

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Buah Keben (*Barringtonia asiatica*) dan Kandungan Bahan Aktif

##### 2.1.1 Tinjauan Umum Buah Keben (*Barringtonia asiatica*)

Buah Keben (*Barringtonia asiatica*) merupakan tanaman yang tumbuh subur di daerah pesisir Asia tropis dan Pasifik. Tanaman ini juga dikenal dengan nama latin *Barringtonia speciosa* JR Forst (Herlt *et al.* 2002 dalam Septiarusli 2012). Di Indonesia sendiri, tanaman ini mempunyai banyak nama diantaranya butun (Sunda), Kebena (Jawa), Bitung (Sulawesi Utara), Kebena-Kebena (Bali), dan Maliou (Papua) (Septiarusli 2012).

Menurut pangkalan data keanekaragaman hayati Indonesia (Prohati dalam Septiarusli 2012) *Barringtonia asiatica* adalah pohon tumbuh tegak dengan batang tampak bekas tempelan daun yang besar. Daun membulat telur sungsang atau lonjong membulat telur sungsang. Perbungaannya berbentuk tandan dan letaknya diujung, jarang diketiak, kelopak bunga hijau seperti tabung panjang, daun mahkota putih, menjorong, benang sari memerah di ujung, putik memerah diujungnya. Buahnya berbentuk bundar seperti telur, menirus keujung, menetragonal tajam ke pangkal yang menggubang, bila muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat.

Klasifikasi *Barringtonia asiatica* Kurz menurut Melcher (2002 dalam Septiarusli 2012):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lecythidales
Famili	: Barringtoniaceae Rudolph (-Lecythidaceae)
Genus	: Barringtonia
Spesies	: <i>Barringtonia asiatica</i> (Linnaeus) Kurz



**Gambar 1. Buah, Biji, Daun**

(Sumber: Google.com 2012)

Habitat tumbuhan *Barringtonia asiatica* merupakan kawasan litoral yang hampir eksklusif, pada beberapa daerah pohonnya dapat tumbuh jauh ke daratan pada bukit atau jurang berkapur, biasanya tumbuh pada pantai berpasir atau koral-pasir, disepanjang pantai atau rawa mangrove pada ketinggian 0-350 m di atas permukaan laut (Tan 2001).

### **2.1.2 Kandungan Bahan Aktif Buah Keben (*Barringtonia asiatica*)**

*Barringtonia asiatica* banyak digunakan sebagai obat-obatan tradisional. Salah satu manfaat dari buah keben ini adalah sebagai obat sakit perut, obat rematik, dan dapat pula menjadi obat luka dengan cara memarut biji buah keben ini yang kemudian diletakkan pada daerah yang terluka. Masih banyak lagi manfaat yang terkandung dari buah keben ini yang dapat sangat membantu dalam bidang kesehatan. Buah ini juga biasanya digunakan sebagai racun ikan karena buah ini mengandung senyawa aktif yaitu saponin yang dapat menyebabkan keracunan pada ikan (Tan 2002 ; EEBG 2006). Senyawa saponin yang bersifat paling aktif sebagai racun ikan dari ekstrak *Barringtonia asiatica* adalah ranunkosida VIII (Burton *et al* 2003). Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir

darah atau hemolisis pada darah. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai Sapotoksin (Hartono 2012).

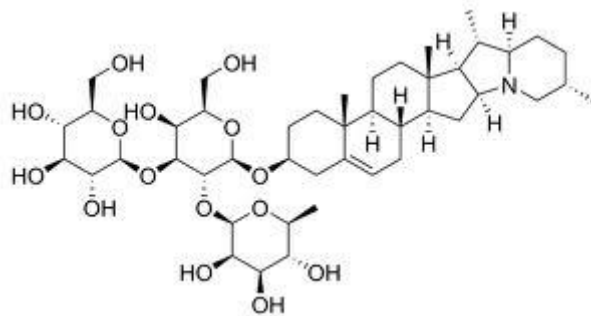
Menurut Septiarusli (2012), biji buah keben memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai berikut :

**Tabel 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder**

Sampel	Alkaloid	Steroid	Triterpenoid	Saponin	Flavonoid
<i>Barringtonia asiatica</i>	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)

Sumber : Septiarusli (2012)

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu : saponin *steroid* dan saponin *triterpenoid*. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukorida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid (Hartono 2012).



**Gambar 2. Struktur Kimia Saponin**

(Sumber : Google.com/images)

Contoh senyawa saponin steroid diantaranya adalah : Asparagosides (*Asparagus officinalis*), Avenocosides (*Avena sativa*), Disogenin (*Dioscorea floribunda* dan *Trigonella foenum graceum*). Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat yang menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin. Ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan. Tipe saponin ini adalah turunan

amyirine. Contoh senyawa triterpen steroid adalah : Asiaticoside (*Centella asiatica*), Bacoside (*Bacopa monneira*), Cyclamin (*Cyclamen persicum*) (Hartono 2012).

Menurut Cheeked and Shull (1985) dalam Septiarusli (2012) saponin terdapat hampir pada setiap jenis tanaman, tetapi dalam tiap tanaman terdapat beberapa jenis saponin yang sifatnya berbeda satu sama lain.

## **2.2 Bahan Anestesi dan Mekanisme Kerja Bahan Anestesi**

Menurut Dewi (2009), suatu senyawa dapat dikatakan sebagai bahan anestesi apabila dapat menimbulkan efek terhadap sistem saraf pusat dan menyebabkan hilangnya kesadaran dalam jangka waktu tertentu. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam penggunaan bahan anestesi adalah bahan tersebut dapat menimbulkan efek bius yang cukup lama, dengan dosis yang rendah, mudah terurai, mudah didapat, dan harga yang relatif murah (Burhan dkk 1989 dalam Septiarusli 2012).

