

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Botani *Tabernaemontana sphaerocarpa* Blume

Menurut Tjitrosoepomo (1994) tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kidgom : Plantae
- Divisio : Spermatophyta
- Sub divisio : Angiospermaes
- Kelas : Dicotiledoneae
- Ordo : Apocynales
- Familia : Apocynaceae
- Subfamili : Apocynoidae
- Genus : *Tabernaemontana*
- Spesies : *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl



Gambar 1. Buah *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl

(Eryanti dkk, 2004).

Tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl dikenal dengan sebutan jembirit di Jawa, dan di Sunda dikenal dengan sebutan hamperu badak (Burkhill, 1996) dan di Logas Tanah Darat Kabupaten Kuantan Singingi tumbuhan ini dikenal dengan sebutan mentimun gagak. Tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat Kuantan Singingi sebagai obat anti malaria (Eryanti dkk, 2004).



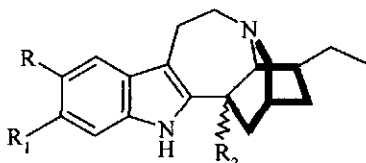
Sedangkan menurut literatur digunakan sebagai obat keseleo, kudis dan bisul (Anonymous, 2007).

2.2. Tinjauan Umum Tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Blume

Tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* memiliki tinggi sekitar 5-13 m. Batangnya tegak, bulat, percabangan simpodial, permukaan batang kasar, berwarna putih kecoklatan. Daunnya tunggal berhadapan, berbentuk lonjong, ujung runcing, pangkal runcing, tepi rata, panjang kira-kira 9-17 cm, lebar 7-13 cm, pertulangan menyirip, tebal, licin, dan berwarna hijau. Bunganya majemuk, berbentuk tandan, tumbuh diketiak daun, kelopak bentuk cawan, ujung bunga memiliki panjang sekitar 0,5 cm, benang sari dan putik halus, dasar mahkota membentuk tabung, panjang kira-kira 1,5-2 cm, dan berwarna putih. Sedangkan buah berbentuk buni, lonjong dengan panjang sekitar 3-7,5 cm, masih muda berwarna hijau setelah tua warnanya kuning. Bijinya berbentuk bulat telur yang berwarna coklat dan memiliki akar tunggang yang berwarna putih (Steenis, 1997).

2.3. Senyawa Kimia dari Genus *Tabernaemontana*

Andrade dkk (2005), telah berhasil mengisolasi 10 alkaloid indol dari batang tumbuhan *Tabernaemontana australis* (Muell. Arg) Miers yang berfungsi sebagai alat kontraseptik, anti tumor, anti inflamasi, anti malaria, anti HIV, aktivitas anti bakteri dan aktivitas leismanisida yang berfungsi sebagai alat perangsang pada sistem syaraf pusat yaitu koronaridin (1), voakangin (2), ibogamin (3), ibogain (4), desetil-voakangin (5), ibogalin (6), voakangin hidroksiindolenin (7), rupikolin (8), voakalotin (9), dan afinisin (10).



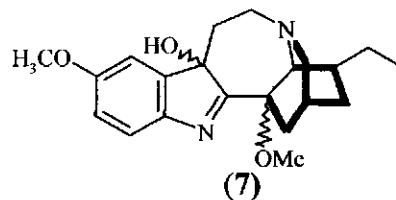
(1) R=R₁=H; R₂=COOCH₃

(2, 6) R=H; R₁=OCH₃; R₂=COOCH₃

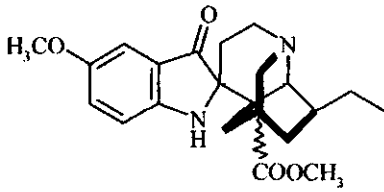
(3) R=R₁=R₂=H

(4) R= OCH₃; R₁=, R₂=H

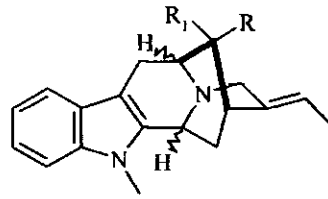
(5) R₁=R₂= OCH₃; R₂=H



(7)



