

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Durch.)

Labu kuning dikenal juga dengan nama waluh (Jawa), labu merak, labu manis, labu parang (Melayu), rampai (Sumatra), *pumpkin* (Inggris) (Suprapti, 2005). Di Indonesia, sudah banyak ditanam labu kuning varietas lokal dari berbagai jenis, seperti jenis bokor (*crème*), kelenting dan ular. Selain itu terdapat beberapa varietas yang merupakan introduksi dari beberapa negara, seperti Taiwan, Australia, Jepang dan Amerika (Hendrasty, 2003). Klasifikasi Labu kuning menurut Hutapea. (1994) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Cucurbitales
Familia	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Cucurbita</i>
Spesies	: <i>Cucurbita moschata</i> Durch.

Labu kuning merupakan suatu jenis tumbuhan sayuran menjalar dari *familli Cucurbitaceae*, dan tergolong dalam jenis tumbuhan semusim yang setelah berbuah akan langsung mati. Tumbuhan labu kuning ini telah banyak

dibudidayakan di negara-negara Afrika, Amerika, India dan Cina. Tumbuhan ini dapat tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi. Adapun ketinggian tempat yang ideal adalah antara 0 - 1500 m di atas permukaan laut (Yuliani dkk., 2004).

Buah labu kuning berbentuk bulat pipih, lonjong atau panjang dengan banyak alur (15-30 alur) (Gambar 1). Ukuran pertumbuhannya cepat sekali, mencapai 350 gram per hari. Batangnya cukup kuat dan panjang serta dipermukaan batangnya terdapat bulu-bulu yang agak tajam. Buah besar dan warnanya bervariasi yaitu buah muda berwarna hijau, sedangkan yang lebih tua berwarna kuning pucat. Daging buah tebalnya sekitar 3 cm dan rasanya agak manis. Buah labu kuning mempunyai kulit yang sangat tebal dan keras (Gardjito, 2006).



Gambar 1. Buah *Cucurbita moschata* Durch. (Hendrasty, 2003).

Pucuk daun dan daun muda dapat digunakan sebagai bahan sayuran. Selain daun, bagian dari tumbuhan ini yang memiliki nilai ekonomis dan zat gizi terpenting adalah buahnya (Gardjito, 2006). Daging buah labu kuning mengandung antioksidan yang bermanfaat sebagai anti kanker.

Labu kuning mengandung saponin, flavonoid, polifenol, betakaroten, vitamin A, E dan C (Lamanepa, 2005). Saponin pada labu kuning berkhasiat

sebagai sumber anti bakteri dan anti virus, meningkatkan vitalitas tubuh, mengurangi kadar gula dalam darah, dan mengurangi penggumpalan darah (Hakimah, 2010). Flavonoid daging buah labu kuning diduga memiliki kemampuan dalam menurunkan edema (Senewe dkk., 2013). Labu kuning juga mengandung inulin dan serat pangan yang sangat dibutuhkan untuk pemeliharaan kesehatan. Selain itu, labu kuning merupakan salah satu jenis buah yang mengandung karotenoid tinggi (Ramadhani dkk., 2012). Senyawa karotenoid berperan memberikan warna kuning kemerahan pada buah tersebut (Seo *et al.*, 2005). Dalam per 100 g labu kuning segar, terkandung alfakaroten 515 mcg, betakaroten 3100 mcg, Krypto-xanthin-beta 2145 mcg, Lutein-zeaxanthin 1500 mcg (USDA, 2011).

2. Karotenoid

Karotenoid terdapat dalam kloroplas (0,5 %) bersama-sama dengan klorofil (9,3 %), terutama pada bagian permukaan atas daun. Karotenoid juga terdapat dalam buah pepaya, kulit pisang, tomat, mangga, wortel, ubi jalar, dan pada beberapa bunga yang berwarna kuning dan merah. Diperkirakan lebih dari 100 juta ton karotenoid diproduksi setiap tahun di alam (Winarno, 2002).

