

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kunyit Hitam

1. Taksonomi kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.)

Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.), sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1, merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki karakteristik khas berupa rimpang dengan warna biru kehitaman pada bagian interiornya. Tanaman ini termasuk dalam famili *Zingiberaceae* dan telah lama digunakan dalam praktik pengobatan tradisional. Berdasarkan klasifikasi taksonomi, kunyit hitam dikelompokkan sebagai berikut (Nuraeni *et al.*, 2023). :

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Liliopsida
Order	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i>
Species	: <i>Curcuma caesia</i> Roxb.



Gambar 1. Tanaman kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.).

2. Deskripsi dan morfologi kunyit hitam

Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) merupakan tanaman herba dengan tinggi berkisar antara 0,5 hingga 1 meter. Struktur tanaman ini terdiri atas rimpang (rhizoma) serta bagian aerial yang meliputi batang semu, daun, dan bunga. Daunnya berbentuk lonjong memanjang (oblong) dengan panjang sekitar 30–60 cm. Bagian atas tulang daun utama terdapat warna ungu yang akan semakin memudar seiring dengan pertambahan umur tanaman. Daun kunyit hitam memiliki aroma yang khas dan rasa pahit. Permukaan atas berwarna hijau cerah dan bagian

bawah berwarna hijau lebih pucat. Tangkai daun berwarna putih gading dan berukuran relatif panjang. Bunga kunyit hitam tergolong sebagai bunga majemuk dengan kelopak berwarna kuning pucat yang disertai rona merah pada bagian tepinya serta berbentuk semi elips. Rimpang menunjukkan variasi dalam ukuran dan bentuk, dengan diameter berkisar antara 2–6 cm. Permukaan rimpang berwarna coklat tua hingga biru kehitaman, disertai adanya kerutan memanjang dan melingkar yang mencerminkan keberadaan nodus dan internodus. Akar primer tidak tampak jelas, sedangkan akar adventif tumbuh dari permukaan rimpang, berwarna kuning kecokelatan, dan berbentuk memanjang menyerupai serabut (Nuraeni *et al.*, 2023).

3. Kandungan kimia

Budidaya kunyit hitam di Indonesia masih relatif terbatas, meskipun tingkat kebutuhannya cukup tinggi, terutama untuk keperluan industri farmasi dan pengobatan tradisional. Kunyit hitam diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif, di antaranya kurkumin, desmetoksikurkumin, dan bisdesmetoksikurkumin. Tanaman ini kaya akan minyak atsiri yang tersusun atas campuran keton seskuiterpena, dengan turmeron dan tumeon sebagai komponen dominan ($\pm 60\%$), zingiberene ($\pm 25\%$), felandren, sabinene, borneol, dan sineol. Komponen lainnya meliputi lemak dan karbohidrat dalam jumlah relatif kecil, serta protein, pati, vitamin C, dan mineral. Keberadaan senyawa fitokimia tersebut berperan penting dalam memberikan berbagai aktivitas biologis yang mendukung manfaat kesehatan. Kunyit hitam juga dilaporkan mengandung curcuminoid, minyak atsiri, flavonoid, senyawa fenolik, dan asam amino dalam kadar yang cukup tinggi (Udayani, 2022).

4. Kegunaan kunyit hitam

Kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) merupakan salah satu spesies tanaman yang tergolong langka dan memiliki beragam potensi khasiat. Tanaman ini termasuk dalam famili *Zingiberaceae* dan dicirikan oleh rimpang berwarna gelap ketika mencapai fase kematangan. Kunyit hitam berasal dari India dan telah lama dimanfaatkan dalam praktik pengobatan tradisional. Secara empiris, tanaman ini digunakan untuk meredakan nyeri abdomen, meningkatkan nafsu makan, memperbaiki stamina, serta mengatasi batuk. Kunyit hitam dipercaya berkhasiat dalam membantu proses detoksifikasi darah dan menangani berbagai gangguan kulit, seperti ruam, kadas, dan kudis. Kandungan senyawa dengan

aktivitas antiinflamasi berperan dalam mengurangi rasa gatal dan peradangan pada kulit (Tanesib *et al.*, 2023).

Berdasarkan aspek farmakologis, kunyit hitam diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antimutagenik, sitotoksik, serta berpotensi menghambat aktivitas *Nuclear factor kappaB* (NF- κ B). Aktivitas antioksidan yang tinggi juga berkaitan dengan kemampuannya berperan sebagai tabir surya alami melalui mekanisme penyerapan atau pemantulan radiasi ultraviolet, sehingga berpotensi melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan sinar matahari. Ekstrak metanol *Curcuma caesia* pada dosis 500 mg/kg BB diketahui memiliki efek protektif terhadap bronkospasme yang diinduksi histamin mampu menunjukkan aktivitas antagonis terhadap reseptor H1, yang mendukung potensinya sebagai agen antiasma (Maulana *et al.*, 2025).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang diperoleh melalui proses pengeringan dan digunakan sebagai bahan obat tanpa mengalami pengolahan lanjutan. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan berbagai metode, antara lain penjemuran di bawah sinar matahari langsung, pengeringan menggunakan aliran udara, atau pemanasan dalam oven pada suhu tidak lebih dari 60°C, dengan tujuan menjaga kestabilan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Simplisia kering selanjutnya diolah menjadi serbuk dengan tetap mempertahankan integritas dan aktivitas zat aktif. Tingkat kehalusan serbuk simplisia dapat berbeda-beda, mulai dari serbuk kasar hingga serbuk sangat halus (FHI, 2017).

Menurut (Maslahah, 2024), simplisia dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan sumber bahan bakunya, yaitu:

- a. Simplisia nabati, yaitu simplisia yang berasal dari tumbuhan, baik dalam bentuk tanaman utuh, bagian-bagian tertentu dari tumbuhan, maupun eksudat tanaman. Eksudat tanaman merupakan zat yang secara alami dikeluarkan oleh tumbuhan atau diperoleh melalui perlakuan tertentu pada jaringan tanaman dan bahan nabati lain yang dipisahkan dari tumbuhan dengan metode khusus.