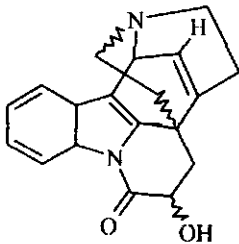
(8)



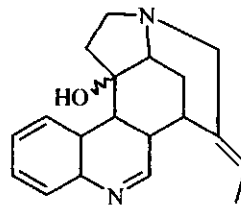
(9) R=COOCH₃; R₁=R₂=CH₂O

(10) R=R₁=CH₂O; R₂=H

Kam dkk (2001), telah berhasil mengisolasi dua senyawa baru alkaloid pentasiklik kuinolik pada tumbuhan *Tabernaemontana corymbosa* yaitu tronoharin (11) dan voastriktin (12).

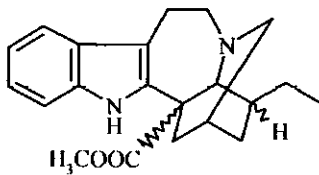


(11)

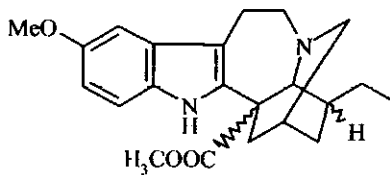


(12)

Pereira dkk (2004), telah berhasil mengisolasi alkaloid indol pada tumbuhan *Tabernaemontana catharinensis* yaitu coronaridin (13) dan voakanginin (14).

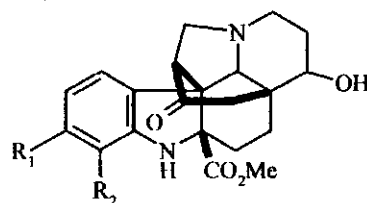
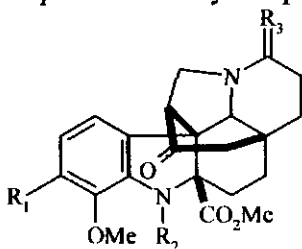


13



14

Lim dkk (2008), telah berhasil mengisolasi 6 senyawa alkaloid pada daun *Kopsia arboria* yaitu prunofolin A-F (15-20).



(15) $R_1=H, R_2=CO_2Me, R_3=O$

(18) $R_1=R_2=H$

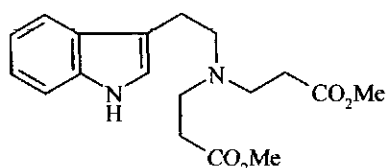
(16) $R_1=OMe, R_2=CO_2Me, R_3=H_2$

(19) $R_1=R_2=OCH_2O$

(17) $R_1=R_2=H, R_3=H_2$

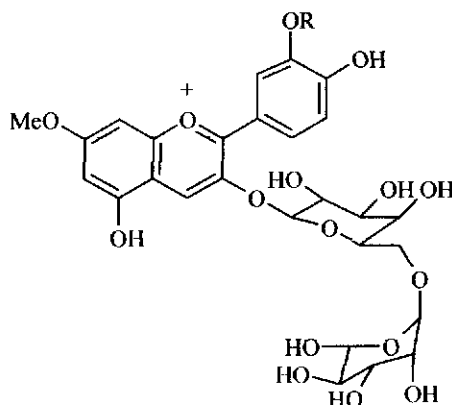
(20) $R_1=H, R_2=OMe$

Bonzom dkk (1997) telah berhasil mengisolasi senyawa indol alkaloid pada akar tumbuhan *Catharantus roseus* berfungsi sebagai kemoterapi kanker yaitu N-(metoksi karboniletill)-N-[2-(1H-indol-3il)-etil]-fl-metilalaninat (21).



