

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Ikan

Minyak ikan dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu minyak hati ikan dan minyak badan ikan. Minyak hati ikan (*Fish Liver Oil*) berasal dari hati ikan hiu, ikan pari atau kadang hati ikan tuna. Meskipun demikian tidak semua hati ikan mengandung minyak yang bervitamin A tinggi. Jadi harus diketahui jenis-jenis cucut yang mempunyai minyak dan vitamin A tinggi. Disamping jenis ikan cucut yang biasa tertangkap dan diambil hatinya serta diekstrak minyaknya, terdapat jenis ikan cucut yang hidup di perairan lebih dalam yang disebut cucut botol. Minyak ikan cucut botol dimanfaatkan untuk bahan baku kosmetika (Moeljanto, 1992).

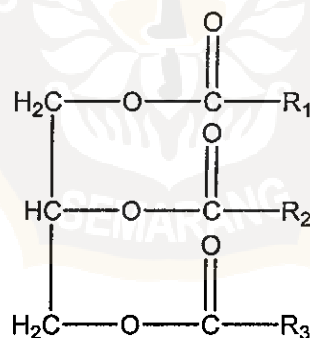
Minyak badan ikan (*Body Oil*) diperoleh dari lemak ikan yang terdapat di dalam daging ikan atau yang disimpan dalam rongga perut ikan. Jenis ikan yang diambil lemaknya dari dalam hatinya tidak akan banyak mengandung minyak. Ekstraksi dapat dilakukan dengan pengukusan utuh melalui pemanasan atau proses silale. Setelah minyak ikan dipisahkan dari air dan dimurnikan, satu kelompok omega 3 dipisahkan dari kelompok asam lemak lainnya (Moeljanto, 1992).

Komponen utama penyusun minyak ikan adalah trigliserida yang mencapai lebih dari 90% dari total minyak. Komponen yang lainnya terdiri dari mono atau digliserida, asam lemak bebas, fosfolipid dan sejumlah senyawa kimia yang biasa disebut fraksi tak tersabunkan (Young, 1986).

2.2 Trigliserida

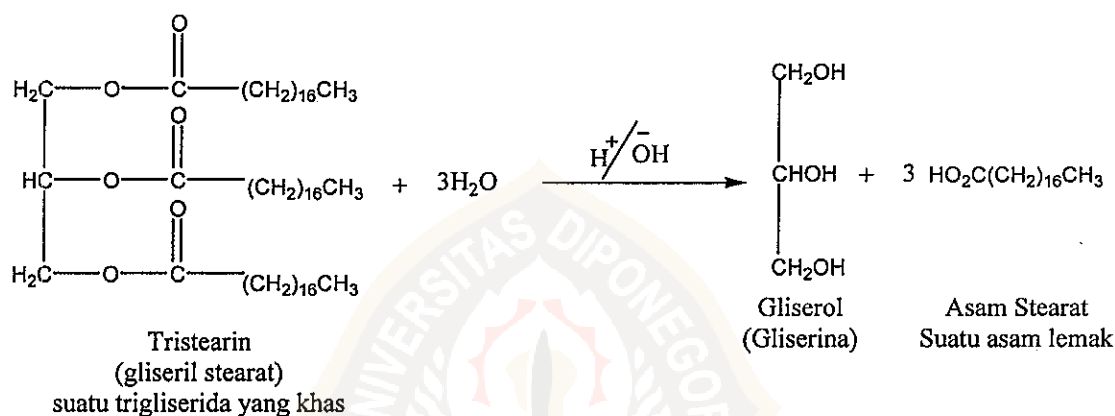
Lemak dan minyak adalah trigliserida atau triasilgliserol yang berarti triester dari gliserol. Perbedaan antara suatu lemak dan suatu minyak bersifat sebarang; pada temperatur kamar lemak berbentuk padat dan minyak bersifat cair. Sebagian besar gliserida pada hewan adalah berupa lemak sedangkan gliserida pada tumbuhan cenderung berupa minyak. Oleh karena itu biasa terdengar ungkapan lemak hewani (lemak babi, lemak sapi) dan minyak nabati (minyak jagung, minyak bunga matahari) (Fessenden, 1982).

Poedjadi (1994) mengatakan bahwa lemak hewan pada umumnya berupa zat padat pada suhu ruangan, sedangkan lemak yang berasal dari tumbuhan berupa zat cair. Lemak yang mempunyai titik lebur tinggi mengandung asam lemak jenuh, sedangkan lemak cair atau yang biasa disebut minyak, mengandung asam lemak tidak jenuh. Rumus umum lemak adalah sebagai berikut;



R adalah rantai karbon yang jenuh atau yang tidak jenuh yang terdiri atas 4 sampai 24 buah atom karbon. Rantai karbon yang jenuh ialah rantai karbon yang tidak mengandung ikatan rangkap, sedangkan yang mengandung ikatan rangkap disebut rantai karbon tidak jenuh.