Bahan anestesi sintetis (buatan) yang biasa digunakan dalam pengangkutan ikan hidup antara lain novocaine, amobarbital sodium, sodium amirtal, methyl paraphyno, trichaine methanosulfonat (MS-222), dan kloroform (Ilyas 2006). Bahan anestesi alami diharapkan tidak menimbulkan efek negatif terhadap ikan selama proses anestesi (Burhanuddin dkk 1989 dalam Septiarusli 2012).

Dari penelitian terdahulu, telah banyak zat anestesi yang dihasilkan dari ekstrak bahan alami, antara lain ekstrak ubi ketela pohon, ekstrak biji karet, ekstrak alga, minyak cengkeh, ekstrak biji buah keben. Dari bahan alami diatas, banyak bahan senyawa aktif yang terkandung merupakan senyawa potensial yang dapat digunakan sebagai bahan anestesi ikan (Tabel 2, Septiarusli 2012).

**Tabel 2. Senyawa Aktif pada Bahan-Bahan Anestesi Alami**

<b>Bahan Anestesi</b>	<b>Senyawa Aktif</b>	<b>Jenis Ikan Uji</b>	<b>Konsentrasi Efektif</b>	<b>Sumber</b>
Ekstrak Ubi Ketela Pohon	Linamarine	Nila Merah	2,5 ml/l	(Tobing,1996)
Ekstrak Biji Teh	Saponin	Sersan Mayor	10 ppm	(Chaniago 2003)
Ekstrak Alga Laut ( <i>Caulerpa sertularioides</i> )	Caulerpin dan cathecin (Flavonoid)	Kerapu Lumpur	1,396 % (v/v)	(Sukarsa, 2005)
Ekstrak Alga Laut ( <i>Caulerpa racemosa</i> )	Caulerpin dan cathecin (Flavonoid)	Kerapu Lumpur	10% (v/v)	(Utomo, 2001)
Minyak Cengkeh	Eugenol	Mas Koki	15 mg/l	(Dewi, 2009)
Minyak Cengkeh	Eugenol	Bandeng	15 mg/l	(Tahe dkk,1999 dalam Septiarusli, 2012)
Ekstrak Biji Buah Keben ( <i>Barringtonia asiatica</i> )	Saponin	Ikan Kerapu Macan	14 mg/l	(Septiarusli, 2012)

Senyawa aktif yang didapat dari bahan alami di atas terbukti memiliki zat anestesi yang dapat memingsankan ikan. Bahan anestesi bekerja menghalangi penerusan impuls-impuls syaraf ke susunan syaraf pusat dan sebaliknya. Tempat kerjanya terutama pada membran sel sedangkan efeknya pada bagian saraf hanya sedikit. Di sisi lain, anestesi mengganggu fungsi semua organ dimana terjadi konduksi atau transmisi dari beberapa impuls. Artinya anestesi lokal mempunyai efek yang penting terhadap sistem saraf pusat, ganglia otonom, cabang-cabang neuromuskular dan semua jaringan otot (Rusda 2004 dalam Septiarusli 2012).

### **2.3 Zat Pembius dan Kelangsungan Hidup Ikan**

Menurut Rusda (2004) pembiusan adalah membuat objek yang semula dalam kondisi normal menjadi kehilangan kesadaran atau pingsan dalam jangka waktu tertentu. Pembiusan bekerja dengan cara menyumbat saluran ion pada membrane saraf, dimana zat yang mengandung bahan anestesi akan menyumbat

saluran natrium dan kalium yang bekerja dari dalam maupun dari luar neuron yang ada di sel saraf. Zat pembius akan terionisasi dan masuk ke dalam saluran natrium untuk kemudian merintangi cara kerja sel saraf sehingga keadaannya menjadi tidak peka. Akibat dari pembiusan ini adalah menurunnya keterangsangan sel saraf pada otak ikan (Rusda, 2004).

Menurut Wright dan Hall (1961) dalam Septiarusli (2012) pembiusan ikan melalui tiga tahap yaitu :

1. Berpindahnya bahan pembius dari lingkungan ke dalam muara pernafasan organisme.
2. Difusi membran dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya penyerapan bahan pembius ke dalam darah.
3. Sirkulasi darah dan difusi pada jaringan menyebabkan substansi tersebut menyebar ke seluruh tubuh, tergantung pada persediaan darah dan kandungan lemak pada setiap jaringan.

Dalam proses pembiusan, ikan tidak langsung pingsan oleh karena zat pembius yang memerlukan waktu untuk mengalir ke saraf. Waktu itu disebut waktu induksi yaitu waktu yang dibutuhkan ikan dari keadaan normal menjadi pingsan. Pingsan adalah keadaan tidak sadar yang dihasilkan dari proses terkendali saraf pusat yang mengakibatkan turunnya tingkat kepekaan terhadap rangsangan (Dewi 2009). Tingkat pembiusan dapat dilihat dari respon tingkah laku ikan (Tabel 3).

