yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Jumlah tanin terkondensasi lebih dominan daripada tanin terhidrolisis dalam suatu tanaman (Hersila *et al.*, 2016). Tanin memiliki sifat tertentu, yaitu sifat fisika dan kimia. Sifat fisika dari tanin adalah membentuk koloid jika dilarutkan di dalam air, memiliki bau yang khas dan rasa asam serta tidak memiliki titik leleh. Sifat kimia tanin adalah sulit dipisahkan dan sulit dikristalisasi, dapat larut dengan pelarut organik, serta mudah dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim (Hersila *et al.*, 2016).

2.2 Uji Aktivitas Toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu metode uji untuk melihat aktivitas farmakologi yang berpotensi menimbulkan efek toksik pada suatu senyawa tertentu. Uji toksisitas dibedakan menjadi dua yaitu uji toksisitas umum dan uji toksisitas spesifik. Pada uji toksisitas umum meliputi uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas kronis. Pada uji toksisitas spesifik meliputi uji teratogenis, uji mutagenis, dan uji karsinogenitas (Setiasih *et al.*, 2016). Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui suatu pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu zat kimia pada hewan coba yang digunakan sebagai uji pra skrining suatu senyawa bioaktif antikanker (Jelita *et al.*, 2020).

2.2.1 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut merupakan suatu metode pengujian untuk mendeteksi terkait aktivitas toksik yang akan terlihat dalam waktu yang singkat setelah pemberian senyawa atau sediaan uji dalam bentuk dosis tunggal ataupun berulang dalam waktu 24 jam (Melisa *et al.*, 2022). Tolak ukur kuantitatif yang digunakan dalam analisis toksisitas akut adalah nilai LC_{50} . Tanaman obat harus melalui berbagai proses uji sehingga aman untuk dikonsumsi salah satunya adalah uji toksisitas akut (Jumain *et al.*, 2018).

2.2.2 Uji Toksisitas Sub kronis

Uji toksisitas sub kronis merupakan uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang menggunakan hewan uji tertentu, selama 1 sampai 3 bulan. Pada uji toksisitas subkronis yang diperhatikan adalah fungsi organ seperti hati dan ginjal setelah diberikan sampel uji selama 60 hari (Fatma *et al.*, 2017).

Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi efek toksik zat uji setelah pemberian secara berulang serta mempelajari efek kumulatif dan efek reversibilitas (Umayah *et al.*, 2018).

2.2.3 Uji Toksisitas Kronis

Uji toksisitas kronis merupakan suatu uji yang digunakan untuk mengidentifikasi efek toksik yang timbul setelah pemberian senyawa uji secara berulang selama seluruh umur hewan uji. Prinsip dasar pengujian toksisitas kronis sama dengan uji toksisitas sub kronis namun terdapat perbedaan pada periode sediaan uji yang diberikan yaitu lebih dari 3 bulan, sehingga memerlukan waktu yang lebih Panjang (Winarni *et al.*, 2016).

2.2.4 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

BSLT merupakan suatu metode skrining awal untuk mengetahui aktivitas toksisitas menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Prinsip metode pengujian BSLT yaitu berdasarkan senyawa aktif dan sifat toksiknya yang dapat membunuh populasi larva udang *Artemia salina* (Rosa, 2020). *Artemia salina* memiliki beberapa kesamaan dengan mamalia seperti pada tipe DNA *dependent* RNA *polimerase* sehingga senyawa maupun ekstrak yang menghambat aktivitas pada sistem tersebut secara langsung memiliki aktivitas antimitotik (Datula *et al.*, 2021). *Artemia salina* merupakan organisme yang memiliki kepekaan yang tinggi terhadap lingkungannya. Adapun keuntungan penggunaan metode BSLT, di antaranya:

- a. Uji praskrining aktivitas biologis yang sederhana dalam menentukan toksisitas suatu senyawa.
- b. Waktu pengujian yang cepat, metode yang mudah dilakukan sehingga tidak memerlukan peralatan khusus.
- c. Memiliki hasil yang representatif dan metode yang sudah teruji tingkat kepercayaannya sebesar 95% untuk mengamati aktivitas toksik pada suatu senyawa.
- d. Relatif tidak membutuhkan biaya yang besar.
- e. Sering digunakan untuk identifikasi senyawa antikanker (Kurniawan *et al.*, 2021).