Hidrolisis trigliserida dengan suatu basa dapat menghasilkan asam lemak dan gliserol. Menurut Fessenden (1982) asam karboksilat yang diperoleh dari hidrolisis suatu lemak atau minyak, yang biasa disebut asam lemak, umumnya mempunyai rantai hidrokarbon panjang dan tak bercabang. Lemak dan minyak seringkali diberi nama sebagai derivat asam-asam lemak ini. Misalnya, tristearat dari gliserol diberi nama tristearin, dan tripalmitat dari gliserol disebut tripalmitin. Reaksi hidrolisis dapat digambarkan sebagai berikut:



2.3 Struktur DHA dan EPA

Dalam konteks DHA dan EPA, kedua molekul ini terdapat di dalam minyak ikan sebagai trigliserida yang merupakan prekursor fosfolipid penyusun mayoritas membran sel organisme, terutama otak, retina dan sperma. Minyak ikan baik yang berasal dari ikan segar maupun dari suplemen makanan, karena adanya senyawa DHA dan EPA ini diketahui dapat membantu mencegah penyakit jantung koroner, stroke, *nephropathy* (gagal ginjal), penyakit *Crohn's*, kanker payudara, kanker prostat, kanker usus besar, darah tinggi serta encok atau rematik juga efektif mencegah kematian mendadak karena serangan jantung (Connor, 2000).

2.3.1 Struktur DHA

DHA atau *Docosahexaenoic Acid* merupakan asam lemak tak jenuh ganda yang mempunyai ikatan rangkap pada atom C nomor 4, 7, 10, 13, 16, 19 dari gugus karboksilat. DHA termasuk dalam asam lemak omega-3 yang terdapat pada minyak dari ikan laut dan beberapa fosfolipid. DHA menjadi komponen utama pada membran retina dan otak, disintesis di hati dari asam α linolenik. DHA berpengaruh pada perkembangan otak dan perilaku. Budavary (1999) memberikan beberapa data mengenai karakteristik DHA dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1: Karakteristik DHA

Subyek	Keterangan
Nama tambahan	<i>cervonic acid, doconexent, DHA</i>
Rumus molekul	$C_{22}H_{32}O_2$
Berat molekul	328,49 g/mol
Komposisi	C 80,44%, H 9,82%, O 9,74%
Warna	jernih agak kekuningan
Titik lebur	-44,7 °C sampai -44,5 °C
Indeks Refraksi	n_D^{26} 1,5017
Manfaat	Sebagai nutrisi tambahan

DHA yang terkandung dalam minyak ikan mencegah perkembangan *atherosclerosis*. Kekurangan DHA selama masa kehamilan dapat menyebabkan terganggunya penglihatan dan kemungkinan penurunan kecerdasan otak pada bayi yang akan lahir (Connor, 2000).

2.3.2 Struktur EPA

EPA atau *Eicosapentaenoic acid* merupakan asam lemak tak jenuh ganda yang mempunyai lima ikatan rangkap yang semuanya cis terdapat pada atom C nomor 5, 8, 11, 14, 17 dari gugus karboksilat. EPA merupakan asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat pada makanan dari laut. Budavary (1999) memberikan beberapa data mengenai karakteristik EPA dalam tabel 2.2.

Tabel 2.2: Karakteristik EPA

Subyek	Keterangan
Nama tambahan	Asam lemak 20:5 omega -3
Rumus molekul	$C_{20}H_{30}O_2$
Berat molekul	302,46 g/mol
Komposisi	C 79,42%, H 10,00%, O 10,58%
Warna	Jernih tidak berwarna
Titik lebur	-44,7 °C sampai -44,5 °C
Indeks Refraksi	n_D^{20} 1,49865
Turunan	Etil ester

EPA berperan sebagai prekursor untuk prostaglandin-3 dan tromboksan-3 (Budavary, 1999). EPA yang terkandung dalam minyak ikan mencegah perkembangan *atherosclerosis*. EPA terbukti mampu mencegah penggumpalan darah. EPA berbeda dengan *Arachidonic Acid* pada tambahan ikatan ganda antara C nomor 3 dan C nomor 4 dari ujung metil (Connor, 2000).

2.4 Ekstraksi Sokshlet

Minyak ikan umumnya bersifat kurang polar sehingga untuk mengekstraknya harus menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang dapat digunakan antara lain eter, aseton, heksana, dan pelarut organik yang lain.