**Tabel 3. Respon dan Tingkah Laku Ikan selama Pembiusan**

Tingkat	Respon	Tingkah Laku
0	Normal	Reaktif terhadap rangsangan luar, keseimbangan dan kontraksi otot normal.
Ia	Pingsan Ringan	Reaktivitas terhadap rangsangan luar lambat
Ib	Pingsan ( <i>Deep Sedation</i> )	Reaktivitas terhadap rangsangan luar tidak ada, kecuali dengan tekanan kuat. Pergerakan operculum lambat
IIa	Kehilangan Keseimbangan Sebagian	Memberikan reaksi hanya terhadap rangsangan atau atau getaran dan sentuhan yang sangat kuat, masih ada sifat melawan

		arus, kemampuan berenang terganggu dan pergerakan operculum cepat
IIIb	Kehilangan Keseimbangan Total	Memberikan reaksi hanya terhadap rangsangan tekanan yang sangat kuat, pergerakan operculum sangat lambat
III	Gerakan Reflek Tidak Ada	Reaktivitas tidak ada, laju pernafasan sangat lambat
IV	Mati ( <i>Medullary collapse</i> )	Respirasi berhenti, diikuti beberapa menit kemudian penghentian detak jantung

Sumber : Dewi (2009).

Setelah mengalami fase pingsan, ikan disimpan di bak pemulihan, kemudian ikan akan bekerja secara efisien untuk membersihkan bahan pembius (Rafael 1996 dalam Septiarusli 2012). Setelah ikan pulih, barulah dilihat kelangsungan hidup ikan. Kelangsungan hidup adalah persentase ikan hidup dari jumlah keseluruhan ikan yang dipelihara dalam suatu wadah. Tingkat kelangsungan hidup dikatakan tinggi apabila tingkat kematiannya rendah. Mortalitas ikan dipengaruhi beberapa faktor yang berasal dari dalam dan luar tubuh ikan. Faktor yang berasal dari dalam adalah umur dan kemampuan ikan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan, sedangkan faktor yang berasal dari luar adalah penggunaan bahan anestetik, kompetisi antar spesies, penambahan jumlah populasi dalam ruang gerak yang sama dan berkurangnya jumlah pakan yang tersedia (Nikolsky 1969 dalam Septiarusli 2012).

Perlakuan bahan anestesi terhadap kelangsungan hidup ikan akan menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang semakin rendah apabila semakin tinggi bahan anestesik (Megasari 1998 dalam Septiarusli 2012). Hasil yang diinginkan dari penggunaan bahan anestesi dalam pembiusan ikan adalah tingkat kelangsungan hidup yang tinggi menggunakan rumus :

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

(Ramli 2004 dalam Septiarusli 2012)

Keterangan :

SR = Tingkat Kelangsungan Hidup (Survival Rate)

Nt = Jumlah biota akhir uji (ekor)

No = Jumlah biota awal uji (ekor)

#### 2.4 Tinjauan Umum Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) merupakan ikan komoditas ekspor yang banyak diminati baik di pasar domestik maupun pasar Internasional yang menyebabkan nilai jualnya cukup tinggi. Ekspor ikan kerapu sangat melaju pesat sebesar 350% yaitu dari 19 ton pada tahun 1987 menjadi 57 ton pada tahun 1988 (Rahman 2010). Menurut Myers *et al* 2005 (dalam Septiarusli 2012), klasifikasi ikan kerapu macan sebagai berikut,

Filum : Chordata,  
Sub Filum : Vertebrata,  
Klas : Osteichthyes,  
Sub Klas : Actinopterygii,  
Ordo : Percomorphi,  
Sub ordo : Percoidea,  
Famili : Serranidae,  
Sub family : Epinephelinae,  
Genus : Epinephelus,  
Spesies : *Epinephelus fuscoguttatus*



**Gambar 3. Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

(Sumber: [omarif.com](http://omarif.com).google)

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) atau sering juga disebut *Groouper* dipasarkan dalam keadaan hidup. Golongan ikan kerapu yang paling banyak adalah golongan *Epinephelus sp*, namun yang paling banyak di kenal di budidayakan adalah jenis kerapu Lumpur (*Epinephelus suillus*) dan kerapu macan



(*Epinephelus fuscoguttatus*). Golongan *Epinephelus* memiliki tubuh yang lebih tinggi dari kerapu Lumpur (*Epinephelus suillus*), dengan bintik-bintik yang rapat dan berwarna gelap, sirip ikan kerapu macan berwarna kemerahan, sedangkan bagian sirip yang lain berwarna coklat kemerahan Sunyoto Dan Mustahal (2000) dalam Septiarusli 2012 .

Ikan kerapu macan memiliki bentuk tubuh agak rendah, moncong panjang memipih dan menajam, maxillary lebar diluar mata, gigi pada bagian sisi dentary 3 atau 4 baris, terdapat bintik putih coklat pada kepala, badan dan sirip, bintik hitam pada bagian dorsal dan posterior. Sirip dadanya berwarna merah, sedangkan sirip-sirip yang lain mempunyai tepi coklat kemerahan. Pada garis rusuknya terdapat 110-114 buah sisik (Ghufran 2001 dalam Septiarusli 2012).

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) hidup di habitat berkarang sehingga disebut juga ikan kerapu karang, penyebarannya mulai daerah tropik sampai sub tropik. Di Indonesia ikan kerapu macan terdapat hampir diseluruh wilayah perairan seperti: Teluk Banten, Ujung Kulon, Kepulauan Riau, Kepulauan Seribu, Kepulauan Karimunjawa, Madura, Kalimantan, dan Nusa Tenggara (Sugama dkk 2001). Selain terumbu karang lokasi kapal tenggelam juga menjadi rumpon yang nyaman bagi ikan kerapu macan. Ikan-ikan tersebut akan berdiam dalam lubang-lubang karang atau rumpon dengan aktifitas relatif rendah.

