BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

1. Deskripsi Tanaman

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*) adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga *Rubiaceae*. Mengkudu adalah tanaman tropis yang berasal dari Asia Tenggara. Tanaman ini bisa tumbuh sampai setinggi sekitar 3-10 meter. Tanaman ini memiliki daun berbentuk elips lebar dengan panjang sekitar 8-25 cm dan lebar 10-40 cm (Arniyanti et al., 2023).

Mengkudu memiliki bunga berbentuk tabung kecil berukuran antara 10-30 mm yang menyatu pada gagang bunga. Pengembangbiakan mengkudu tidak hanya secara generatif atau dari biji, tetapi bisa juga secara vegetatif dengan metode stek (Rio Rifaldy et al., 2019).

2. Klasifikasi Tanaman (World Health Organization, 1999)

Berikut ini klasifikasi tanaman Mengkudu

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Filum : *Magnoliopsida*

Ordo : *Rubiales*

Famili : *Rubiaceae*

Genus : *Morinda*

Spesies : *Morinda citrifolia*

Sumber : (https://fumyherbalalam.com)



Gambar 2.1 : Tanaman Mengkudu

Kemenkes Poltekkes Bengkulu

3. Kandungan Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Penelitian yang dilakukan oleh (Parida, 2022) mengungkapkan bahwa daun mengkudu mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin

Tabel 2.1 : Hasil Uji Skrining Fitokimia Kandungan Senyawa Daun Mengkudu (Parida, 2022)

Pengujian	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	+	Terbentuk endapan putih kekuningan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCL pekat	+	Warna merah bata
Terpenoid	Asam asetat anhidrat + H2SO4 pekat	+	Warna merah
Tanin	FeCl3 1%	-	Merah kecoklatan
Saponin	Aquadest panas + HCl 2N	+	Terbentuk busa

Penelitian yang dilakukan oleh (Sogandi & Nilasari, 2019) juga menyebutkan bahwa buah mengkudu mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan fenol."

Tabel 2.2 : Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tannin	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenol	+

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat, baik dalam bentuk asli yang belum diolah maupun dalam bentuk kering. Obat sederhana dibagi menjadi tiga jenis: berbasis tumbuhan (berasal dari tumbuhan), berbasis hewan (berasal dari hewan), dan berbasis mineral (berasal dari mineral). Ini mencakup tumbuhan utuh, bagian tumbuhan tertentu, atau getah yang diperoleh dari tumbuhan. (Ditjen POM, 2000).

Getah tumbuhan adalah isi sel yang secara alami keluar dari tumbuhan atau dipisahkan dengan cara tertentu, yang belum berbentuk senyawa kimia murni. Sementara itu, simplisia hewan adalah simplisia yang berasal dari hewan, baik berupa seluruh tubuh hewan, bagian-bagian tertentu dari hewan, maupun zat-zat yang dihasilkan oleh hewan yang juga belum berbentuk senyawa kimia murni. Sementara itu, simplisia mineral adalah simplisia yang bersumber dari bahan mineral atau batuan yang belum mengalami pengolahan lebih lanjut atau belum berbentuk senyawa kimia murni. (Ditjen POM, 2000).

Baik tanaman obat yang dibudidayakan maupun yang dipanen secara liar mengandung senyawa kimia yang kadarnya dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti perbedaan kualitas benih, kondisi lingkungan, iklim, waktu panen, dan penanganan pasca panen. Variasi kadar zat aktif dalam panen tanaman obat ini umumnya disebabkan oleh faktor-faktor berikut: (Ditjen POM, 2000):

1. Genetik (bibit)
2. Lingkungan (tempat tumbuh, iklim)
3. Rekayasa agronomi (fertilizer, perlakuan selama masa tumbuh)
4. Panen (waktu dan pasca panen)

Proses panen dan persiapan simplisia adalah langkah awal yang bisa menentukan kualitas hasil simplisia, seperti mempengaruhi kandungan zat, pencemaran, dan kestabilan bahan (Ditjen POM, 2000).

C. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari bahan tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut yang sesuai. Setelah proses ekstraksi, pelarut diuapkan dengan pemanasan hingga benar-benar hilang, dan residu yang tersisa diproses lebih lanjut hingga memenuhi standar yang ditetapkan. (Ditjen POM, 2000).