- b. Simplisia hewani, yaitu simplisia yang bersumber dari hewan, baik berupa hewan utuh, bagian tubuh tertentu, maupun produk atau senyawa yang dihasilkan oleh hewan dan memiliki nilai terapeutik, seperti minyak ikan dan madu.
- c. Simplisia mineral, yaitu simplisia yang berasal dari bahan mineral atau anorganik yang belum mengalami pengolahan kompleks, misalnya serbuk seng, serbuk tembaga, dan kaolin.

2. Pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia terdiri atas beberapa tahapan yang perlu dilakukan secara sistematis untuk menjaga mutu dan kandungan zat aktif bahan alam. Menurut (Maslahah, 2024), tahapan dalam pembuatan simplisia meliputi:

2.1 Pengumpulan bahan simplisia. Waktu panen setiap bagian tanaman ditetapkan secara spesifik untuk memastikan kandungan zat aktif berada pada kondisi optimal. Biji dianjurkan dipanen pada saat buah mulai matang, tetapi sebelum terjadi dehisensi. Bunga dikoleksi pada fase kuncup, yaitu sebelum mekar sempurna, karena pada tahap tersebut kadar senyawa aktif umumnya mencapai tingkat tertinggi menjelang penyerbukan. Daun atau bagian herba dipanen ketika proses fotosintesis berlangsung maksimal, yang biasanya terjadi pada fase awal pembungaan atau menjelang pembentukan buah. Pucuk daun sebaiknya dipetik saat berwarna hijau tua sebagai penanda kematangan fisiologis. Kulit batang diambil dari tanaman yang telah mencapai umur panen, dengan waktu pengambilan yang dianjurkan menjelang musim kemarau agar tidak mengganggu pertumbuhan tanaman. Umbi lapis dipanen ketika ukuran umbi telah mencapai maksimum dan pertumbuhan vegetatif bagian atas berhenti. Rimpang dipanen saat batang atau daun bagian atas mulai mengering dan ukuran rimpang telah optimal, yang umumnya berlangsung pada musim kemarau. Akar tanaman dikumpulkan setelah pertumbuhan bagian atas terhenti atau ketika tanaman telah mencapai fase dewasa secara fisiologis.

2.2 Sortasi basah. Sortasi basah merupakan tahap awal yang dilakukan terhadap bahan tanaman dalam kondisi segar atau segera setelah panen, dengan tujuan memisahkan bahan simplisia dari berbagai kontaminan, seperti tanah, kerikil, rumput, bagian tanaman lain yang tidak digunakan, serta bagian bahan yang mengalami kerusakan.

2.3 Pencucian. Proses pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran, sisa tanah, mikroorganisme, dan residu

pestisida yang melekat pada simplisia. Tahapan sortasi dan pencucian ini berperan penting karena sangat memengaruhi jenis serta jumlah mikroba awal pada bahan simplisia.

2.4 Pengubahan bentuk. Tahap pengubahan bentuk bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan bahan baku melalui proses pemotongan menggunakan pisau atau mesin perajang, sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan sesuai kebutuhan. Peningkatan luas permukaan tersebut dapat mempercepat proses pengeringan.

2.5 Pengeringan. Tahap pengeringan dilakukan untuk menurunkan kadar air bahan, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, menonaktifkan aktivitas enzim yang berpotensi merusak zat aktif, serta mempermudah proses pengolahan selanjutnya. Metode pengeringan yang digunakan meliputi penjemuran, pengeringan dengan aliran udara, atau penggunaan oven.

2.6 Sortasi kering. Tahap sortasi kering dilakukan untuk memisahkan simplisia yang rusak atau tidak memenuhi persyaratan mutu, seperti bahan yang terlalu gosong.

2.7 Pengemasan dan penyimpanan. Tahap akhir dalam proses penanganan simplisia adalah penyimpanan, yaitu dengan menempatkan bahan dalam wadah terpisah guna mencegah pencampuran dengan jenis simplisia lain.

C. Ekstraksi

1. Definisi ekstrak dan ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan berbentuk pekat yang diperoleh melalui proses penarikan zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian dilanjutkan dengan penguapan sebagian atau seluruh pelarut beserta sisa massa atau serbuk hingga memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan (Riyanto dan Haryanto, 2023).

Ekstraksi didefinisikan sebagai proses pemisahan senyawa tertentu dari bahan simplisia dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai. Proses ini bertujuan untuk memperoleh komponen bernilai guna, khususnya senyawa bioaktif yang banyak diaplikasikan dalam bidang farmasi, pangan, dan kosmetik. Metode ekstraksi secara umum dikelompokkan berdasarkan ada atau tidaknya penerapan pemanasan selama proses berlangsung. Keberhasilan dan efisiensi ekstraksi sangat dipengaruhi oleh penggunaan pemanasan, yang efektivitasnya

bergantung pada sifat fisikokimia senyawa target yang ingin diperoleh (Sun *et al.*, 2025).

Terdapat berbagai metode ekstraksi yang lazim digunakan meliputi ekstraksi padat-cair, cair-cair, dan gas-cair. Ekstraksi cair-cair merupakan teknik pemisahan komponen kimia dengan menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur, di mana senyawa target akan terdistribusi ke dalam masing-masing fase sesuai dengan tingkat kelarutannya. Proses ini umumnya dilakukan dengan menggunakan corong pisah (Naviglio *et al.*, 2019).