Ikan kerapu macan pada umumnya hidup di perairan karang pantai dengan kedalaman 0,53-3 m. Pada umumnya ikan kerapu macan menyenangi air laut dengan salinitas 33-35 ppt. suhu perairan di Indonesia tidak menjadi masalah karena perubahan suhu, baik harian maupun tahunan sangat kecil dan biasanya berkisar antara 27-32<sup>0</sup>C. Pada lapisan permukaan air yang tidak tercemar biasanya mengandung oksigen terlarut yang memadai untuk pertumbuhan ikan. Kandungan oksigen terlarut dalam air laut minimal 4 ppm. Air laut memiliki pH berkisar antara 7,6-8,7 dan mempunyai daya penyangga yang besar terhadap perubahan keasaman.

### **2.4.1 Transportasi Ikan Hidup**

Pengangkutan ikan dalam keadaan hidup merupakan salah satu mata rantai dalam usaha perikanan. Harga jual ikan, selain ditentukan oleh ukuran, juga ditentukan oleh kesegarannya. Oleh karena itu, kegagalan dalam pengangkutan ikan merupakan suatu kerugian. Pada prinsipnya, pengangkutan ikan hidup bertujuan untuk mempertahankan kehidupan ikan selama dalam pengangkutan sampai ke tempat tujuan. Pengangkutan dalam jarak dekat tidak membutuhkan perlakuan yang khusus. Akan tetapi pengangkutan dalam jarak jauh dan dalam waktu lama diperlukan perlakuan-perlakuan khusus untuk mempertahankan kelangsungan hidup ikan. Cara penanganan ikan yang salah dengan kepadatan yang tidak sesuai dapat menyebabkan ikan stres bahkan mati. Lama pengangkutan juga harus disesuaikan dengan kebutuhan oksigen selama pengangkutan dilakukan (Junianto 2003).

Menurut Purwaningsih 1998, sebelum ikan diangkut, ikan terlebih dahulu dipuasakan selama 24 jam yang bertujuan untuk mengosongkan saluran pencernaan ikan agar ikan tidak muntah selama proses pengangkutan dan mengurangi sisa metabolisme yang akan menurunkan kualitas air, baru setelah itu ikan dipingsankan.

Dalam proses pengangkutan ikan hidup, terdapat dua metode yang dapat digunakan yaitu metode pengangkutan ikan hidup menggunakan media basah dan metode pengangkutan dengan media kering.

#### **A. Metode Media Basah**

Sistem transportasi menggunakan media basah adalah dengan menggunakan air sebagai media selama pengangkutan. Media basah ini sendiri terbagi menjadi dua, yaitu sistem terbuka dan sistem tertutup.

##### **a. Transportasi Sistem Terbuka**

Pada sistem ini ikan diangkut dalam wadah terbuka atau tertutup tetapi secara terus menerus diberikan aerasi untuk mencukupi kebutuhan oksigen selama pengangkutan. Biasanya sistem ini hanya dilakukan dalam waktu pengangkutan yang tidak lama. Berat ikan yang aman diangkut dalam sistem ini tergantung dari

efisiensi sistem aerasi, lama waktu pengangkutan, suhu air, ukuran, serta jenis spesies ikan. Transportasi ikan hidup sistem terbuka menurut (Purwaningsih 1998) mengatakan bahwa selama pengangkutan ikan, air dapat berhubungan langsung dengan udara luar.

b. Transportasi Sistem Tertutup

Dengan cara ini ikan diangkut dalam wadah tertutup dengan suplai oksigen secara terbatas yang telah diperhitungkan sesuai kebutuhan selama pengangkutan. Wadah dapat berupa kantong plastik atau kemasan lain yang tertutup. Menurut Junianto 2003, transportasi ikan hidup dengan sistem tertutup merupakan cara pengangkutan ikan yang paling umum dilakukan. Pada sistem tertutup ini, air sebagai media pengangkutan tidak berhubungan langsung dengan udara terbuka dan sumber oksigen dipasok dalam jumlah tertentu.

**B. Metode Media Kering**

Pada transportasi sistem kering, media angkut yang digunakan adalah bukan air, Oleh karena itu ikan harus dikondisikan dalam keadaan aktivitas biologis rendah sehingga konsumsi energi dan oksigen juga rendah. Makin rendah metabolisme ikan, terutama jika mencapai basal, makin rendah pula aktivitas dan konsumsi oksigennya sehingga ketahanan hidup ikan untuk diangkut diluar habitatnya makin besar .

Penggunaan transportasi sistem kering merupakan cara yang efektif meskipun resiko mortalitasnya cukup besar. Untuk menurunkan aktivitas biologis ikan (pemingsanan ikan) dapat dilakukan dengan menggunakan suhu rendah, menggunakan bahan metabolik atau anestesi, dan arus listrik.

Pada kemasan tanpa air, suhu diatur sedemikian rupa sehingga kecepatan metabolisme ikan berada dalam taraf metabolisme basal, karena pada taraf tersebut, oksigen yang dikonsumsi ikan sangat sedikit sekedar untuk mempertahankan hidup saja. Secara anatomi, pada saat ikan dalam keadaan tanpa air, tutup insangnya masih mengandung air sehingga melalui lapisan inilah oksigen masih diserap .

Transportasi ikan dengan media kering juga menggunakan prinsip hibernasi. Hibernasi adalah suatu usaha untuk menekan metabolisme suatu organisme sehingga dalam kondisi lingkungan yang minimum organisme tersebut dapat bertahan hidup (Tobing 1996).