(21)

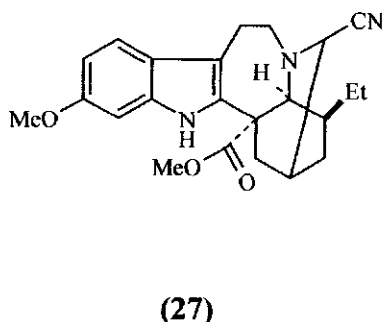
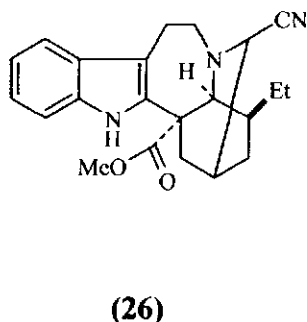
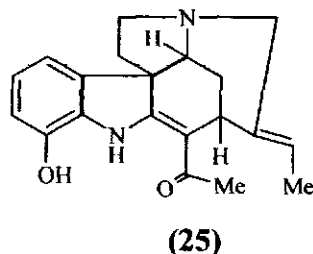
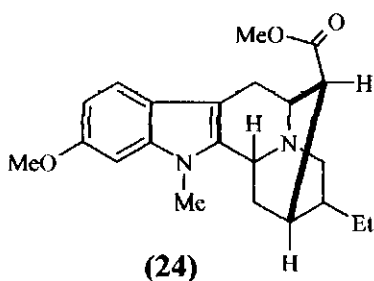
Toki dkk (2008) telah berhasil mengisolasi suatu flavonoid pada bunga tumbuhan *Catharantus roseus* yaitu senyawa 7-O-metilsianidin 3-O-[6-O-(L-ramopiranosil)-D-galaktopiranosid (22), rosinidin 3-robinobiosida (23).



(22) $R=H$

(23) $R=CH_3$

Pratchayasakul dkk (2008), telah berhasil mengisolasi 4 alkaloid pada tumbuhan *Tabernaemontana daviracata* berfungsi sebagai anti oksidan, anti infeksi, dan anti tumor yaitu 11-metoksi-N- metildi hidroperisiklivin (24), 19,20-dihidrotabernamin (25), 3S-sianokoronaridin (26), 3S-sianoisovokangin (27),



2.4. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam

Metoda isolasi yang dipilih untuk mendapatkan senyawa bahan alam sangat tergantung pada jenis sampel tumbuhan dan jenis senyawa yang ada, terutama tergantung pada keadaan fisik senyawa tersebut, misalnya berupa cairan yang mudah menguap. Ada beberapa isolasi senyawa bahan alam yang umumnya digunakan antara lain:

1. Maserasi (perendaman)

Teknik maserasi digunakan terutama jika senyawa organik metabolit sekunder yang ada dalam bahan alam tersebut cukup banyak persentasenya dan digunakan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa organik tersebut tanpa dilakukan pemanasan. Biasanya cara ini membutuhkan waktu yang agak lama dan sulit mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa organik dalam bahan alam itu yang mempunyai titik didih yang tinggi sehingga tidak mudah menguap. Maserasi biasanya digunakan untuk bagian tumbuhan yang teksturnya lunak, seperti bunga, daun dan buah. Hasil perendaman kemudian disaring dan filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental tumbuhan yang akan dilakukan pemisahan dengan cara kromatograf (Monitto, 1981).



2. Perkolasi

Pada prinsipnya tehnik perkolasi menggunakan suatu pelarut dimana pelarut tersebut dilewatkan secara perlahan (tetes demi tetes) kepada bahan alam yang mengandung senyawa organik tersebut. Pada teknik ini juga menggunakan pelarut yang tidak mudah menguap, akan tetapi melarutkan senyawa organik lebih baik. Perkolasi biasanya digunakan untuk tumbuhan yang keras seperti akar, batang, dan biji. Cara perkolasi digunakan apabila kandungan senyawa kimianya sedikit. Filtrat yang didapat diuapkan pelarutnya dengan alat *rotary avaporator* (Peckcok dkk, 1976)