Artemia salina adalah jenis udang-udangan kelas kecil yang digolongkan sebagai zooplankton. Berikut adalah klasifikasi dari *Artemia salina*.



Gambar 2. 2 Larva Udang (*Artemia salina*)
(Dumitrascu, 2011)

Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustacea</i>
Subkelas	: <i>Branchiopoda</i>
Ordo	: <i>Anostraca</i>
Famili	: <i>Artemiidae</i>
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach (KKP, 2016)

Artemia salina merupakan jenis udang-udangan primitif yang sudah banyak dikenal dan digunakan dalam suatu penelitian. Hewan ini hidup planktonik di daerah perairan yang memiliki kadar garam tinggi antara 15-300 per mil. Suhu yang berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L dan pH antara 7,3 – 8.4 (Dangeubun, 2024). *Artemia salina* memiliki tubuh yang terbagi menjadi 3 yaitu kepala, dada dan perut. Pada bagian kepala terdapat 2 tungkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Dada terbagi atas 11 segmen yang masing-masing mempunyai sepasang kaki untuk renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* yang sudah dewasa memiliki bentuk yang sempurna (Agustina *et al.*, 2023). *Artemia salina* jantan terdapat penis, sedangkan pada betina terdapat kantong telur.

Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh *Artemia salina* merupakan protein dan asam lemak yang tinggi. Kandungan nutrisi pada *Artemia salina* antara lain karbohidrat, lemak, air, protein, dan kadar abu. Kandungan protein berkisar antara 40-60% (Wijianto *et al.*, 2024). Lingkungan hidup *Artemia salina* Leach harus memenuhi beberapa kriteria di bawah ini:

- a. Suhu lingkungan yang terbaik untuk perkembangan *Artemia salina* adalah 25-30°C.
- b. *Artemia salina* bersifat fototaksis atau biasa disebut dengan menyukai cahaya, sehingga pada saat penetasan perlu dilakukan penyinaran.
- c. Memperhatikan tingkat keasaman pada lingkungan hidup artemia. pH pada media pemeliharaan *artemia* berkisar antara 7-8,5 dan untuk penetasan *artemia* mencapai tingkat keasaman optimal pada pH 8-9 (Aliyas *et al.*, 2019).

2.2.5 Lethal Concentration (LC₅₀)

Metode BSLT merupakan metode untuk menentukan nilai mortalitas dari larva udang yang disebabkan oleh senyawa yang diujikan. Nilai mortalitas dinyatakan dalam nilai LC₅₀, yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian 50% populasi setelah diberikan perlakuan dan dilakukan observasi selama 24 jam (Putra *et al.*, 2017). Menurut Mayer dalam Andini *et al.*, 2021. Kategori toksisitas dapat dilihat pada penggolongan berikut :

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

Tabel 1. 1 Kategori Tingkat Toksisitas

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik dengan kategori sangat toksik apabila memiliki kemampuan membunuh larva udang *Artemia salina* sebanyak 50% dari populasi keseluruhan dengan konsentrasi kurang dari 30 ppm. Senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik dengan kategori toksik apabila memiliki kemampuan membunuh larva udang *Artemia salina* sebanyak