Kualitas ekstrak dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu faktor biologis dan kimia. Faktor biologis meliputi lokasi asal tanaman, jenis atau spesies tanaman, waktu panen, kondisi penyimpanan, dan bagian tanaman yang digunakan. Sementara itu, faktor kimia meliputi faktor internal seperti jenis senyawa aktif, komposisi dan konsentrasi masing-masing senyawa aktif, serta rata-rata konsentrasi total zat aktif. Selain itu, faktor eksternal juga berperan, seperti metode pemisahan, ukuran, kekerasan, dan kekeringan bahan, jenis pelarut yang digunakan, serta kandungan logam berat dan residu pestisida. (Ditjen POM, 2000).

Kemenkes Poltekkes Bengkulu

1. Ekstraksi Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah metode pemisahan senyawa dari zat sederhana menggunakan pelarut, yang dilakukan pada suhu ruang dengan pengadukan berulang. Maserasi dinamis merupakan variasi dari proses ini yang berlangsung secara terus-menerus. Pada prinsipnya, maserasi dilakukan dengan menambahkan kembali pelarut setelah penyaringan pertama maserasi, kemudian mengulangi proses tersebut pada tahap-tahap berikutnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode pemisahan senyawa menggunakan aliran pelarut segar yang terus-menerus hingga semua bahan aktif larut sempurna, biasanya pada suhu ruang. Proses ini melibatkan beberapa tahap: pemurnian bahan baku, perendaman awal (maserasi awal), dan perkolasi berkelanjutan hingga diperoleh

ekstrak yang mengandung semua komponen target. Umumnya, volume ekstrak yang dihasilkan berkisar antara 1 hingga 5 kali massa volume bahan baku awal.

2. Ekstraksi Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah metode pemisahan senyawa menggunakan pelarut yang dipanaskan hingga titik didihnya, yang dilakukan selama periode waktu tertentu dengan volume pelarut yang relatif konstan. Proses ini dilengkapi dengan perangkat pendingin di bagian atas yang mengembunkan uap pelarut kembali ke dalam sistem, sehingga pelarut tetap berada pada konsentrasi semula. Pengulangan proses pemisahan pada bahan yang tersisa memungkinkan hasil ekstrak yang lebih optimal.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah metode pemisahan senyawa menggunakan pelarut baru secara berulang, menggunakan alat khusus (alat Soxhlet). Dalam teknik ini, ekstraksi dilakukan berulang kali menggunakan volume pelarut yang relatif konstan, dilengkapi dengan kondensor refluks untuk mengondensasi uap pelarut sehingga dapat digunakan secara terus-menerus dalam ekstraksi berikutnya.

c. Digestasi

Digestasi adalah metode pemisahan zat yang mirip seperti maserasi dengan melibatkan pencapuran secara merata. Perbedaan utama terletak pada penggunaan temperatur yang lebih tinggi, melebihi rentang 40-50 °C dalam proses ekstraksinya.

d. Infundasi

Infundasi merupakan metode pemisahan senyawa menggunakan air pada suhu sekitar 90℃ selama 15 menit, guna memperoleh hasil ekstraksi yang optimal.

e. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan suatu cara pemisahan senyawa dari obat sederhana dengan menggunakan air sebagai pelarut, yang dilakukan pada suhu sekitar 90℃ selama 30 menit.

D. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu teknik pemisahan yang bertujuan untuk mengisolasi komponen-komponen murni dari suatu campuran kompleks. Prinsip utama fraksinasi adalah perbedaan sifat fisik antar komponen, seperti polaritas, titik didih, atau kelarutan. Teknik ini sangat penting dalam berbagai bidang, mulai dari kimia organik dan anorganik hingga industi farmasi dan makanan.

1. Fraksinasi Berdasarkan Kepolaran

a. Fraksinasi Cair-Cair

Prinsip fraksinasi didasarkan pada perbedaan kelarutan senyawa dalam dua pelarut yang tidak bercampur, seperti n-heksana dan air. Senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar, sementara senyawa nonpolar lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar. (Firanita, 2018).

b. Kromatografi Kolom

Cara kerjanya didasarkan bergantung pada perbedaan daya tarik atau campuran terhadap fase diam dan fase gerak dalam sebuah kolom.

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Merupakan metode teknik analisis yang sederhana tetapi sangat efektif untuk memisahkan sekaligus mengidentifikasi komponen-komponen dalam suatu

campuran. KLT bekerja berdasarkan prinsip adsorpsi, di mana komponen-komponen dalam campuran akan teradsorpsi pada fase diam dengan kekuatan yang berbeda-beda (Rondius, 2012).