3. Destilasi uap

Cara destilasi uap khususnya digunakan untuk senyawa yang dapat ikut diuapkan bersama uap air. Destilasi uap biasanya digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai aroma tertentu. Pada prinsipnya ada dua teknik pengerjaan dalam metoda ini, yakni uap air dihasilkan tersendiri, atau bahan alam langsung ditambahkan air dan dipanaskan. Untuk sampel yang mempunyai volume besar (daun) menggunakan metoda eksitu merupakan hal yang lebih baik, sedangkan sampel yang mempunyai volume kecil dapat menggunakan metoda pencampuran bahan baku dan air (insitu), (Manitto, 1981).

4. Sokletasi

Pengambilan senyawa organik metabolit sekunder yang terdapat pada bahan alam padat yang sering digunakan saat ini adalah metoda sokletasi. Prinsip kerja dengan metoda ini adalah menggunakan suatu pelarut yang mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa organik yang terdapat dalam bahan alam tersebut. Metoda sokletasi mempunyai keunggulan dari metoda lain, karena melalui metoda ini penyaringan dilakukan beberapa kali dan pelarut yang digunakan tidak habis, karena didinginkan melalui pendingin, begitupun pelarut tersebut dapat lagi dipergunakan setelah hasil isolasi dipisahkan. Metoda ini mempunyai kelemahan, karena hanya cocok untuk isolasi senyawa yang tidak rusak akibat pemanasan pada suhu titik didih pelarutnya. (Pecksok, 1976) .

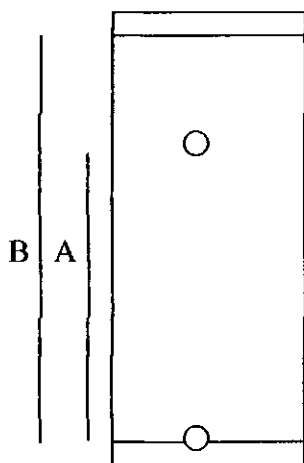
2.5. Metoda kromatografi

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan 2 fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Pemisahan ini terjadi karena adanya perbedaan migrasi yang disebabkan oleh beda koefisien distribusi dari masing-masing komponen. Cara kromatografi digolongkan sesuai dengan sifat-sifat dari fasa diam, jika fasa diamnya zat padat maka disebut dengan kromatografi serapan, sedangkan jika fasa diamnya zat cair maka disebut kromatografi partisi. Fasa diam ini dipengaruhi oleh besarnya partikel dan homogenitasnya (Gritter, 1991).

2.5.1. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metoda kromatografi yang paling sederhana. Fase diamnya berupa lapisan tipis dan fase geraknya berupa cairan. Lapisan tipis tersebut berfungsi sebagai penyerap dan pemisahan. Pemisahan terjadi pada kromatografi jenis ini berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase diam dan fase gerak yang mengakibatkan perbedaan kecepatan migrasi komponen yang dipisahkan. Mengalirnya fase gerak dalam fase diam diakibatkan adanya gaya kapiler (Gritter dkk., 1991).

Cara kerja KLT adalah sebagai berikut: sampel berupa campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Selanjutnya ditotolkan pada garis batas bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, dimana sampel akan meluas membentuk noda yang bulat. Bila noda telah kering, plat dimasukkan kedalam *Chamber* yang telah jenuh dengan pelarut yang telah dipilih sebagai fasa gerak dan jangan sampai noda tercelup karena senyawa yang akan dipisahkan akan larut, dan pelarut akan bergerak melalui plat karena gaya kapiler menggerakkan komponen dari campuran cuplikan pada perbedaan jarak dalam arah aliran pelarut dan akan terlihat pita-pita atau noda bila senyawa itu berwarna, Tetapi untuk senyawa tertentu yang tidak berwarna dapat diamati dengan lampu ultraviolet, uap yodium atau dengan pereaksi penampak noda. Beberapa pereaksi penampak noda yang biasa digunakan misalnya; Carr-Price yaitu larutan antimon klorida 20% dalam kloroform, pereaksi serum sulfat dan pereaksi Liebermann-Burchard (Harbone, 1987 dan Sastroamidjojo, 1985).