Ekstraksi padat-cair, yang dikenal pula sebagai proses pencucian, merupakan metode pemisahan zat terlarut dari bahan padat yang bersifat inert atau tidak larut. Proses ini dapat dilakukan menggunakan berbagai jenis pelarut, seperti air, senyawa kimia tertentu, larutan alkali, maupun larutan asam, bergantung pada sifat senyawa target yang akan diekstraksi, misalnya pektin (Dmitrienko *et al.*, 2024).

Tujuan utama pembuatan ekstrak dari tanaman obat adalah untuk memperoleh bahan yang terstandarisasi sehingga mutu, keamanan, dan efektivitas produk akhir dapat terjamin. Dibandingkan dengan simplisia, ekstrak memiliki sejumlah kelebihan, antara lain lebih praktis dalam penggunaannya serta membutuhkan bobot yang lebih kecil dibandingkan bahan tanaman asalnya (Wang *et al.*, 2023).

2. Metode ekstraksi

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam bahan padat, seperti daun, bunga, atau rempah-rempah, ke dalam pelarut pada suhu ruang atau sedikit lebih tinggi sehingga senyawa tertentu dapat terlarut secara bertahap. Metode ini sesuai digunakan untuk bahan yang bersifat sensitif terhadap panas, berserat, atau sulit diekstraksi menggunakan teknik lain (Sun *et al.*, 2025). Maserasi termasuk teknik ekstraksi yang relatif sederhana dan umumnya dilakukan pada suhu kamar. Proses maserasi membutuhkan waktu yang cukup lama dan memiliki efisiensi ekstraksi yang relatif rendah, metode ini memiliki keunggulan dalam mempertahankan stabilitas senyawa yang mudah terdegradasi oleh panas (Zhang *et al.*, 2018). Selama proses maserasi, pelarut akan menembus jaringan bahan, merusak dinding sel, dan memungkinkan senyawa target terlarut secara perlahan melalui mekanisme difusi. Lama waktu maserasi ditentukan oleh karakteristik bahan dan jenis senyawa yang ingin diekstraksi, sedangkan perbandingan antara bahan dan pelarut merupakan faktor

penting dalam memperoleh hasil ekstraksi yang optimal (Bitwell *et al.*, 2023).

2.2 Perkolasi. Perkolasi merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengekstraksi zat aktif dari bahan tumbuhan. Proses ini menggunakan alat yang disebut perkolator, yaitu wadah berbentuk kerucut dengan bagian atas dan bawah terbuka. Tahap awal, sampel tumbuhan dalam bentuk padat dibasahi dengan pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kurang lebih 4 jam dalam wadah tertutup, selanjutnya, bagian atas perkolator ditutup rapat dan pelarut ditambahkan hingga seluruh sampel terendam. Campuran tersebut kemudian dapat dimaserasi kembali di dalam perkolator tertutup selama sekitar 24 jam. Saluran keluaran perkolator dibuka sehingga larutan hasil ekstraksi menetes secara perlahan. Penambahan pelarut dilakukan secara bertahap sesuai kebutuhan hingga volume perkolat mencapai sekitar tiga perempat dari jumlah pelarut yang dibutuhkan untuk memperoleh produk akhir (Zhang *et al.*, 2018).

2.3 Infundasi. Metode infundasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan dengan merendam simplisia dalam air panas pada suhu sekitar 90°C selama kurang lebih 15 menit. Metode ini umumnya digunakan untuk mengekstraksi zat aktif dari bahan nabati yang mudah larut dalam air. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya dapat diuapkan menggunakan penangas air hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan (Khoiriyah, 2023).

2.4 Sokletasi. Sokletasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan alat soklet, di mana sampel dan pelarut ditempatkan pada bagian yang terpisah. Prinsip kerja metode ini adalah terjadinya proses ekstraksi secara berulang dengan jumlah pelarut yang relatif sedikit. Pelarut yang digunakan umumnya memiliki titik didih rendah sehingga mudah menguap dan terkondensasi kembali selama proses berlangsung. Proses sokletasi dapat dihentikan dengan menghentikan pemanasan pelarut (Khoiriyah, 2023).

2.5 Refluks. Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan memanaskan pelarut hingga mencapai titik didihnya dalam jangka waktu tertentu, dengan jumlah pelarut yang relatif konstan serta dilengkapi sistem pendinginan ulang. Hasil yang optimal diperlukan proses refluks dapat diulang terhadap residu yang tersisa sebanyak 3–6 siklus pemanasan. Metode ini memungkinkan pemisahan senyawa secara lebih efektif, termasuk senyawa yang bersifat peka terhadap panas

dan mampu menghasilkan kadar flavonoid lebih tinggi (Kurniawati *et al.*, 2024).

2.6 Digesti. Ekstraksi digesti merupakan metode yang serupa dengan maserasi, namun prosesnya dilakukan pada suhu yang lebih tinggi, yaitu sekitar 40–50°C, sehingga dapat meningkatkan laju pelarutan senyawa target (Uzwatania *et al.*, 2024).

2.7 Dekok. Ekstraksi dekok merupakan metode penarikan zat aktif dari simplisia herba menggunakan pelarut air pada suhu sekitar 90°C selama ± 30 menit, sehingga diperoleh ekstrak dalam bentuk larutan cair (Khoiriyah, 2023).

3. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak harus mampu melarutkan senyawa aktif atau senyawa berkhasiat secara efektif. Pemilihan pelarut didasarkan pada beberapa pertimbangan utama, antara lain selektivitas terhadap senyawa target, kemudahan dalam penggunaan dan proses, aspek ekonomis, sifat ramah lingkungan, serta tingkat keamanannya. Pelarut yang dianggap ideal dan banyak digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air, karena memiliki kemampuan ekstraksi yang baik terhadap senyawa dengan berat molekul rendah, seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Damayanti *et al.*, 2024).