Metode ekstraksi sokshlet hanya menggunakan satu macam pelarut dan pelarut ini setelah diuapkan dan didinginkan masih dapat digunakan kembali. Pada metode ini terjadi ekstraksi secara kontinyu sehingga minyak ikan yang terekstrak lebih maksimal. Menurut Williamson (1987) diantara sekian banyak metode pemisahan yang telah dikembangkan seperti kromatografi dan destilasi, metode ekstraksi terutama ekstraksi kontinyu dan ekstraksi cair-cair lebih dipilih karena metode tersebut relatif murah dan mempunyai teknik pengerjaan yang sederhana. Pada umumnya ekstraksi kontinyu menggunakan sokshlet.

Menurut Sudjadi (1992) ekstraksi sokshlet merupakan salah satu metode pemisahan cair-padat yang sering dilakukan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus memiliki sifat dapat melarutkan senyawa yang akan diekstraksi, memiliki titik didih rendah sehingga mudah dipisahkan, tidak bereaksi dengan pelarut lain, tidak mudah terbakar atau beracun, murah dan tidak larut dalam air. Minyak ikan termasuk lipid dan dapat diekstraksi dari jaringan ikan dengan menggunakan pelarut n-heksana menggunakan alat sokshlet.

Dalam ekstraksi sokshlet padatan dibungkus dalam kertas saring dan ditempatkan di dalam sokshlet. Prinsip dari alat sokshlet yaitu: uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak, cairan turun kembali melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan

penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Karena adanya sifon maka setelah cairan mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan kembali ke labu alas bulat (Roystone, 1995). Karena sampel yang terekstrak kurang volatil daripada pelarut yang digunakan maka sampel akan berangsur-angsur tertampung pada labu alas bulat sedangkan pelarut akan teruapkan kembali dan terus bersirkulasi (Wilcox, 1995). Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia tetapi melalui pipa samping (Roystone, 1995). Umumnya proses ekstraksi dihentikan saat cairan pada tabung tengah tidak lagi berwarna, namun terkadang penghentian proses ekstraksi tergantung pada sifat senyawa yang diekstrak dan pelarut.

Minyak ikan yang diperoleh umumnya mengandung berbagai jenis senyawa kimia dengan jumlah tertentu, seperti trigliserida mencapai 90% dari total lipid, berbagai asam lemak, fosfolipid seperti lesitin dan sefalin, dan senyawa yang tidak tersabunkan seperti sterol, gliserol, gliseril eter, hidrokarbon dan alkohol lemak (Young, 1986). Kandungan kimia minyak ikan ini sangat menentukan sifat fisik dan kimia minyak ikan.

2.5 Kromatografi Gas-Spektrometri Masa (GC-MS)

Komposisi minyak ikan dapat diidentifikasi berdasarkan sifat fisika, sifat kimia, dan ciri spektranya (Mc Lafferty, 1980). Penentuan struktur senyawa kimia dapat dibantu dengan menggunakan gabungan berbagai instrumen. Sistem instrumen yang menggabungkan alat kromatografi gas dan spektrometer masa (GC-MS) telah terbukti sangat berguna untuk menganalisis campuran-campuran kompleks, seperti

dari cairan biologi manusia, sari makanan, pengotor, proses-proses industri dan contoh untuk telaah kriminalitas. Penggabungannya dengan komputer memungkinkan spektra masa hasil keluaran GC yang berguna dapat diperoleh dan disimpan dengan kecepatan satu per detik.

Penggabungan tersebut membuat komponen-komponen yang terelusi langsung masuk ke dalam sumber ion (McLarry, 1980). Dengan pemantauan ion ganda, pengukuran dua puncak atau lebih berturut-turut, dideteksi dengan spesifikasi dan sensitifitas tinggi, keduanya dapat diperoleh terhadap senyawa-senyawa sebelumnya. Kecuali untuk kolom kapiler, biasanya perlu mengurangi tekanan cuplikan dengan menggunakan pencabang atau pemisah gas sebelum cuplikan dimasukkan ke dalam sumber ion.

Dalam kromatografi gas fase Bergeraknya adalah gas dan zat terlarut terpisah sebagai uap. Pemisahan sampel tercapai dengan partisi sampel antara fase gas bergerak dan fase diam berupa cairan dengan titik didih tinggi (tidak mudah menguap) yang terikat pada zat padat penunjangnya. Sedangkan dalam kromatografi padat-gas digunakan suatu zat padat sebagai penyerap. Pemakaian zat cair sebagai fasa diam ternyata lebih meluas dibandingkan zat padat sehingga teknik ini kadang kala dikenal sebagai kromatografi gas-cair. Instrumen pada kromatografi gas terdiri dari regulator tekanan, sistim injeksi sampel, kolom penunjang fasa diam, fase diam, detektor dan pencatat signal rekorder (Khopkar, 1990).