2. Fraksinasi Berdasarkan Ukuran Molekul

a. Dialisis

Dialisis adalah proses pemisahan molekul berdasarkan perbedaan ukuran, menggunakan membran semipermeabel berpori-pori dengan ukuran tertentu. Molekul yang lebih kecil dari ukuran pori dapat melewati membran, sementara molekul yang lebih besar tertahan.

b. Ultrafiltrasi

Proses ini memanfaatkan membran semipermeabel dan tekanan untuk memisahkan molekul berdasarkan ukurannya. Proses ini mirip dengan dialisis, namun dengan penambahan tekanan untuk mempercepat proses pemisahan.

c. Gel Permeation Chromatography (GPC)

Suatu teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan molekul berdasarkan ukurannya. Prinsip kerjanya didasarkan pada partisi molekul antara fase gerak cair dan fase stasioner berpori.

3. Fraksinasi Berdasarkan Titik Didih

a. Distilasi

Distilasi adalah metode pemisahan campuran berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponennya. Dalam proses ini, campuran dipanaskan hingga komponen dengan titik didih lebih rendah menguap terlebih dahulu. Uap yang dihasilkan kemudian didinginkan dan dikondensasikan kembali menjadi cairan murni. (Arman et al., 2014).

4. Fraksinasi Berdasarkan Muatan Listrik

a. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul berdasarkan muatan listriknya dalam suatu medan listrik.

5. Fraksinasi Berdasarkan Kelarutan

a. Kristalisasi

Proses terbentukan kristal padat dari sebuah larutan. Proses ini terjadi ketika larutan suatu zat dalam pelarut melebihi batas kesetimbangan. Kristal yang terbentuk memiliki struktur yang teratur dan spesifik.

b. Presipitasi

Suatu proses pembentukan endapan padat dari suatu larutan. Endapan ini terbentuk ketika suatu zat menjadi terlalu tidak larut dalam pelarut. Prepitasi dapat terjadi karena perubahan suhu, penambahan reagen, dan perubahan pH.

Komenkes
Poltekkes Bengkulu

E. Uji Toksisitas Praklinik

Uji toksisitas adalah uji yang dirancang untuk mengevaluasi efek samping suatu zat terhadap sistem biologis. Pengujian ini menghasilkan data kuantitatif yang menggambarkan hubungan antara dosis yang diberikan dan respons biologis yang dihasilkan. Informasi dari uji toksisitas ini digunakan untuk menilai tingkat risiko zat tersebut jika terpapar pada manusia, sehingga memungkinkan penentuan dosis yang aman (BPOM, 2022).

Uji toksisitas pada hewan uji berfungsi sebagai model awal untuk mendeteksi potensi reaksi biokimia, fisiologis, dan patologis akibat paparan sediaan uji yang mungkin juga terjadi pada manusia. Meskipun data yang dihasilkan tidak dapat diterapkan secara langsung pada manusia, hasil uji ini memberikan informasi penting

mengenai potensi toksisitas relatif suatu zat dan membantu mengidentifikasi potensi efek samping yang mungkin timbul akibat paparan pada manusia (BPOM, 2022).

Uji toksisitas praklinis in vivo adalah serangkaian percobaan pada hewan yang bertujuan untuk mengidentifikasi efek samping yang merugikan pada sistem biologis dan memperoleh data spesifik mengenai hubungan dosis-respons dari sediaan yang diuji. Informasi yang diperoleh dari pengujian ini sangat penting untuk memastikan keamanan suatu produk sebelum digunakan pada manusia, baik dalam pengembangan obat baru, obat tradisional, obat kuasi, suplemen kesehatan, makanan olahan, maupun kosmetik (BPOM, 2022).

Keabsahan uji toksisitas sangat bergantung pada berbagai faktor, seperti sediaan yang diuji, proses preparasi, penetapan dosis, jenis hewan uji, teknik serta prosedur pengujian yang digunakan, dan juga keterampilan SDM yang kompeten. Faktor tersebut sangat penting untuk menjadi penentu dalam menghasilkan data uji yang akurat dan reliabel. Oleh karena itu pemahaman yang mendalam terhadap setiap faktor tersebut merupakan keharusan dalam pelaksanaan uji toksisitas (BPOM, 2022).