Etanol atau alkohol etil merupakan senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil ($-OH$) dan tersusun atas unsur karbon, hidrogen, serta oksigen. Senyawa ini berwujud cair, tidak berwarna, berbau khas, mudah menguap, mudah terbakar, serta mudah bercampur dengan air. Etanol memiliki beberapa sifat fisik, antara lain berat molekul sebesar 46,1, titik didih 78,3°C, titik beku $-117,3^\circ C$, kerapatan 0,789 pada suhu 20°C, nilai kalor 7077 kal/g, panas laten penguapan 204 kal/g, serta angka oktan berkisar antara 91–105. Etanol banyak dimanfaatkan sebagai pelarut, germisida, bahan antibeku, bahan bakar, serta bahan baku dalam sintesis berbagai senyawa organik. Etanol juga digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, resin, serta di laboratorium sebagai pelarut utama (Kumalasari dan Musiam, 2019).

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul komponen antara dua fase, yaitu fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben), yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. KLT termasuk ke dalam jenis kromatografi planar dan banyak digunakan untuk

memisahkan senyawa yang bersifat hidrofob, seperti lipid dan hidrokarbon (Pratiwi *et al.*, 2023).

Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis didasarkan pada perbedaan sifat fisik dan kimia senyawa, meliputi kecenderungan molekul untuk melarut dalam fase cair (kelarutan), kecenderungan untuk menguap, serta afinitas molekul terhadap permukaan fase diam atau kemampuan melekat pada adsorben (Hafizah dan Sunardi, 2024).

Identifikasi senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan menggunakan nilai R_f (*Retardation factor*), yang menunjukkan perbandingan antara jarak tempuh suatu komponen dengan jarak tempuh total fase gerak. Nilai R_f yang dianggap baik umumnya berada dalam rentang 0,2–0,8. Pergerakan noda pada kromatografi lapis tipis, yang selanjutnya memengaruhi nilai R_f , dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat adsorben, ketebalan dan kerapatan lapisan adsorben, jenis pelarut sebagai fase gerak, derajat kejenuhan ruang pengembang, teknik pemisahan, jumlah cuplikan yang diaplikasikan, serta suhu selama proses analisis (Putri *et al.*, 2024).

D. Tikus putih

1. Klasifikasi tikus

Menurut Tandi (2017), tikus putih diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Jenis dan morfologi tikus putih

Tikus yang termasuk dalam genus *Rattus* terdiri atas berbagai jenis dan strain yang beragam, antara lain sebagai berikut:

2.1 Tikus *Wistar*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* merupakan salah satu jenis tikus albino yang paling sering digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian. Strain ini berasal dari hasil persilangan antara tikus *Wistar* dengan tikus jantan liar asal Norwegia yang ditangkap di Berkeley, California. Secara morfologis, tikus *Wistar*

memiliki ciri khas berupa kepala yang relatif lebar, telinga panjang, serta ekor yang panjangnya hampir sebanding dengan tubuh, meskipun sedikit lebih pendek. Sifat albino pada tikus ini ditandai dengan warna bulu yang cerah serta mata berwarna merah muda hingga merah. Tikus *Wistar* tergolong memiliki ukuran tubuh sedang hingga besar dibandingkan tikus laboratorium lainnya. Masa kematangan reproduksinya berkisar antara 7–10 minggu, dengan berat badan sekitar 100–227 gram, serta lama masa kebuntingan antara 19–22 hari (Domínguez-Oliva *et al.*, 2023).



Gambar 2. Tikus *Wistar* (Al-Hajj, 2016).

2.2 Tikus *Sprague Dawley*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Sprague Dawley pertama kali dikembangkan sekitar tahun 1925 oleh Robert Worthington Dawley (1897–1949), seorang ahli kimia fisik dari Universitas Wisconsin. Penamaan strain ini merupakan gabungan dari nama istrinya, Sprague, dan nama belakang pengembangnya, Dawley. Pengembangan awal strain *Sprague Dawley* dimulai dari seekor tikus jantan berkerudung tunggal, yang memiliki tubuh berwarna putih dengan kepala hitam, serta enam ekor tikus betina albino sebagai induk awal. Secara morfologis, tikus *Sprague Dawley* memiliki ukuran tubuh yang relatif lebih besar, dengan bentuk kepala yang lebih panjang dan ramping dibandingkan tikus strain *Wistar*. Ekor tikus ini umumnya memiliki panjang yang sama atau bahkan lebih panjang dari tubuhnya. Berat badan rata-rata tikus *Sprague Dawley* berkisar antara 250–520 gram. Strain ini dikenal memiliki sistem reproduksi yang stabil serta sifat yang lebih jinak, sehingga memudahkan proses penanganan dalam penelitian laboratorium (Gileta *et al.*, 2022).



Gambar 3. Tikus *Sprague Dawley* (Rosidah *et al.*, 2020).

2.3 Tikus *Long-Evans*. Tikus *Long-Evans* merupakan salah satu strain tikus yang pertama kali dikembangkan di Long-Evans Institute for Medical Research pada tahun 1915. Strain ini dikembangkan oleh Joseph Long melalui persilangan antara tikus *Wistar* murni dan tikus jantan liar asal Norwegia yang diperoleh dari Berkeley, California. Keturunan hasil persilangan tersebut selanjutnya dikawin-silangkan secara sedarah di Netherlands Cancer Institute sebelum akhirnya dipindahkan ke National Institutes of Health (NIH) di Bethesda, Maryland, pada tahun 1973. Tikus *Long-Evans* banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian biomedis, khususnya sebagai model hewan untuk mempelajari beragam penyakit dan gangguan pada manusia. Beberapa bidang penelitian yang sering menggunakan strain ini meliputi studi penyakit kardiovaskular, diabetes, obesitas, kanker, serta penyakit neurodegeneratif (Otto, 2025).



Gambar 4. Tikus *Long-Evans* (Bi dan Moran 2016).