Berdasarkan struktur kimianya, betakaroten merupakan karotenoid dari golongan tetraterpenoid C₄₀ yang dibentuk dari delapan unit isoprenoid C₅ (Britton *et al.*, 1995). Karotenoid dibagi menjadi dua golongan utama yaitu golongan hidrokarbon karotenoid yang tersusun oleh unsur-unsur atom C dan H seperti α , β , dan γ -karoten dan golongan oksidasi karotenoid atau xantofil yang tersusun oleh unsur-unsur atom C, H, OH seperti lutein, violaxantin, neoxantin,

zeaxantin dan kriptoxantin. Dari total karotenoid, kadar karoten hidrokarbon umumnya lebih tinggi (60-70%) dibandingkan dengan kadaroksi karotenoid (Bauernfeind *et al.*, 1981). Karotenoid khususnya betakaroten memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu mengurangi resiko penyakit jantung, stroke, semua penyakit kardiovaskuler dan melindungi tubuh dari risiko kanker paru-paru, payudara dan prostat (Burtin, 2003 dalam Fretes dkk., 2012).

Hasil penelitian epidemiologis menyatakan bahwa seseorang yang banyak mengonsumsi buah-buahan dan sayuran dengan kandungan betakaroten yang tinggi mempunyai risiko lebih rendah terkena penyakit kardiovaskuler dan kanker dan mampu menurunkan kadar trigliserida dalam darah karena bersifat antioksidan (Astawan, 2008).

3. Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Uji toksisitas merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa. Larva udang memiliki kulit yang tipis dan peka terhadap lingkungannya sehingga banyak digunakan dalam uji toksisitas. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungan akan terserap ke dalam tubuh secara difusi dan langsung mempengaruhi kehidupannya. Prinsip uji toksisitas adalah bahwa komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dengan dosis rendah (Hamburger dan Hostettman, 1991). Uji toksisitas ini dapat menentukan suatu bioaktivitas suatu tumbuhan yang berpotensi sebagai anti kanker.

Salah satu metode uji bahan sitotoksik adalah uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode BSLT dengan menggunakan *A. salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya toksisitas

senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. BSLT merupakan metode uji hayati yang banyak digunakan untuk mengetahui potensi bioaktivitas suatu sampel. Sebagai hewan uji digunakan larva udang *A. salina* Leach. Keuntungan metode ini adalah cepat, tidak mahal, tidak membutuhkan peralatan yang rumit, mudah dilakukan, hasilnya dapat dipercaya, dan memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas (Meyer *et al.*, 1982). Uji ini merupakan uji pendahuluan dengan mengamati tingkat kematian larva udang yang disebabkan oleh ekstrak sampel. Data yang diperoleh diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50} pada selang kepercayaan 95%.

Fase yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase nauplis karena pada saat itu *Artemia* berada pada fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. Hal ini menyebabkan BSLT ini sering digunakan sebagai penelitian pendahuluan dari aktivitas antikanker (Rang *et al.*, 2003 dalam Kresnamurti, 2008).

Menurut Meyer *et al.* (1982), BSLT diterapkan dengan menentukan nilai LC_{50} setelah perlakuan 24 jam. Nilai LC_{50} merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi suatu bahan sampel yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dari jumlah hewan uji. Senyawa yang mempunyai nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000 ppm dinyatakan toksik dan memiliki aktivitas antikanker menurut BSLT.

Korelasi yang positif dapat ditunjukkan pada kajian hasil penelitian mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff.) bahwa uji sitotoksik ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat mahkota dewa bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* L. Hasil uji ketoksikan dengan BLST dilanjutkan dengan melakukan uji

bioassay in vitro dengan sel leukemia L 1210. Hasil menunjukkan bahwa senyawa yang toksik terhadap larva *Artemia salina* L. juga toksik terhadap sel kanker, hal ini dibuktikan bahwa pertumbuhan kanker dapat dihambat 50% setelah inkubasi 48 jam Dengan nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ (Lisdawati, 2006).

4. *Artemia salina* Leach.

Artemia masuk golongan udang-udangan yang kecil ukurannya, mereka termasuk kelompok phylum Arthropoda. Mereka berkerabat dekat dengan zooplankton lain seperti copepode dan daphina (kutu air) (Panggabean, 1984 dan Purwakusuma, 2002). Sebagai plankton, *A. salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap musuh-musuhnya, karena tidak mempunyai cara maupun alat untuk mempertahankan diri. Satu-satunya kondisi yang menguntungkan dari alam adalah lingkungan hidup yang berkadar garam tinggi, karena pada kadar tersebut pemangsanya pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1995).

Klasifikasi *A. salina* menurut Emslie (2003) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Kelas : Crustacea
Ordo : Anostraca
Famili : Artemiidae
Genus : *Artemia*
Spesies : *Artemia salina* Leach.