1. **Uji Toksisitas Subkronis Oral** (BPOM, 2022)

   Uji toksisitas subkronis oral merupakan uji yang bertujuan untuk mengevaluasi efek toksik yang timbul akibat pemberian berulang sediaan uji melalui rute oral kepada hewan percobaan, yang dilakukan selama sebagian masa hidup hewan tetapi tidak melebihi 10% dari masa hidup hewan.

   Prinsip pengujian ini adalah memberikan sediaan uji pada berbagai dosis pada hewan percobaan, dengan masing-masing kelompok menerima dosis tertentu selama periode 28 atau 90 hari. Jika perlu untuk memantau kemungkinan efek yang tertunda atau reversibel, kelompok satelit dapat ditambahkan. Selama periode pemberian, hewan diamati setiap hari untuk mengidentifikasi timbulnya gejala toksisitas.

Tujuan pengujian toksisitas oral subkronis adalah untuk mendapatkan data tentang efek toksik yang mungkin tidak terdeteksi dalam pengujian toksisitas akut. Pengujian ini juga memberikan gambaran umum tentang potensi terjadinya efek toksik akibat pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu. Lebih lanjut, pengujian ini berguna untuk menentukan dosis yang tidak menimbulkan efek samping (NOAEL), mempelajari kemungkinan akumulasi efek toksik, dan mengevaluasi apakah efek tersebut dapat kembali normal setelah pemberian dihentikan.

2. **Uji Toksisitas Kronis Oral** (BPOM, 2022)

Uji toksisitas oral kronik merupakan uji yang dilakukan untuk memperoleh informasi tentang efek toksik yang dapat terjadi akibat pemberian berulang-ulang suatu sediaan uji hampir sepanjang umur hewan uji. Prinsip dasar uji ini sama dengan uji toksisitas subkronik, namun berbeda pada lamanya pemberian, dimana pada uji ini sediaan diberikan dalam jangka waktu yang lebih lama, yakni 12 bulan.

Pengujian toksisitas oral kronis bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang efek toksik yang mungkin timbul akibat paparan berulang dan jangka panjang terhadap sediaan uji dan untuk menetapkan tingkat dosis tanpa efek samping (NOAEL). Pengujian ini harus dirancang dengan cermat untuk memberikan informasi komprehensif mengenai toksisitas umum, termasuk dampaknya terhadap sistem neurologis, fisiologis, dan hematologi, parameter biokimia klinis, serta gambaran histopatologi.

3. **Uji Toksisitas Akut Oral** (BPOM, 2022)

Uji toksisitas oral akut merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu relatif singkat setelah pemberian sediaan uji secara

oral, baik dalam dosis tunggal maupun dosis berulang yang diberikan dalam kurun waktu 24 jam.

Prinsip uji toksisitas oral akut adalah memberikan sediaan uji pada berbagai tingkat dosis ke beberapa kelompok hewan percobaan, dengan masing-masing kelompok menerima dosis tertentu. Pengamatan selanjutnya dilakukan untuk mendeteksi munculnya efek toksik atau kematian. Hewan yang dikorbankan karena kondisi sekarat hewan yang menunjukkan tanda-tanda nyeri, penyakit, atau tekanan dihitung sebagai kematian akibat pemberian sediaan uji. Hewan yang mati dan yang bertahan hidup pada akhir periode uji kemudian diotopsi untuk mengevaluasi tanda-tanda toksisitas.

Uji toksisitas oral akut bertujuan untuk mengidentifikasi sifat toksik intrinsik suatu zat, menentukan organ target yang terdampak, dan mengevaluasi sensitivitas spesies hewan uji terhadap zat tersebut. Lebih lanjut, uji ini memberikan informasi penting mengenai potensi bahaya setelah paparan akut, membantu menentukan dosis untuk pengujian lebih lanjut, dan digunakan dalam menetapkan nilai LD_{50}, mengklasifikasikan zat, dan mengembangkan label peringatan.

Uji toksisitas akut pada hewan dilakukan untuk menentukan potensi terjadinya efek toksik dalam waktu singkat setelah pemberian suatu zat, baik melalui dosis tunggal maupun dosis berulang yang diberikan dalam jangka waktu tidak lebih dari 24 jam. Jika dosis berulang diberikan, interval antar dosis harus minimal 3 jam (BPOM, 2022).