3. Jenis kelamin

Pemilihan jenis hewan dalam pengujian toksisitas harus mempertimbangkan beberapa faktor penting, antara lain tingkat sensitivitas terhadap zat uji, kesesuaian metabolisme dengan manusia, laju pertumbuhan, serta kemudahan dalam penanganan selama pelaksanaan uji. Hewan uji yang digunakan harus berada dalam kondisi sehat, memiliki asal-usul yang jelas, serta diketahui secara spesifik jenis, galur, jenis kelamin, usia, dan berat badannya. Hewan uji yang dipilih

adalah individu muda yang telah mencapai fase dewasa, dengan variasi bobot tubuh tidak melebihi 20%. Uji toksisitas subkronik, hewan yang lazim digunakan adalah tikus jantan dan betina (BPOM, 2014).

4. Cara memegang tikus

Teknik penanganan hewan uji jenis rodensia berbeda antara mencit dan tikus, terutama pada saat pemberian sediaan uji secara oral. Tikus umumnya diangkat dari kandang dengan memegang bagian pangkal ekornya. Tikus akan mencengkeram alas kawat kandang, kemudian hewan dipegang menggunakan tangan kiri dari arah belakang tubuh, tepat di sekitar kepala atau bagian punggung. Pegangan dilakukan dengan menjepit bagian tengkuk tikus di antara jari telunjuk dan jari tengah, sementara ibu jari, jari manis, dan kelingking digunakan untuk menopang bagian tubuh lainnya. Teknik memegang tikus yang tidak tepat dapat menyebabkan sediaan uji yang diberikan masuk ke saluran pernapasan (paru-paru) alih-alih ke lambung, sehingga berpotensi menimbulkan kematian. Kesalahan dalam penanganan juga dapat meningkatkan risiko kecelakaan kerja, seperti gigitan dari hewan uji (BPOM, 2014).

5. Pengambilan darah tikus

Pengambilan sampel darah dilakukan secara hati-hati melalui sinus orbitalis menggunakan pipa kapiler dengan volume sekitar 3–5 mL, dengan ketentuan bahwa satu pipa kapiler digunakan hanya untuk satu ekor hewan uji. Sampel darah yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi dan dibiarkan selama ± 10 menit pada suhu ruang. Darah disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm hingga terbentuk serum. Serum yang dihasilkan dipisahkan dan disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk analisis parameter biokimia klinis pada hewan uji (BPOM, 2014).

E. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dibedakan menjadi dua kategori utama, yaitu toksisitas umum yang meliputi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik, serta toksisitas khusus yang mencakup uji teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik. Pelaksanaan uji toksisitas perlu disesuaikan dengan pola penggunaan obat tradisional, baik yang digunakan dalam jangka pendek maupun jangka panjang. Uji toksisitas bertujuan untuk mengidentifikasi efek toksik suatu zat terhadap sistem biologis serta memperoleh hubungan dosis–respon yang khas dari sediaan uji. Data yang dihasilkan

dari pengujian ini digunakan untuk menilai tingkat potensi bahaya sediaan uji apabila terjadi paparan pada manusia, sehingga dapat ditetapkan dosis penggunaan yang aman bagi manusia (BPOM, 2014).

1. Uji toksisitas akut oral

Uji toksisitas akut merupakan pengujian yang dilakukan untuk menentukan nilai Lethal Dose 50 (LD_{50}) serta mengidentifikasi organ sasaran yang berpotensi mengalami kerusakan akibat paparan suatu zat. LD_{50} didefinisikan sebagai dosis tunggal dari suatu bahan yang secara statistik diperkirakan dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. Nilai LD_{50} digunakan sebagai dasar dalam mengklasifikasikan bahan kimia berdasarkan tingkat toksisitas relatifnya. Berdasarkan besarnya nilai LD_{50} , suatu zat dapat dikategorikan ke dalam kelompok super toksik, sangat toksik, toksik, cukup toksik, sedikit toksik, hingga praktis tidak toksik.

Pengujian toksisitas akut melalui pemberian secara oral bertujuan untuk mengidentifikasi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran yang rentan terhadap paparan, serta menilai tingkat kepekaan spesies uji. Uji ini digunakan untuk memperoleh informasi mengenai potensi bahaya akibat paparan akut, sebagai data awal dalam penetapan kisaran dosis, perancangan uji toksisitas lanjutan, serta penentuan nilai LD_{50} suatu bahan atau sediaan. Hasil pengujian juga menjadi dasar dalam penggolongan bahan berdasarkan tingkat toksisitas dan penetapan pelabelan yang sesuai. (BPOM, 2014).

2. Uji toksisitas sub kronik

Uji toksisitas subkronik bertujuan untuk mengevaluasi serta mengklasifikasikan berbagai efek toksik yang ditimbulkan oleh suatu senyawa apabila diberikan secara berulang pada hewan uji. Pemberian sediaan uji dilakukan satu kali sehari dalam jangka waktu tertentu, umumnya selama tiga hingga empat bulan. Pengujian ini dirancang untuk mendeteksi efek toksik yang muncul akibat pemberian dosis berulang secara oral selama sebagian umur hewan uji, namun tidak melebihi 10% dari total umur hewan tersebut. Prinsip uji toksisitas subkronik oral adalah pemberian sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis yang berbeda kepada beberapa kelompok hewan uji, dengan satu dosis tetap untuk setiap kelompok, selama periode 28 atau 90 hari. Kelompok satelit yang diamati selama sekitar 14 hari setelah penghentian pemberian sediaan uji guna menilai adanya efek toksik tertunda maupun efek yang bersifat *reversible* (BPOM, 2014).

Uji toksisitas subkronik oral jangka pendek selama 28 hari dilakukan untuk mengevaluasi sediaan uji yang secara klinis digunakan dalam bentuk pemberian sekali pakai atau berulang dalam kurun waktu kurang dari satu minggu. Pemberian sediaan uji dilakukan setiap hari, atau minimal 5 hari dalam seminggu, selama periode 28 hari (BPOM, 2014).