$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh noda (A)}}{\text{Jarak tempuh eluen (B)}}$$

Gambar 2. Plat KLT

2.5.2. Kromatografi lapis tipis preparatif

Metoda kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) merupakan metoda yang dapat digunakan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah yang tidak begitu banyak dan komponen sampel yang akan dipisahkan juga tidak begitu banyak jenisnya, adsorben yang digunakan pada umumnya yaitu silika gel dan alumina dengan ketebalan 0.5-2.0 mm yang melekat pada suatu plat tipis dari kaca atau aluminium. Plat kromatografi yang digunakan biasanya berukuran 20 x 20 cm atau 20 x 40 cm (Hostettman, 1995).

Sampel sebanyak 10- 100 mg biasanya dapat dipisahkan dengan sebuah plat KLT 20 x 20 cm dengan adsorben silika gel atau aluminium oksida dengan ketebalan 1 mm. Sebagai fasa gerak KLT preparatif digunakan fasa gerak KLT analitis. Fasa gerak sering digunakan pelarut biner, misalnya: n-heksan-etilasetat, kloroform-metanol, n-heksan-aseton. Pengembangan plat KLT biasanya dilakukan didalam bejana kaca (chamber) yang lebih dahulu telah dijenuhkan dengan fase gerak. Untuk penjenuhan bagian dalam bejana ditutupi dengan kertas saring yang tercelup dalam fasa gerak (Hostettman, 1995).

2.5.3. Kromatografi vakum cair

Kromatografi jenis ini pertama kali diperkenalkan oleh Coll dkk, pada tahun 1977. Metoda ini digunakan untuk mengisolasi diterpena senberenoid dari terumbu karang lunak australia. Kromatografi cair vakum menggunakan silika

gel 60 (63-200 mikro mess, merck). Pada tahun 1979 cara ini dimodifikasi oleh Targett agar sistem bekerja pada kondisi vakum secara terus menerus, akan tetapi cara yang diperkenalkan oleh Coll dkk, menggunakan corong buchner kaca maser atau kolom pendek sedangkan Tagett dkk, menggunakan kolom yang lebih panjang untuk meningkatkan daya pisah (Hostettman dkk, 1995).

2.5.4. Kromatografi Kolom

Salah satu teknik kromatografi untuk pemisahan bahan dalam jumlah yang besar yaitu dengan menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi jenis ini, sampel yang akan dipisahkan dituangkan pada bagian atas permukaan (lapisan tipis) kolom penyerap yang berada dalam tabung kaca berbentuk silinder. Pada bagian bawah kolom ditutup dengan katup yang bisa diputar-putar. Pelarut dibiarkan mengalir melalui kolom. Pita senyawa bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya (Gritter dkk., 1991).

Kolom merupakan jantung kromatografi. Berhasil atau tidaknya tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi kerja yang baik. Kolom kromatografi dapat dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu:

- a. Kolom analitik dengan diameter 2-6 mm dan panjangnya tergantung pada kemasan. Untuk kemasan partikel biasanya panjang kolom 50-100 cm dan untuk kemasan mikropartikel berpori biasanya panjang kolom 10-30 cm.
- b. Kolom preparatif umumnya dengan diameter 5 cm atau lebih dan panjangnya 25-100 cm (Gritter dkk., 1991).

Kolom kromatografi atau tabung untuk pengaliran karena gaya tarik bumi (gravitasi) biasanya terbuat dari kaca yang dilengkapi keran jenis tertentu pada bagian bawahnya untuk mengatur aliran kecepatan pelarut. Jenis adsorben yang paling banyak digunakan dan mudah didapat berupa alumina dan silika gel (Gritter dkk., 1991).