Tabel 2.3 : Kriteria penggolongan dosis sediaan uji menurut OECD pada mencit (BPOM, 2022)

Dosis (mg/kgBB)	Kematian	Kategori
5	≥ 2 dari 5 ekor mati	1
5	≥ 1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥ 2 dan 5 ekor mati	
50	≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak	3

	ada kematian	
300	≥ 2 dari 5 ekor mati	
300	≥ 1 ekor dengan dengan gejala toksisitas dan atau < 1 mati	4
2000	≥ 2 dari 5 ekor mati	
2000	≥ 1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
	Tidak ada gejala toksisitas	5/unclassified

Untuk obat-obatan tradisional, suplemen kesehatan, dan zat lain yang diklasifikasikan sebagai Umumnya Diakui Aman (GRAS) seperti bahan makanan, penentuan kategori toksisitas akut digunakan sebagai dasar klasifikasi, seperti yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 2.4 : Kriteria penggolongan sediaan uji (BPOM, 2022)

Tingkat Toksisitas	LD50 Oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤ 5 mg/kg	Super Toksik
2	5-50 mg/kg	Sangat Toksik
3	>50-500 mg/kg	Toksik
4	>500-2000 mg/kg	Toksik Sedang
5	>2000-5000 mg/kg	Toksik Ringan
6	>5000 mg/kg	Tidak Toksik

Uji toksisitas akut umumnya dilakukan untuk menilai potensi bahaya suatu zat menggunakan parameter LD_{50}, yaitu dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. Lebih lanjut, uji ini juga membantu mengidentifikasi organ target yang rusak dan efek toksik spesifik yang mungkin terjadi, seperti lemas, reaksi alergi, diare, penurunan berat badan, gelisah, rambut rontok, peningkatan frekuensi minum, kejang, dan bahkan koma (Pandia et al., 2011).

F. Tikus Putih

Klasifikasi tikus putih (*Rattus* novergicus) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Subphylum : *Vertebrata*

Class : *Mammalia*

Ordo : *Redentia*

Family : *Murinadae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus novergicus* (Purwo et al., 2018)

Tikus adalah mamalia yang sering digunakan dalam penelitian karena kemiripan fisiologisnya dengan manusia. Rata-rata umur mereka dapat mencapai 3,5 tahun, dengan laju pertumbuhan sekitar 5 gram per hari. Tikus juga menunjukkan kemiripan dengan manusia dalam hal sistem reproduksi dan saraf, kerentanan mereka terhadap berbagai penyakit seperti kanker dan diabetes, serta respons mereka terhadap kecemasan. Kesamaan ini disebabkan oleh struktur DNA dan pola ekspresi gen mereka yang hampir identik, dengan sekitar 98% gen manusia memiliki padanan pada tikus.

(Arrington, 1972) Menjelaskan secara rinci morfologi dan karakteristik tikus seperti yang dijelaskan di bawah ini.

1. Morfologi: Hewan ini memiliki kepala, leher, dan badan, dengan seluruh permukaan tubuh ditutupi rambut. Tikus dicirikan oleh kepala yang relatif lebar dan telinga yang panjang. Ekornya tampak bersisik. Selain dikenal sebagai hewan liar, tikus juga memiliki sepasang telinga dan bibir yang lentur.
2. Karakteristik: Tikus memiliki rentang hidup sekitar 2-3 tahun, dengan masa kehamilan 20-22 hari. Mereka mencapai kematangan seksual pada usia 40-60 minggu. Perkawinan berlangsung sekitar 2 minggu, dengan siklus estrus terjadi setiap 4-5 hari. Tikus dewasa umumnya memiliki berat antara 100 dan 250 gram.

Dengan siklus hidupnya yang relatif pendek, ukuran tubuh yang kecil, dan kemampuan adaptasi yang baik, tikus putih albino (Rattus norvegicus) sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis. Karena sangat mewakili biologi mamalia, hewan ini dianggap cocok untuk digunakan sebagai hewan uji dalam studi praklinis. (Aisyah et al., 2023).

Tabel 2.5 : Nilai nilai biologis tikus (Aisyah et al., 2023)

Kriteria	**Keterangan**
Temperatur Tubuh (^{o}C)	35,9-37,5
Konsumsi makanan (g/ 100g bobot badan/ hari)	10
Konsumsi air minum (mL/100 g bobot badan/ hari)	10-12
Jumlah pernapasan (/menit)	66-115
Detak Jantung (/menit)	250-450
Trigeliserida (mg/dl)	26-145
Kolestrol (mg/dl)	40-130

Poltekkes Bengkulu