#### **2.4.2 Teknik Pengemasan**

Dalam proses transportasi ikan hidup, salah satu faktor yang paling penting adalah pada saat proses pengemasan. Pengemasan berfungsi untuk mempermudah proses penyimpanan, pengangkutan, dan distribusi hasil pertanian (Utomo 2001). Pada pengangkutan kering diperlukan media pengisi sebagai pengganti air. Menurut Wibowo (1993) dalam Septiarusli (2012), yang dimaksud dengan bahan pengisi dalam pengangkutan ikan hidup adalah bahan yang dapat ditempatkan diantara ikan hidup dalam kemasan untuk menahan ikan dalam posisinya. Selanjutnya disebutkan bahwa bahan pengisi memiliki fungsi antara lain mampu menahan ikan agar tidak bergeser dalam kemasan, menjaga lingkungan suhu rendah agar ikan tetap hidup serta memberi lingkungan udara dan kelembaban memadai untuk kelangsungan hidupnya.

Media pengisi yang sering digunakan dalam pengemasan adalah serbuk gergaji, serutan kayu, serta kertas koran atau bahan karung goni. Namun penggunaan karung goni sudah tidak digunakan karena hasilnya kurang baik. Jenis serbuk gergaji atau serutan kayu yang digunakan tidak spesifik, tergantung bahan yang tersedia. Bahan pengisi yaitu sekam padi, serbuk gergaji, dan rumput laut, menurut Wibowo (1993) dalam Septiarusli (2012) ternyata sekam padi dan serbuk gergaji merupakan bahan pengisi terbaik karena memiliki karakteristik, yaitu :

- Berongga
- Mempunyai kapasitas dingin yang memadai
- Tidak beracun

Media serbuk gergaji memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan jenis media lainnya. Keunggulan tersebut terutama pada suhu. Serbuk gergaji

mampu mempertahankan suhu rendah lebih lama yaitu 9 jam tanpa bantuan es dan tanpa beban di dalamnya. Sedangkan rumput laut kurang efektif karena menimbulkan lendir dan bau basi selama digunakan.

Kemasan yang biasanya sering digunakan dalam transportasi media kering adalah keranjang dari bambu, kotak *Styrofoam* atau kotak *Styrofoam* dengan kardus. Dari segi keamanan, kemasan yang sering digunakan adalah wadah berkonstruksi terisolasi dari panas. Biasanya bahan terbaik adalah kemasan yang menggunakan bahan dari *Styrofoam fiberglass*, dan *uretane*. *Styrofoam* dan *uretane* lebih dianjurkan karena kualitas isolasinya paling tinggi serta kelembabannya yang rendah. Wadah yang terisolasi dengan baik hanya membutuhkan sedikit es yang berfungsi untuk kontrol suhu serta menekan kenaikan suhu air (Berka 1986).

Sifat-sifat penting dari *styrofoam* sebagai bahan insulator (Utomo,2001) dapat dilihat pada tabel 4 :

**Tabel 4. Sifat-sifat penting dari *styrofoam***

<b>Sifat <i>styrofoam</i></b>	<b>Nilai</b>
Densitas	15- 30
Konduktifitas panas (kcal/m jam °C)	0,030
Ketahanan terhadap masuknya air	Baik
Keamanan terhadap api	Buruk
Kekuatan kompresi (kg/m <sup>2</sup> )	2000

(Sumber : Utomo 2001)

## **2.5 Metode Isolasi Metabolit Sekunder**

### **2.5.1 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larutan yang berbeda dari komponen-komponen tersebut. Ekstraksi biasa digunakan untuk memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutannya (Wikipedia 2012). Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dari simplisia.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi antara lain :

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah solut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi. Dalam dunia farmasi dan produk bahan obat alam, pelarut etanol, air dan campuran keduanya lebih sering dipilih karena dapat diterima oleh konsumen.

2. Temperatur

Secara umum, kenaikan temperatur akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut. Temperatur pada proses ekstraksi memang terbatas hingga suhu titik didih pelarut yang digunakan.

3. Rasio pelarut dan bahan baku

Jika rasio pelarut-bahan baku besar maka akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat. Akan tetapi semakin banyak pelarut, proses ekstraksi juga semakin mahal. digunakan maka proses hilirnya akan semakin mahal.

4. Ukuran partikel

Laju ekstraksi juga meningkat apabila ukuran partikel bahan baku semakin kecil. Dalam arti lain, rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.

Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan sifat polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Bahan pelarut dikategorikan menjadi tiga jenis, yaitu polar, semi-polar, dan non polar (Houghton dan Raman dalam Septiarusli 2012). Dalam pemilihan pelarut juga dilihat dari titik didihnya. Pelarut yang bertitik didih rendah akan hilang karena penguapan, sedangkan pelarut yang bertitik didih tinggi baru dapat dipisahkan pada suhu tinggi (Sabel dan Waren dalam Septiarusli 2012). Beberapa jenis pelarut dan sifat fisiknya (Tabel 5).

**Tabel 5. Beberapa Jenis Pelarut dan Sifat Fisiknya**

<b>Pelarut</b>	<b>Titik Didih (°C)</b>	<b>Titik Beku (°C)</b>	<b>Konstanta Dielektrik</b>
Heksana	68	-94	1,8
Dietil eter	35	-116	4,3
Kloroform	61	-64	4,8
Etil asetat	77	-84	6,0
Aseton	56	-95	20,7
Etanol	78	-117	24,3
Methanol	65	-98	32,6
Air/aquadest	100	0	80,2

(Sumber : Sabel dan Waren dalam Septiarusli 2012)

Proses ekstraksi terdiri dari penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan. Perendaman dilakukan dengan cara maserasi (Khopkar dalam Septiarusli 2012). Maserasi adalah cara penyaringan sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia (bahan alami) dalam cairan selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Proses ekstraksi terbagi menjadi dua yaitu ekstraksi padat-cair (*solid-liquid extraction*) dan ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*). Ekstraksi padat-cair biasanya digunakan untuk mengekstrak bahan alam, sedangkan ekstraksi cair-cair umumnya digunakan dalam proses separasi atau pemurnian senyawa dari alam maupun senyawa produk dari suatu reaksi kimia (Rahayu 2009).