2.6. Rekristalisasi

Rekristalisasi pada prinsipnya adalah pengkristalan kembali salah satunya baik pengotor maupun hasil isolasi dalam pelarut panas. Pada metoda rekristalisasi harus dicari satu pelarut atau lebih yang dapat melarutkan pengotor

dan hasil isolasi pada suasana panas, tetapi tidak melarutkan salah satunya dalam suasana dingin (Sharp dkk., 1989).

2.7. Uji Kemurnian dengan Titik Leleh

Titik leleh adalah temperatur keadaan suatu kristal mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya. Titik leleh ini merupakan tetapan fisika untuk menentukan uji kemurnian dan identifikasi senyawa tidak dikenal. Harga yang didapat dibandingkan dengan literatur berdasarkan dugaan semula. Jika titik leleh yang didapat memberikan jarak yang tidak begitu besar (kecil dari atau sama dengan 2° C) maka kemungkinan senyawa sudah murni. Penggunaan tetapan fisika hanya sebagai langkah pendahuluan saja, dengan perkataan lain data pengujian tetapan fisika bukan satu-satunya cara yang menentukan kemurnian suatu senyawa (Sharp dkk., 1989).

2.8. Metoda Karakterisasi

2.8.1. Spektroskopi inframerah (IR)

Spektroskopi inframerah digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari suatu senyawa. Bila suatu senyawa ditempatkan pada suatu pancaran inframerah, energi yang diserap menyebabkan adanya perubahan vibrasi ikatan. Hal ini disebabkan spektrum inframerah senyawa organik bersifat khas, artinya senyawa yang berbeda akan memiliki spektrum yang berbeda pula (Noerdin, 1986).

Panjang gelombang IR dapat dibagi menjadi tiga sub daerah, yaitu IR dekat ($4000-1300\text{ cm}^{-1}$, $2,5\ \mu\text{m} - 0,8\ \mu\text{m}$), IR tengah ($400 - 4000\text{ cm}^{-1}$, $25\ \mu\text{m} - 2,5\ \mu\text{m}$) dan IR jauh ($400 - 40\text{ cm}^{-1}$, $250\ \mu\text{m} - 25\ \mu\text{m}$). Hanya IR tengah yang berguna dalam analisis struktur organik, karena pada daerah ini teramati vibrasi-vibrasi ulur dan dapat dihubungkan dengan struktur molekul (Crews, 1998).

Menurut Wingrove dkk (1981), apabila molekul dua atom dapat diumpamakan sebagai massa yang bervibrasi dan dihubungkan dengan suatu pegas. Jarak ikatan akan berubah secara kontinyu, tapi keseimbangan atau jarak ikatan rata-rata dapat ditentukan. Bila pegas direntangkan atau ditekan pada jarak keseimbangan ini, maka energi potensial dari sistem akan naik. Berdasarkan

hukum Hooke, frekuensi vibrasi dari ikatan dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

Keterangan : ν = frekuensi dalam (cm^{-1})
 c = kecepatan cahaya (3×10^8 m/s)
 K = tetapan gaya dalam dyne/cm
 $\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_1 + m_2}$; massa atom dalam gram

2.8.2. Spektroskopi ultraviolet (UV)

Spektroskopi ultraviolet paling umum digunakan untuk mengetahui adanya ikatan rangkap terkonjugasi. Kegunaan lainnya adalah untuk mengetahui jumlah ikatan rangkap yang terdapat dalam suatu molekul (Sudjadi, 1983). Senyawa organik yang dikarakterisasi dengan UV harus dalam keadaan murni dan berbentuk larutan. Senyawa yang akan dianalisa dilarutkan dalam pelarut organik yang sesuai (Wingrove dkk, 1981). Untuk mempelajari serapan ultraviolet secara kualitatif berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan harus diukur. Penggunaan spektroskopi ultraviolet secara kuantitatif berhubungan dengan absorbansi dengan konsentrasi dan tebal cuplikan. Hukum Lambert-Beer dapat diketahui hubungan antara transmitan, tebal cuplikan dan konsentrasi. Hukum Lambert-Beer sebagai berikut :

$$\text{Log } T = A = \epsilon b c$$

Keterangan : ϵ = absorptivitas molar ($\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$)
 b = panjang sel (cm)
 c = konsentrasi (M)