50% dari populasi keseluruhan dengan konsentrasi dalam rentang antara 31 sampai dengan 1000 ppm. Suatu senyawa dapat dikatakan dalam kategori tidak toksik apabila dalam konsentrasi lebih dari 1000 ppm tidak mampu mematikan 50% atau bahkan keseluruhan populasi larva udang *Artemia salina*.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode yang dilakukan untuk memisahkan komponen senyawa menggunakan suatu pelarut (Fauziyah *et al.*, 2022). Metode ini bertujuan untuk menarik senyawa yang diinginkan yang sesuai dengan pelarut yang digunakan dengan batas maksimum. Metode ekstraksi menggunakan prinsip kelarutan *like dissolve like* dimana suatu pelarut apabila memiliki sifat polar maka pelarut tersebut akan menarik senyawa yang bersifat polar, apabila pelarut yang digunakan bersifat non polar maka senyawa yang akan tertarik adalah senyawa non polar (Kasim *et al.*, 2020). Faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah suhu operasi, kecepatan pengadukan, ukuran, bentuk sampel, dan jumlah pelarut (Anggista *et al.*, 2019).

Metode ekstraksi maserasi merupakan metode pemisahan atau isolasi senyawa yang banyak digunakan karena sederhana dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik yang sesuai pada temperatur tertentu (Asworo *et al.*, 2023). Prinsip kerja maserasi didasarkan pada kemampuan larutan penyari dalam menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung berbagai komponen senyawa zat aktif (Asworo *et al.*, 2023). Proses maserasi dilakukan dengan melakukan pengadukan berulang atau pengocokan dalam suhu ruang (Handoyo *et al.*, 2020). Metode maserasi sangat aman digunakan karena selama prosesnya tidak melalui pemanasan sehingga sangat cocok pada senyawa yang bersifat termolabil (Asworo *et al.*, 2023). Waktu maserasi yang terlalu singkat membuat senyawa tidak larut sepenuhnya dalam pelarut yang digunakan dan apabila waktu maserasi terlalu lama maka tidak akan meningkatkan jumlah senyawa yang akan terlarut karena jumlah zat yang terlarut dalam pelarut karena sudah jenuh (Asworo *et al.*, 2023).

2.4 Pelarut

Pada proses ekstraksi, pelarut dapat mempengaruhi simplisia sehingga senyawa kimia yang terdapat pada simplisia terjadi penarikan secara optimal (Agustina *et al.*, 2018). Dalam pemilihan pelarut dapat mempertimbangkan beberapa hal yaitu :

- a. Pelarut yang akan digunakan harus mempunyai titik didih rendah, agar ketika proses penguapan pelarut dapat menguap secara menyeluruh pada suhu rendah serta tidak tertinggal pada ekstrak.
- b. Pelarut yang digunakan mampu melarutkan semua zat aktif yang terkandung dalam simplisia secara sempurna serta menyeluruh.
- c. Pelarut tidak boleh bersifat toksik dan mudah terbakar.
- d. Pelarut harus bersifat inert supaya tidak ada reaksi antara pelarut yang digunakan dengan senyawa yang terdapat pada ekstrak (Kurniawati, 2019).

Etanol merupakan suatu pelarut organik yang sudah banyak digunakan dalam proses ekstraksi. Etanol banyak digunakan karena relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, memiliki harga yang relatif lebih murah, mudah didapatkan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Saputri *et al.*, 2020) Etanol memiliki tingkat polaritas yang tinggi, sehingga dapat dengan mudah larut dalam air dan hampir semua pelarut organik (Dianda *et al.*, 2022). Etanol mampu mengesktrak senyawa yang larut dalam pelarut polar seperti komponen fenolik, saponin, ranin dan glikosida (Agustini., 2017).

Etil asetat merupakan suatu pelarut yang memiliki tingkat toksik rendah dan bersifat semi polar sehingga dapat dimanfaatkan untuk menarik senyawa yang bersifat campuran polar dan non polar (Warni *et al.*, 2022). Senyawa metabolit yang dapat larut dalam etil asetat adalah senyawa alkaloid, fenolik, dan steroid, flavonoid (Amelia *et al.*, 2021). Etil asetat akan lebih banyak melarutkan senyawa flavonoid dibandingkan dengan atanol (Evita *et al.*, 2022).

n-heksan merupakan suatu pelarut yang baik untuk digunakan dalam ekstraksi senyawa yang bersifat non polar karena memiliki beberapa keunggulan yaitu volatile, stabil dan selektif (Constanty *et al.*, 2021). Senyawa yang dapat larut pada

pelarut non polar ini adalah lemak, terpenoid, dan steroid (Agustini., 2017). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi akan tertarik dalam pelarut ini.