### **2.5.2 Fraksinasi**

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (cair-cair) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian polaritas. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada kepolaran dari masing-masing pelarut. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang bersifat non polar, akan terikat pada pelarut non polar, sedangkan senyawa yang bersifat semi polar, akan terikat pada pelarut semi polar, dan senyawa yang

bersifat polar akan terikat pada pelarut yang bersifat polar. Fraksinasi bertingkat biasanya menggunakan pelarut organik seperti eter, aseton, benzena, etanol, diklorometana, atau campuran pelarut tersebut (Adjuwana dan Nur 1989).

Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut. Tiga tahapan fraksinasi bertingkat dengan menggunakan tiga macam pelarut yaitu (1) fraksinasi n-heksan, (2) fraksinasi kloroform, dan (3) fraksinasi n-butanol (Lestari dan Pari 1990).

### **2.5.3 KLT Preparatif**

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Sebelum melakukan kromatografi lapis tipis, metode kromatografi kertas dilakukan sebagai tahap penentuan perbandingan pelarut atau memisahkan bercak senyawa yang akan di KLT. Kromatografi kertas adalah kromatografi yang menggunakan kertas selulosa murni yang mempunyai afinitas besar terhadap air atau pelarut polar lainnya. Kromatografi kertas digunakan untuk memisahkan campuran dari substansinya menjadi komponen-komponennya. Prinsip kerja kromatografi kertas adalah pelarut bergerak lambat pada kertas, komponen-komponen bergerak pada laju yang berbeda dan campuran dipisahkan berdasarkan pada perbedaan bercak warna (Gritter, *et al*, 1991).

Salah satu metode pemisahan yang sederhana adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Pada dasarnya prinsip pada KLT sama dengan kromatografi kertas hanya KLT mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya (Hostettmann, *et al*, 1995).

KLT dapat dipakai dengan dua tujuan. Pertama, dipakai sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif, ataupun preparatif. Kedua, dipakai untuk menjajaki sistem pelarut dan sistem penyangga yang akan dipakai pada



kromatografi kolom atau kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT. Analisis dari KLT dapat membantu menentukan pelarut terbaik yang akan dipakai dan berapa perbandingan antar pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak pada kromatografi kolom. Salah satu metode Kromatografi yaitu Kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif. KLT preparatif merupakan salah satu metode pemisahan dengan menggunakan peralatan sederhana. Kromatografi dibagi menjadi 2 fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak merupakan fasa yang menggunakan perbandingan pelarut sedangkan pada fasa diam menggunakan silika gel. Ketebalan silika gel yang sering dipakai adalah 0,5 - 2 mm sedangkan ukuran plat kromatografi yang dipakai berukuran 20 x 20 cm. Pembatasan ketebalan lapisan dan ukuran plat sudah tentu mengurangi jumlah bahan yang dapat dipisahkan dengan KLT preparatif.

Penotolan cuplikan dilakukan dengan melarutkan cuplikan dalam sedikit pelarut. Cuplikan ditotolkan berupa pita dengan jarak sesempit mungkin karena pemisahan tergantung pada lebar pita. Penotolan dapat dilakukan dengan pipet tetapi lebih baik dengan penotol otomatis. Pelarut yang baik untuk melarutkan cuplikan adalah pelarut yang atsiri. Pengembangan plat KLT preparatif dilakukan dalam bejana kaca yang dapat menampung beberapa plat. Bejana dijaga tetap jenuh dengan pelarut pengembang dengan bantuan kertas saring yang diletakkan berdiri di sekeliling permukaan bagian dalam bejana (Hostettmann, *et al*, 1995).

Kebanyakan penyerap KLT preparatif mengandung indikator fluoresensi yang membantu mendeteksi letak pita yang terpisah pada senyawa yang menyerap sinar ultraviolet. Untuk mendeteksi senyawa yang tidak menyerap sinar ultraviolet yaitu dengan cara menutup plat dengan sepotong kaca lalu menyemprot kedua sisi dengan larutan  $H_2SO_4$  (Hostettmann, *et al*, 1995).

Setelah pita ditampakkan dengan cara yang tidak merusak maka senyawa yang tidak berwarna dengan penjerap dikerok dari plat kaca. Cara ini berguna untuk memisahkan campuran beberapa senyawa sehingga diperoleh senyawa murni (Gritter, *et al*, 1991).

## 2.6 Granulasi

Granulasi adalah proses yang bertujuan untuk meningkatkan aliran serbuk dengan cara membentuknya menjadi bulatan-bulatan atau agregat dalam bentuk beraturan yang disebut granul (Lachman *et al.* 1994). Granul adalah gumpalan dari partikel-partikel kecil yang umumnya bebrbentuk tidak merata dan menjadi seperti partikel tunggal yang lebih besar. Umumnya granul dibuat dengan cara melembabkan, yaitu menyalurkan adonan dari bahan serbuk yang ditekan melalui mesin pembuat granul (Ansel 1998).