2.8.3. Spektroskopi resonansi magnetik inti (NMR)

Spektroskopi NMR merupakan teknik yang sangat baik di dalam menentukan struktur senyawa organik. Spektroskopi NMR berhubungan dengan sifat magnetik inti. Penentuan senyawa dengan menggunakan NMR akan

diperoleh gambaran perbedaan sifat magnet dari berbagai inti yang ada untuk menduga letak inti tersebut dalam molekul (Sudjadi, 1983). Metoda ini tidak hanya berguna dalam bidang organik, tetapi juga dapat digunakan dalam bidang yang lain, seperti farmasi, analisis dan sintesis obat serta ilmu lain (Sastrohamidjojo, 2001).

Spektrum normal NMR adalah pengumpulan dari satu atau lebih puncak resonansi pada frekuensi berbeda. *Chemical Shift* atau pergeseran kimia menunjukkan posisi frekuensi resonansi yang diamati pada inti spesifik lingkungan struktur tunggal (Wingrove dkk, 1981). Nilai δ adalah dalam satuan unit part per million (ppm).

2.9. Uji Toksisitas (*Brine shrimp lethality test*)

Toksisitas merupakan suatu media khusus yang dihasilkan oleh reaksi kimia yang merugikan terhadap organisme hidup. Sesuatu zat dikatakan beracun, bila zat tersebut menyebabkan efek yang merugikan. Namun dalam praktek, hanya zat dengan risiko relatif lebih besar akan menyebabkan kerusakan yang dinyatakan beracun. Tetapi ada juga zat yang pada dosis sangat rendah sudah beracun seperti toksin *Clostridium botulinum* (Ariens dkk, 1978).

Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu campuran zat kimia pada hewan coba sebagai uji pra skrining senyawa bioaktif antikanker (Sajuthi, 2000).

Uji toksisitas akut dipergunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari campuran zat kimia pada hewan coba sebagai evaluasi terhadap keamanan zat-zat kimia (Balazs, 1970).

Uji toksisitas mempunyai korelasi dengan aktivitas obat antikanker. Apabila LC_{50} suatu ekstrak tanaman di bawah 1000 ppm terhadap kematian hewan coba berarti menurut Meyer *et al*, senyawa tersebut aktif terhadap sel tumor atau sel kanker, sedangkan untuk senyawa murni dianggap bersifat toksisitas metoda BSLT jika $LC_{50} \leq 250$ ppm dengan konsentrasi maksimal 500 ppm (Zettra dkk., 2007). menyatakan bahwa senyawa dikatakan aktif pada uji toksisitas.

Sitotoksik dapat diartikan sebagai suatu zat yang mempunyai pengaruh pengrusakan yang spesifik pada sel-sel tertentu, atau mempunyai pengaruh

seperti penggunaan pada proses lisis sel-sel dan untuk obat anti neoplastik yang selektif membunuh sel (Charles dan Clayman, 1989). Untuk mengukur tingkat toksisitas dapat digunakan istilah :

LD_{50} (*Lethal Dose*) : Dosis yang dibutuhkan untuk membunuh 50 % organisme uji.

ED_{50} (*Effective Dose*) : Dosis dimana 50% organisme uji memperlihatkan efek aktivitas nyata.

LC_{50} (*Lethal Concentration*) : Konsentrasi yang digunakan, dimana 50% organisme uji mati, selama waktu tertentu.

Salah satu metoda yang digunakan untuk menguji senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dari senyawa yang diisolasi adalah *Brine shrimp lethality test* (BSLT), dimana tujuan dari penggunaan metode ini adalah sebagai uji pendahuluan yang dapat mendukung penemuan senyawa-senyawa antikanker dan pestisida (Colegate *dkk.*, 1993).