Dosis uji diberikan minimal pada tiga kelompok dengan tingkat dosis berbeda, ditambah satu kelompok kontrol dan dua kelompok satelit (yaitu kelompok dosis tinggi dan kelompok kontrol) khusus untuk uji subkronik 28 hari. Dosis tertinggi ditetapkan sedemikian rupa sehingga mampu menimbulkan efek toksik tanpa menyebabkan kematian, dosis menengah menimbulkan gejala toksik ringan, sedangkan dosis rendah tidak menimbulkan efek toksik. Batas dosis maksimum yang digunakan dalam uji toksisitas subkronik adalah 1000 mg/kg berat badan (BPOM, 2014).

3. Uji toksistas kronik

Uji toksisitas kronik dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul akibat pemberian sediaan uji secara berulang hingga mendekati seluruh umur hewan uji. Prinsip pelaksanaannya mirip dengan uji toksisitas subkronik, namun durasi pemberian sediaan uji lebih panjang, yaitu tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan utama uji toksisitas kronik oral adalah untuk mengevaluasi profil efek toksik dari pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu panjang, serta untuk menentukan tingkat dosis yang aman dan tidak menimbulkan efek toksik (BPOM, 2014).

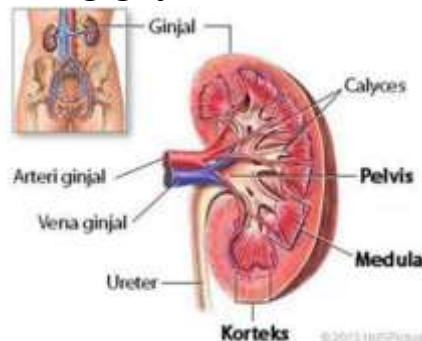
F. Ginjal

1. Pengertian dan fungsi ginjal

Ginjal merupakan organ yang sangat rentan terhadap paparan zat toksik karena perannya yang penting dalam proses ekskresi, yaitu membuang sisa-sisa metabolisme dari dalam tubuh. Fungsi utama ginjal adalah menyaring darah untuk mengeluarkan kelebihan zat dalam bentuk urin. Ginjal juga berperan dalam proses reabsorpsi air secara selektif guna mempertahankan keseimbangan cairan, mengatur keseimbangan asam-basa (pH), serta menjaga kestabilan kadar elektrolit dalam tubuh. Ginjal memiliki dua peran utama, yakni fungsi ekskretori dan non-eksretori. Fungsi ekskretori ginjal meliputi pengaturan osmolaritas plasma, pemeliharaan keseimbangan asam-basa dalam cairan tubuh,

pengaturan kadar garam dan berbagai zat terlarut lainnya, serta eliminasi produk sisa metabolisme seperti ureum, kreatinin, dan amonia, sedangkan fungsi non-eksretori ginjal mencakup produksi renin yang berperan dalam pengendalian tekanan darah, sekresi hormon eritropoietin yang berfungsi merangsang pembentukan sel darah merah di sumsum tulang, sintesis prostaglandin, aktivasi vitamin D, serta proses degradasi insulin (Alwiyah *et al.*, 2024).

2. Anatomi dan fisiologi ginjal



Gambar 5. Anatomi ginjal (Parwati, 2019).

Ginjal merupakan sepasang organ yang berada di rongga peritoneum dan memiliki peran vital dalam menghasilkan berbagai hormon serta enzim, seperti renin yang berfungsi mengatur tekanan darah dan eritropoietin yang berperan dalam stimulasi pembentukan sel darah merah di sumsum tulang serta berkontribusi terhadap kesehatan tulang. Secara anatomi, ginjal berbentuk menyerupai kacang dan memiliki bagian yang disebut hilus renalis sebagai tempat masuknya pembuluh darah serta jalur keluarnya ureter. Orang dewasa mempunyai ginjal umumnya berukuran sekitar 12–13 cm panjangnya, dengan lebar ± 6 cm dan berat antara 120–150 gram. Ginjal berperan penting dalam menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit tubuh, termasuk natrium, kalium, dan fosfat, dengan bantuan enzim kalsitriol (Alwiyah *et al.*, 2024).

Struktur ginjal terdiri atas dua bagian utama, yaitu korteks yang berada di bagian luar dengan warna coklat muda dan medula yang terletak di bagian dalam dengan warna lebih gelap. Korteks terdapat jutaan unit fungsional yang disebut nefron, yang berperan dalam proses filtrasi plasma darah untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme seperti urea, kreatinin, dan asam urat, serta ion-ion berlebih seperti natrium, kalium, klorida, dan hidrogen. Medula ginjal tersusun atas struktur berbentuk kerucut yang dikenal sebagai piramida ginjal, dengan bagian

dasar menghadap ke korteks dan puncaknya (apeks) mengarah ke pusat ginjal. Piramida ini berfungsi menampung hasil filtrasi yang selanjutnya dialirkan melalui tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Ray dan Reddy, 2023).

Pembentukan urin di dalam nefron berlangsung melalui tiga tahapan utama, yaitu filtrasi, reabsorpsi, dan ekskresi. Proses ini diawali dengan penyaringan cairan dari kapiler glomerulus ke dalam kapsul Bowman yang menghasilkan filtrat dengan kandungan protein yang sangat minimal. Komponen plasma, selain protein, dapat tersaring secara bebas sehingga konsentrasi zat dalam filtrat hampir setara dengan yang terdapat dalam plasma, selanjutnya zat-zat yang telah difiltrasi akan mengalami proses reabsorpsi, baik secara sebagian maupun keseluruhan, atau dikeluarkan langsung melalui mekanisme ekskresi (Sari *et al.*, 2023).