Menurut Voight (1994), kriteria granul yang ideal dari hasil evaluasi terhadap granul siap cetak, diantaranya yaitu:

- Ukuran granul seragam atau memiliki distribusi butiran sempit dan mengandung serbuk halus berkisar 10 % hingga 40 %.
- Bentuk dan warna granul beraturan, sedapat mungkin mendekati bundar.
- Mengalir dengan baik.
- Tidak terlalu keras dan rapuh.
- Cukup padat, tetapi cukup berpori juga agar dapat larut dengan baik.
- Tidak terlampau kering dan basah
- Mudah dicetak

Ukuran partikel granul dapat mempengaruhi berat rata-rata tablet, variasi berat tablet, waktu hancur, kerenyahan granul dan daya mengalir granul dari granulasi basah. Formulasi, konsentrasi bahan, juga peralatan yang digunakan dapat mempengaruhi ukuran dan bentuk granul yang seragam (Lachman *et al.* 1994).

Bahan baku penyusun biasanya dalam bentuk bubuk bila dibandingkan dengan granul yang dihasilkan mempunyai stabilitas yang lebih tinggi secara fisik maupun kimia. Granul yang dihasilkan tidak segera mengering atau mengeras seperti balok bila dibandingkan dengan serbuk. Hal ini disebabkan oleh karena bentuk luasan granul lebih kecil daripada luasan serbuk. Granul lebih mudah dibasahi oleh pelarut daripada beberapa macam serbuk yang cenderung akan

mengambang di atas permukaan pelarut, sehingga granul lebih disukai untuk dijadikan larutan (Ansel 1989).

Pembuatan granul memerlukan bahan-bahan tambahan lainnya. Pemilihan bahan tambahan yang akan digunakan harus memperhatikan sifat-sifat bahan tambahan tersebut yaitu harus *inert*, tidak berbau, tidak berasa, dan jika mungkin tidak berwarna (Voight 1994). Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan granul dikelompokkan ke dalam zat pengisi dan zat pengikat.

Bahan pengisi yang digunakan harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu (Lachman *et al.* 1994):

- Harus non toksik
- Tidak Kontraindikasi antar bahan
- Stabil secara fisik dan kimia
- Bebas Mikroba
- Netral secara fisiologis
- Tidak mengganggu bioavailabilitas obat

Jenis-jenis bahan pengisi untuk proses granulasi yang sering digunakan menurut Lachman *et al.* (1994) antara lain :

#### 1. Laktosa

Laktosa merupakan bahan pengisi yang paling luas digunakan dalam formulasi sediaan tablet. Bentuk hidrat biasanya digunakan dalam sistem granulasi basah dan granulasi kering. Formula laktosa biasanya menunjukkan kecepatan pelepasan zat aktif dengan baik, mudah dikeringkan dan tidak peka terhadap variasi moderat dalam kekerasan tablet pada pengempaan.

Laktosa dapat memadatkan massa granul dalam granulasi basah atau metode kempa langsung. Laktosa merupakan eksipien yang baik sekali digunakan dalam tablet yang mengandung zat aktif berkonsentrasi kecil karena mudah melakukan pencampuran yang homogen. Harga laktosa lebih murah daripada banyak pengisi lainnya.

## 2. Pati (Amilum)

Tablet yang menggunakan pati dalam konsentrasi tinggi sering lunak dan sulit dikeringkan. Secara komersial pati dapat mengandung lembab yang beragam antara 11-14%. Pati pada umumnya digunakan sebagai pengisi dan pengikat dalam tablet yang dibuat dengan metode granulasi basah dan kering. Satu-satunya pati modifikasi yang telah diterima sebagai pengisi dalam kempa langsung adalah Starch 1500

## 3. Starch 1500

Pati yang dapat dikempa secara langsung dipasarkan sebagai Starch 1500, yang secara fisik dibuat dari pati jagung. Apabila dikempa sendirian, zat ini melubrikasi sendiri dan mendesintegran sendiri. Jika starch 1599 dikombinasikan dengan sedikit 5-10% komponen yang tidak bersifat lubrikan sendiri, penambahan lubrikan yang biasanya glidan seperti koloidal silikon dioksida disyaratkan 0,25%. Amilum pregelatinize Starch 1500 lebih baik mengalir daripada amilum biasa dan memenuhi spesifikasi untuk amilum prigelatinasi. Amilum Starch yang baik jumlahnya 30% dan memiliki kandungan lembab yang tinggi yaitu 12-13%.

## 4. Mikrokrystalin Selulosa

Bahan pengisi mikrokrystalin selulosa sering dihubungkan sebagai Avicel PH 101 (serbuk) dan Avicel PH 102 (granula) yang digunakan luas dalam pembuatan tablet kempa langsung dan menunjukkan kekerasan dan friabilitas yang baik. Avicel PH 103 juga baik digunakan untuk tablet kempa langsung. Bentuk dari Avicel PH 103 memiliki keunggulan dibandingkan dengan 101 dan 102 karena volume spesifiknya kecil, aliran lebih baik dan waktu hancur lebih singkat.

Avicel pengisi yang relatif mahal dibandingkan dengan laktosa atau amilum. Avicel memiliki fungsi kemampuan yang baik sebagai

pengikat maupun desintegran dalam beberapa formula tablet sehingga sangat berguna dalam tablet yang memerlukan peningkatan kekuatan kohesif, tetapi tidak boleh memperpanjang waktu hancur yang dipersyaratkan. Menghasilkan tablet yang keras dengan tekanan kecil) kompresibilitas baik) dan friabilitas tablet rendah, waktu stabilitas panjang.