Artemia salina dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. *A. salina* dewasa berwarna putih

pucat, merah muda, hijau, atau transparan (Gambar 2), memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya (Emslie, 2003).



Gambar 2. *Artemia salina* Leach. (Dumitrascu, 2011).

Telur Artemia atau *cyste* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat (Cholik dan Daulay, 1985). Cangkang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet, dan mempermudah pengapungan (Mudjiman, 1983).

Larva yang baru saja menetas berbentuk bulat lonjong dan berwarna kemerah-merahan dengan panjang 400 μm dengan berat 15 μg . Anggota badannya terdiri dari sepasang sungut kecil (antennulae atau antena I) dan sepasang sungut besar (antena atau antena II). Di bagian depan diantara kedua sungut kecil tersebut terdapat bintik merah yang berfungsi sebagai mata (oselus). Di belakang sungut besarnya terdapat sepasang mandibula (rahang) yang kecil, sedangkan di bagian perut (ventral) sebelah depan terdapat labrum (Mudjiman, 1983).

Artemia salina dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali, dihasilkan 50-300 telur atau nauplis. Nauplis akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

5. Pemisahan Komponen Bioaktif

Pada penelitian ini proses pemisahan komponen bioaktif dilakukan dengan cara ekstraksi dan partisi. Ekstraksi merupakan suatu metode operasi pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan tenaga pemisah berupa solven (Jos dkk, 2003 dalam Susilowati, 2008). Britton *et al.* (1995) menjelaskan bahwa karotenoid pada umumnya diekstrak dari sampel biologis menggunakan pelarut yang bercampur dengan air, biasanya aseton. Pemilihan pelarut bergantung pada keadaan sampel dan komposisi karotenoid. Jika kisaran kepolaran karotenoid dalam sampel sangat lebar, maka cara ekstraksinya memerlukan lebih dari satu jenis pelarut, sehingga digunakan pelarut campuran, misalnya aseton-metanol, ataupun ekstraksi awal dilakukan dengan aseton kemudian diikuti dengan pelarut yang lebih polar. Secara umum karotenoid larut dalam aseton atau campuran aseton:methanol (Britton *et al.*, 1995).

Thompson (2000) dalam Mahardian (2003) mengekstrak karotenoid dari tomat menggunakan pelarut campuran heksana-aseton-etanol dengan perbandingan 2:1:1. Mendez dan Mosquera (1998) menggunakan aseton untuk mengekstrak karotenoid dari buah *Capsicum annuum* Linn. Pada prosedur isolasi karotenoid dilakukan Britton *et al.* (1995), buah tomat diekstrak dengan aseton dan metanol (7:3).

Partisi merupakan proses adsorpsi yang analog dengan ekstraksi pelarut (Rohman, 2007). Prinsip partisi adalah bila suatu zat terlarut terdistribusi antara dua pelarut yang tidak dapat campur, maka pada suatu temperatur yang konstan untuk setiap spesi molekul terdapat angka banding distribusi yang konstan antara kedua pelarut tersebut. Harga angka banding dapat berubah dengan sifat dasar pelarut, sifat dasar zat terlarut dan temperatur (Svehla, 1990).

6. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisiokimiawi senyawa yang didasarkan pada pembagian campuran dua senyawa dalam dua fase dimana fase gerak bergerak terhadap fase diamnya. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik (Gandjar dan Rohman, 2007). Fase diam berfungsi sebagai penyerap. Pada sistem ini dikenal istilah kecepatan rambat suatu senyawa yang diberi simbol R_f (*Retardation factor*). Harga R_f ditentukan oleh jarak rambat senyawa dari titik awal dan jarak rambat fase gerak dari titik awal. Harga R_f ini dapat digunakan untuk identifikasi senyawa yang dianalisa (Stahl, 1985). Penentuan harga R_f menurut Stahl (1985) adalah sebagai berikut.

$$R_f = \frac{\text{Jarak perambatan bercak dari titik awal}}{\text{Jarak perambatan fase gerak dari titik awal}}$$

Karotenoid mudah teroksidasi terutama bila terdedahkan di udara pada plat KLT. Pada waktu mengekstrak, larutan karotenoid harus disimpan di tempat gelap dan idealnya harus disimpan pada suhu rendah dalam lingkungan gas nitrogen.