2. 10. Analisis/ Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah untuk menentukan sifat akut atau kronik suatu senyawa. Pada dasarnya pengujian toksisitas bertujuan untuk menilai efek racun terhadap organisme, menganalisis secara obyektif resiko yang dihadapi akibat adanya racun di lingkungan. Toksisitas akut terjadi pada dosis tinggi, waktu pemaparan pendek. Sedangkan toksisitas kronis terjadi pada dosis tidak tinggi pemaparan menahun, gejala tidak mendadak atau gradual, intensitas efek dapat parah/ tidak. Jenis uji yang digunakan tergantung pada penggunaan zat kimia dan manusia yang terpapar. (Oginawati K,2002).

Oginawati K (2002), membagi beberapa tingkatan dalam uji toksisitas yaitu:

Tingkat 1. Uji pemaparan akut

- a. Menggambar kurva dosis dan respon untuk kematian dan kemungkinan cacat tubuh
- b. Uji iritasi mata dan kulit
- c. membuat saringan pertama untuk mutagenik aktivitas

Tingkat 2. Uji pemaparan sub kronis

- a. Menggambar kurva dosis dan respon (paparan 90 hari) dalam 2 spesies, sebaiknya uji ini menggunakan rute paparan pada manusia
- b. Uji toksisitas pada organ, catat kematian, penurunan berat badan, kimia klinis, membuat sayatan dari jaringan secara mikroskopis.
- c. Menyiapkan saringan kedua untuk aktifitas mutagenik
- d. Uji reproduktif dan cacat lahir (teratologi)
- e. melakukan uji perilaku

Tingkat 3. Uji pemaparan kronis

- a. Melakukan uji mutagenik pada hewan mamalia
- b. Melakukan uji karsinogenesis pada hewan pengerat
- c. Melakukan uji coba klinis pada manusia

2.10.1. Uji Toksisitas Kuantitatif

Uji toksisitas kuantitatif misalnya dilihat dari segi organ yang terkena racun, misalnya hati, ginjal, dan sistem saraf. Uji toksisitas kuantitatif dapat juga dilihat dari gejala yang timbul mekanisme racun terhadap organ mulai pada tingkat sel, tingkat jaringan, dan sampai pada tingkat organ (Ariens dkk, 1998).

2.10.2. Uji Toksisitas Kualitatif

Uji toksisitas secara kualitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub-akut, kronis. Toksisitas akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal/multipel dalam 24 jam paparan. Toksisitas akut sifatnya mendadak, waktu singkat, biasanya reversibel. Toksisitas kronis sifatnya permanen, lama, konstan, kontinu, irreversibel (Ariens dkk, 1978).

Uji toksisitas atas dasar dosis dan waktu berarti spesifik toksisitas akut/kronis. Dosis adalah jumlah racun yang masuk ke dalam tubuh, besar, kecilnya menentukan efek. Sedangkan efek dosis ini merupakan fungsi dari usia, jenis kelamin, berat badan, frekuensi, interval waktu, kecepatan ekskresi, kombinasi dengan zat lain. Terdapat beberapa istilah mengenai dosis yaitu yang umum

digunakan adalah Lethal Dosis (LD) : yaitu dosis yang mematikan X % hewan uji dengan satuan berat/berat badan. Dikenal LD₁₀, LD₅₀, LD₁₀₀, Min LD dan Dosis Therapeutik yaitu dosis yang tepat untuk pengobatan. atau dapat juga dilihat dari konsentrasi LC₁₀, LC₅₀, LC₁₀₀. Uji toksisitas biasanya dilakukan dengan menggunakan hewan uji seperti mencit, tikus, kelinci, monyet dan anjing. Pemilihan hewan uji tergantung pada jenis toksikannya dan ketersediaan dana. Setelah diperoleh hasil uji toksisitas, untuk dapat diketahui efeknya terhadap manusia, maka perlu dilakukan extrapolasi (Oginawati K, 2002).