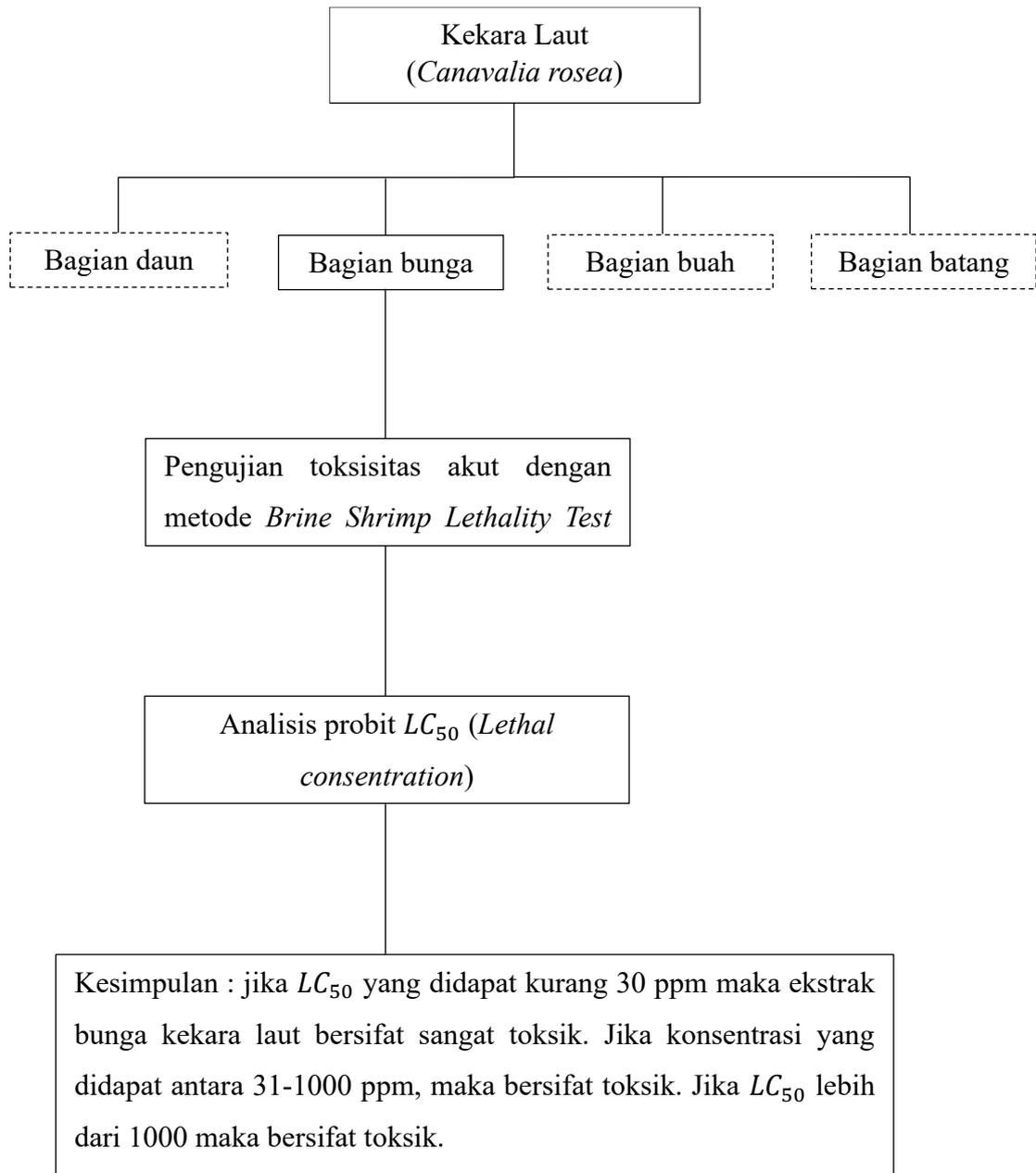
2.5 Penelitian Terdahulu

NO	PENELITI	JUDUL JURNAL	TAHUN	METODE	HASIL
1.	Slamet Slamet, Laula, Milatun Khanifah	Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan dan Etanol, Ekstrak Daun <i>Dendrophthoe glabrescen</i> (Benalu Jeruk) sebagai Skrining Awal Anti-Kanker dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	2020	Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (<i>Dendrophthoe glabrescen</i>) terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i> Leach. Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan kandungan kimia ekstrak di antaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol menggunakan KLT.	Hasil uji toksisitas ekstrak, fraksi n heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (<i>Dendrophthoe glabrescen</i>) ketiganya menunjukkan toksisitas terhadap larva <i>Artemia salina</i> Leach. dengan nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$.
2.	Alya Hermawanf utri, Siti Hazar	Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol dan fraksi daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.) dengan Metode BSLT	2023	Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.) terhadap larva	Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menghasilkan nilai LC_{50} yang lebih rendah yaitu 187,5858 ppm, sehingga fraksi

				udang <i>Artemia salina</i> .	etil asetat memiliki efek sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana.
3.	Antonius Padua Ratu1, Eko Mugiyanto	Uji Toksisitas Daun Ketepeng (<i>Cassia Alata</i> L.), Kulit Buah Pisang Ambon (<i>Musa Paradisiaca</i> L.Var Sapientum) Dan Kulit Rimpang Kencur (<i>Kaempferia Galanga</i> Linn.) Dengan Metode (BSLT)	2018	proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi tiga simplisia pelarut etil asetat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dan dipekatkan untuk dihitung rendemennya. Filtrat yang diperoleh diuapkan dan dipekatkan untuk dihitung rendemennya. Uji toksisitas dengan metode BSLT	Ekstrak etil asetat kulit rimpang kencur menunjukkan nilai LC_{50} kurang dari 10 ppm yang dianggap mempunyai potensi antikanker.