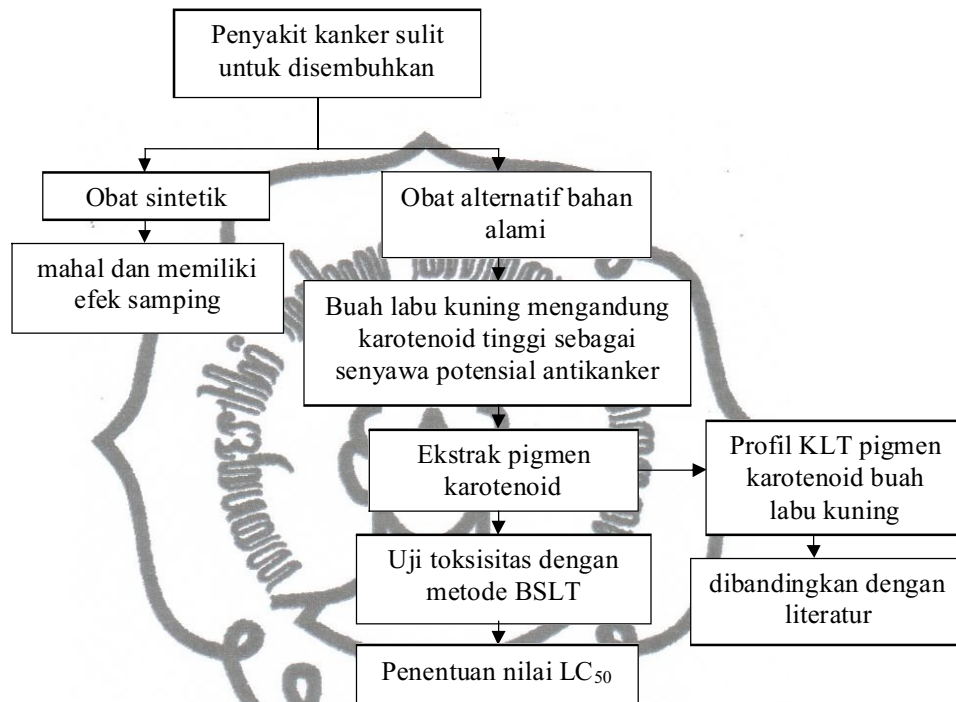
Untuk pelarut harus selalu digunakan pelarut yang bebas peroksida (Harborne, 1996). Mendez dan Mosquera (1998) menggunakan eluen petroleum eter:aseton:dietilamin untuk memisahkan golongan karotenoid dari buah *Capsicum annuum* Linn. yang tumbuh di daerah Spanyol. Agustian dkk. (2013) melakukan pemisahan karotenoid dari mikroalga *Spirulina platensis* menggunakan pelarut heksana : dietil eter : aseton.

B. Kerangka Pemikiran

Penyakit kanker merupakan salah satu ancaman utama terhadap kesehatan, karena sampai saat ini masih sulit untuk disembuhkan. Hingga saat ini belum ditemukan cara yang dapat mengatasi penyakit tersebut secara memuaskan. Pengobatan penyakit kanker saat ini umumnya masih relatif mahal dan menimbulkan efek samping yang berbahaya. Oleh karena itu, perlu dikembangkan pengobatan dari bahan alami yang dapat meminimalkan efek samping.

Tumbuhan labu kuning merupakan salah satu jenis buah yang mengandung karotenoid tinggi. Karotenoid dalam buah labu kuning sebagian besar berbentuk betakaroten, yang berpotensi sebagai kandidat obat antikanker. Karotenoid diekstraksi dengan pelarut aseton-metanol menggunakan metode maserasi dilanjutkan dengan partisi. Ekstrak tersebut diuji toksisitas melalui metode BSLT, sehingga dapat diketahui potensinya sebagai kandidat antikanker. Kemudian karotenoid buah labu kuning diidentifikasi dengan metode KLT. Pola pemisahan warna tiap pigmen yang terbentuk pada plat KLT diamati dan nilai Rf-nya

dihitung, kemudian dibandingkan dengan literatur. Diagram alir kerangka pemikiran dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir kerangka pemikiran

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Ekstrak pigmen karotenoid buah labu kuning bersifat toksik terhadap *A. salina* Leach.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak pigmen karotenoid buah labu kuning yang digunakan maka akan semakin tinggi pula tingkat kematian larva *A. salina* Leach.