#### 5. Manitol

Pengisi yang baik untuk tablet kunyah karena rasanya enak, sedikit manis, halus dan dingin. Dewasa ini tersedia manitol granular kempa langsung. Manitol menghasilkan granul yang lebih halus dibandingkan sukrosa atau dekstrosa. Manitol mempunyai sifat alir yang buruk sehingga memerlukan konsentrasi lubrikan lebih besar (3-6 kali) dan konsentrasi glidan yang lebih tinggi untuk pengempaan yang memuaskan.

Sedangkan bahan pengikat merupakan bahan penentu yang bertanggung jawab untuk kekompakan dan daya tahan dari tablet. Bahan pengikat yang ditambahkan sebaiknya tidak terlalu banyak karena beberapa bahan pengisi juga dapat dipakai sebagai bahan pengikat. Bahan pengikat yang ditambahkan ke dalam bahan yang akan dibuat tablet melalui granulasi menggunakan pelarut atau pelarut bahan pekat. Bahan pengikat khusus yang dapat digunakan dalam pembuatan granul ini adalah PVP (*polivinilpiropidol*). PVP merupakan serbuk putih atau kekuningan, berbau lemah atau tidak terlalu berbau dan higroskopis. PVP mudah larut dalam air, dalam etanol dan bahan kloroform (Lachman *et al.* 1994).

Komposisi perbandingan antara bahan pengisi dan pengikat menurut Lieberman *et al* (1989), bahan pengisi dalam proses granulasi memiliki komposisi 25 % sampai 45% , sedangkan untuk bahan pengikat memiliki bobot mulai dari 2 % sampai 5 % . Metode granulasi dibagi menjadi dua golongan atas dasar digunakan atau tidaknya cairan untuk melarutkan atau mengembangkan bahan pengikat. Golongan proses granulasi yaitu granulasi kering dan granulasi basah.

### **2.6.1 Granulasi Kering**

Granulasi kering adalah sebuah metode proses pembuatan granul tanpa menggunakan air atau cairan sama sekali. Metode ini khususnya digunakan untuk bahan aditif yang tidak tahan terhadap cairan, tetapi tahan terhadap pemanasan, serta untuk bahan aktif yang mempunyai sifat aliran dan kompresibilitas yang tidak baik. Adapun tahapan dalam proses granulasi kering menurut Lieberman *et al*, (1989) adalah :

1. Bahan aktif dan bahan tambahan dihaluskan
2. Pencampuran komponen formula yang sudah dihaluskan
3. Mencetak menjadi tablet besar dan keras (*slugging*)
4. Pengayakan slugg menjadi granul
5. Mencampur granul dengan fase luar
6. Pencetakan tablet

Pada metode granulasi kering ini, partikel dapat diagregasi pada saat kompresi karena adanya kekuatan pengikatan yang terjadi saat kontak langsung antar permukaan zat padat. Tekanan tinggi berfungsi untuk meningkatkan area kontak besar permukaan, sehingga dapat mempengaruhi kekuatan ikatan yang terbentuk. Kekuatan ikatan ini tidak hanya diperoleh dari tekanan tinggi saja, tetapi juga melalui serbuk yang akan dibentuk (Banker dan Anderson 1992).

### **2.6.2 Granulasi Basah**

Granulasi basah adalah metode pembentukan granul dengan jalan mengikat serbuk dengan suatu perekat sebagai pengganti pengompakan. Teknik ini membutuhkan larutan, suspensi atau bubur yang mengandung pengikat yang biasanya ditambahkan ke dalam campuran serbuk. Bahan pengikat dapat pula di masukkan kering ke dalam campuran serbuk dan cairan dapat ditambahkan tersendiri. Proses pengeringan diperlukan dalam metode granulasi basah untuk menghilangkan pelarut yang dipakai pada pembentukan gumpalan-gumpalan dan untuk mengurangi kelembaban sampai pada tingkat optimum. Tahap – tahap dalam metode ini adalah penimbangan, pencampuran bahan-bahan, pembuatan

dan penambahan larutan pengikat, pengayakan awal, pengeringan dan pengayakan akhir (Lachman *et al.* 1994).

Pembuatan dan pengeringan dalam metode granulasi basah ini adalah melalui proses pengovenan. Larutan pengikat ditambahkan tergantung pada sifat pembasahan dari campuran bahan-bahan, cara yang paling mudah untuk menentukan titik akhir adalah dengan menekan massa dengan telapak tangan, bila pecah atau remuk maka dapat lanjut ke proses berikutnya yaitu proses pengayakan basah (Lachman *et al.* 1994). Dalam proses pengeringan dimaksudkan agar kadar air atau pelarut organik dapat hilang. Suhu pengeringan yang digunakan pada metode ini adalah 40° C selama 2 jam. Proses pengeringan ini berguna untuk menjaga kestabilan zat menjadi lebih baik, karena dalam kondisi kering tidak terjadi reaksi penguraian secara kimia maupun mikrobiologi, tetapi apabila terjadi penguraian itu akan berlangsung lambat (Voight 1994).

Adapun keuntungan dalam penggunaan metode granulasi basah menurut Bandelin (1992) adalah :

- Meningkatkan kompresibilitas dan daya ikat serbuk melalui penambahan pelarut pengikat sehingga serbuk menyatu satu sama lain
- Meningkatnya laju alir partikel obat berdosisi besar
- Mendapatkan keseragaman kandungan partikel obat dan distribusi warna yang baik
- Memudahkan penanganan massa serbuk tanpa menyebabkan kontaminasi udara
- Dan meningkatkan laju pelarutan tablet