3. Metabolisme ginjal

3.1 Metabolisme ureum. Ureum dalam darah atau *Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan produk akhir dari metabolisme protein, di mana protein diuraikan menjadi asam amino. Asam amino tersebut selanjutnya dimanfaatkan sebagai sumber energi atau disimpan oleh tubuh, terutama di hati dalam bentuk lemak. Proses deaminasi menghasilkan gugus amino dari asam amino dilepaskan sehingga menghasilkan amonia, yang kemudian dikonversi menjadi urea. Urea terbentuk dari dua molekul amonia dan satu molekul karbon dioksida, selanjutnya dilepaskan ke dalam cairan tubuh dan diekskresikan melalui ginjal. Kadar BUN mencerminkan keseimbangan antara jumlah urea yang dihasilkan dari pemecahan protein dan kemampuan ginjal dalam mengeluarkannya. Penurunan fungsi filtrasi glomerulus dapat menyebabkan peningkatan kadar BUN dalam darah, yang mengindikasikan adanya gangguan fungsi ginjal. Hewan percobaan seperti tikus, kadar BUN dianggap tinggi apabila melebihi rentang normal 15–21 mg/dL. Peningkatan nilai BUN dapat dipengaruhi oleh berbagai kondisi, antara lain kerusakan jaringan akibat demam, cedera, infeksi, toksikemia, dehidrasi, serta azotemia. Azotemia merupakan kondisi yang ditandai dengan menurunnya laju filtrasi glomerulus (GFR), yang juga dapat disebabkan oleh kekurangan cairan tubuh atau dehidrasi (Rahmatudina *et al.*, 2023).

3.2 Metabolisme kreatinin. Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatin terutama terdapat

pada otot rangka, di mana senyawa ini berikatan secara reversibel dengan fosfat membentuk fosfokreatin yang berperan sebagai cadangan energi. Sebagian kecil kreatin mengalami konversi secara irreversibel menjadi kreatinin, suatu senyawa yang tidak memiliki fungsi fisiologis dan beredar dalam aliran darah sebelum diekskresikan oleh ginjal. Pemeriksaan kadar kreatinin dalam darah digunakan sebagai indikator fungsi ginjal, karena peningkatan kadar kreatinin berkaitan dengan penurunan kemampuan ginjal dalam melakukan filtrasi. Kadar kreatinin normal pada hewan uji berada pada kisaran 0,2–0,8 mg/dL (Rahmatudina *et al.*, 2023).

4. Gangguan pada ginjal

Kerusakan ginjal dapat ditandai oleh penumpukan sel polimorfonuklear, terjadinya kerusakan inti sel (kariolisis) pada sel parenkim maupun endotel, penyempitan ruang antara kapsula Bowman dan medula ginjal, serta perubahan ukuran glomerulus berupa atrofi atau hipertrofi. Penyempitan lumen ductus kontortus dapat mengganggu proses pembentukan urin akibat menurunnya kemampuan filtrasi glomerulus. Kondisi ini mengakibatkan akumulasi zat sisa metabolisme dalam darah, terutama limbah nitrogen seperti urea dan kreatinin, serta dapat memicu peningkatan tekanan darah. Kerusakan ginjal juga dapat disebabkan oleh deposisi kompleks imun, trombosis, emboli, maupun infeksi virus pada glomerulus, yang selanjutnya menimbulkan perubahan morfologis berupa nekrosis dan proliferasi sel membran. Gangguan fungsi glomerulus ditandai dengan penurunan aliran darah serta kebocoran protein dan makromolekul lain dalam jumlah besar ke dalam filtrat glomerulus. Kerusakan tersebut dapat berkembang menjadi atrofi dan fibrosis glomerulus, yang pada akhirnya menyebabkan atrofi sekunder pada tubulus ginjal (Alyousef *et al.*, 2020).

G. Hispatologi

Hispatologi merupakan salah satu cabang ilmu biologi anatomi. Istilah histologi berasal dari bahasa Yunani, yaitu *histos* yang berarti jaringan dan *logos* yang berarti ilmu. Histologi mempelajari struktur jaringan pada hewan yang diamati menggunakan mikroskop melalui irisan jaringan yang sangat tipis, serta mengkaji hubungan antara organisasi sel dan jaringan dengan fungsi-fungsinya. Jaringan didefinisikan sebagai kumpulan sel yang tersusun dalam suatu kerangka atau matriks sehingga membentuk satu kesatuan organisasi yang

berperan dalam mempertahankan keutuhan serta kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan di sekitarnya (Ransun *et al.*, 2024).

H. Landasan Teori

Uji toksisitas merupakan serangkaian pengujian yang dilakukan untuk mengevaluasi potensi efek berbahaya dari suatu zat. Berdasarkan lama waktu pemberian secara *in vivo*, uji toksisitas diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis. Uji toksisitas subkronis bertujuan untuk mengidentifikasi efek toksik serta hubungan antara dosis dan tingkat toksisitas pada organ-organ vital makhluk hidup setelah paparan berulang selama periode 28 atau 90 hari (BPOM, 2014).

Uji toksisitas subkronik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengidentifikasi efek toksik yang muncul akibat pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis berulang pada hewan percobaan selama sebagian masa hidupnya, namun tidak melebihi 10% dari total umur hewan tersebut. Uji toksisitas subkronik oral dengan durasi 28 hari umumnya digunakan untuk mengevaluasi keamanan sediaan uji yang secara klinis digunakan satu kali atau berulang dalam jangka waktu kurang dari satu minggu (BPOM, 2014).

Kunyit hitam merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Zingiberaceae dengan nama ilmiah (*Curcuma caesia* Roxb.). Tanaman ini diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain kurkuminoid, minyak atsiri, flavonoid, senyawa fenolik, serta asam amino dalam jumlah yang relatif tinggi. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa kunyit hitam memiliki aktivitas farmakologis, seperti sifat antioksidan, antibakteri, antimutagenik, sitotoksik, serta potensi dalam menghambat aktivitas *Nuclear factor kappa B* (NF- κ B) (Paudel *et al.*, 2024).