4.	Jamilatur Rohmah , Chylen Setiyo Rini , Fitria Eka Wulandari	Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (<i>Lactuca sativa</i> var. <i>Crispa</i>) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi	2019	Serbuk simplisia selada merah ditimbang sebanyak 50 gram dan dimaserasi dalam 300 mL pelarut metanol, etanol, etil asetat, dan n-	Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak n-heksana memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap <i>Artemia salina</i> Leach. dibandingkan dengan ekstrak yang lainnya

		Dengan Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)		heksana pada suhu ruang selama 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring. Residu yang diperoleh diremaserasi dan diulang sebanyak 5 kali maserasi. Kemudian dilakukan uji kualitatif fitokimia dan uji aktivitas sitotoksik untuk masing-masing ekstrak.	dengan nilai LC_{50} ekstrak etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana secara berturut-turut adalah 322,288 ppm; 207,827 ppm; 1468,261 ppm; dan 170,115 ppm.
5.	Irman Idrus, Efa Kelya Nasrun, Muhammad Eka Putra Ramandha	Profil Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Bunga Kekara Laut (<i>Canavalia rosea</i>) Menggunakan Metode Difusi Cakram	2024	<i>Canavalia rosea</i> dihancurkan dan dihaluskan menjadi serbuk seberat 1 kg. Serbuk <i>Canavalia rosea</i> kemudian direndam dalam etanol 70% selama 24 jam.	Dalam fraksi etil asetat <i>Canavalia rosea</i> , ditemukan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, dan tanin berdasarkan hasil uji fitokimia.

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan :



= Dilakukan penelitian



= Tidak dilakukan penelitian