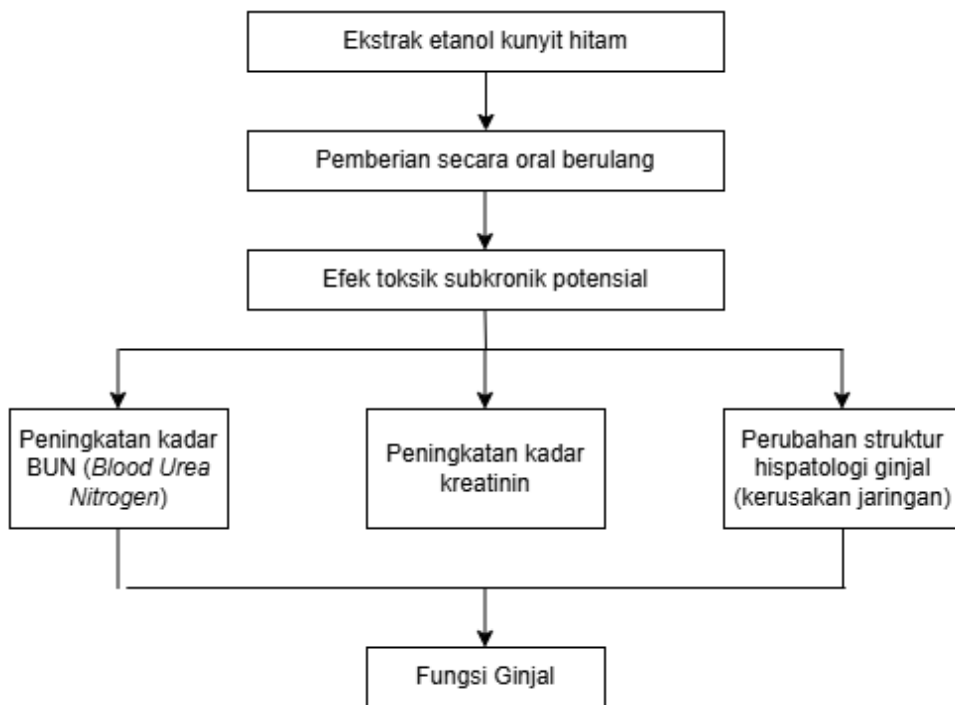
Berdasarkan penelitian sebelumnya, uji toksisitas akut menunjukkan bahwa pemberian MECC (*Methanolic Extract of Curcuma caesia*) hingga dosis 2000 mg/kg, bobot badan secara oral tidak menimbulkan kematian maupun efek toksisitas yang signifikan pada hewan uji. Tidak ditemukan perubahan perilaku abnormal, gangguan fisiologis, maupun gejala klinis yang mengindikasikan efek toksik akut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb.) memiliki profil keamanan yang baik dan tidak toksik pada dosis tinggi (Majumder *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, hasil pengujian toksisitas akut ekstrak kunyit putih menunjukkan bahwa pemberian dosis mulai dari 250 mg/kgBB hingga 2000 mg/kgBB pada tikus tidak menimbulkan tanda-tanda toksisitas maupun kematian. Nilai LD₅₀ tidak dapat ditentukan secara tepat dan akurat. Penetapan LD₅₀ dilakukan berdasarkan dosis tertinggi yang diuji, sehingga nilai tersebut dinyatakan sebagai LD₅₀ semu dan tidak merepresentasikan nilai LD₅₀ aktual (Gani *et al.*, 2021).

Prinsip pelaksanaan uji toksisitas subkronik dilakukan melalui pemberian ekstrak etanol kunyit hitam secara oral kepada tikus sehat yang dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan, masing-masing terdiri atas 5 ekor tikus betina dan 5 ekor tikus jantan. Salah satu kelompok merupakan kelompok satelit yang menerima dosis tertinggi selama 29 hari, kemudian dilanjutkan dengan periode tanpa perlakuan selama 14 hari guna mengevaluasi kemungkinan munculnya efek toksik yang tertunda. Dosis tertinggi ditetapkan untuk menimbulkan efek toksik tanpa menyebabkan kematian atau gejala toksisitas berat, sedangkan dosis menengah diharapkan menimbulkan efek toksik ringan dan dosis terendah tidak menimbulkan tanda toksisitas. Pemberian dosis 1000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya efek toksik, maka peningkatan dosis tidak diperlukan, meskipun dosis ekuivalen yang direncanakan untuk penggunaan pada manusia belum tercapai (BPOM, 2014).

Ginjal memiliki peranan sentral dalam proses ekskresi obat, karena berfungsi sebagai organ utama dalam pengeluaran metabolit dan senyawa asing dari dalam tubuh. Ginjal menjadi salah satu organ yang paling rentan mengalami efek toksik akibat paparan zat-zat tersebut (Temarwut *et al.*, 2020). Evaluasi fungsi ginjal umumnya dilakukan melalui pemeriksaan parameter biokimia, seperti kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin, guna mendeteksi adanya gangguan fungsi ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kunyit hitam terhadap perubahan kadar BUN dan kreatinin, serta menilai gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih.

I. Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka konsep.

J. Hipotesis

Pertama, pemberian ekstrak etanol kunyit hitam tidak menimbulkan efek toksik ditinjau dari perubahan biokimia ginjal (*Blood Urea Nitrogen* dan kreatinin) pada uji toksisitas subkronik menggunakan tikus putih.

Kedua, pemberian ekstrak etanol kunyit hitam tidak menimbulkan efek toksik ditinjau dari perubahan terhadap hispatologi ginjal pada uji toksisitas subkronik menggunakan tikus putih.