Senyawa yang tidak volatil dan tidak stabil pada suhu tinggi tidak dapat dianalisis dengan kromatografi gas (Anderson, 1991). Tetapi senyawa tersebut dapat dibuat lebih volatil dan diturunkan menjadi senyawa yang stabil pada suhu tinggi

dengan penambahan reagen tertentu. Asam karboksilat mempunyai viskositas rendah dan sebaiknya ditransformasi ke bentuk senyawa yang lebih volatil (Khopkar, 1990).

Ada beberapa kelebihan kromatografi gas, diantaranya kita dapat menggunakan kolom lebih panjang untuk menghasilkan efisiensi pemisahan yang tinggi. Gas dan uap mempunyai viskositas yang rendah, demikian juga kesetimbangan partisi antara gas dan cairan berlangsung cepat, sehingga analisis relatif cepat dan sensitivitas tinggi. Fase gas dibandingkan sebagian besar fase cair tidak bersifat reaktif terhadap fase diam dan zat-zat terlarut. Kelemahan teknik ini adalah terbatas untuk zat yang mudah menguap (Khopkar, 1990).

Spektrometer masa adalah suatu instrumen yang dapat menyeleksi molekul-molekul gas bermuatan berdasarkan masa atau beratnya. Umumnya spektrum masa diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sampel menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan masa terhadap muatan (m/e). Proses ionisasi menghasilkan partikel-partikel bermuatan positif, dimana partikel yang terdistribusi adalah spesifik terhadap senyawa induk. Selain untuk penentuan struktur molekul, spektrum masa dipakai untuk penentuan analisis kualitatif. Biasanya sampel ditembak dengan berkas elektron yang menghasilkan suatu ion molekul atau fragmen ionik. Fragmen-fragmen bermuatan ini dapat dipisahkan berdasarkan masanya.

Menurut Creswell (1982) pada spektrometer masa, ion-ion positif akan terlontar oleh lempeng pemercepat dan dibelokkan berbeda-beda oleh medan magnet tergantung pada perbandingan masa/muatan. Ion-ion tersebut akan menumbuk lempeng pengumpul dan menerima elektron yang menetralkan muatan positifnya.

Suatu aliran arus terjadi pada rangkaian pengumpul diperkuat, dan direkam sebagai fungsi perbandingan masa /muatan.

Spektrum masa minimal terdiri dari tempat menginjeksikan sampel, ruangan pengion, pengumpul ion, penguat sinyal dan pencatat. Prinsip dari spektrometri masa adalah penembakan molekul organik dengan elektron berenergi tinggi (Fessenden, 1984 dan McLafferty, 1980). Ion hasil penembakan ini tidak stabil dan pecah menjadi fragmen-fragmen kecil berbentuk radikal bebas maupun ion-ion lain, seperti ion positif, ion negatif dan netral.

Spektrum masa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya. Bentuk spektrumnya tergantung dari sifat molekul, potensial ionisasi, mudah tidaknya sampel itu menguap dan konstruksi alat. Spektroskopi masa memungkinkan kita untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang tidak diketahui, dengan cara membandingkan dengan terhadap senyawa yang telah dikenal. Jadi spektrum masa dipakai untuk menentukan berat molekul atau rumus molekul atau mengidentifikasi senyawa dari pola fragmentasinya (Khopkar, 1990).

2.6 Karakterisasi Minyak Ikan

Identifikasi kandungan asam lemak minyak ikan tersebut dimaksudkan untuk menentukan jenis dan jumlah (kualitatif dan kuantitatif) asam lemak penyusun minyak ikan layang. Dari data asam lemak yang didapatkan diharapkan terdapat senyawa DHA dan EPA. Selanjutnya karakterisasi minyak ini dimaksudkan untuk memberikan data pendukung dalam penanganan minyak ikan selanjutnya.

Sifat fisika minyak ikan sangat mirip dengan minyak pada umumnya. Wujudnya berupa cairan dengan kandungan trigliserida tertentu, pada titik lebur intermediet minyak memadat sebagian pada suhu 20 °C (Young, 1986).

Pada penelitian ini sifat fisika yang akan dikarakterisasi meliputi; viskivitas, densitas, indeks bias, serta titik lebur. Young (1986) memberikan gambaran mengenai sifat fisik minyak ikan secara umum dalam tabel 2.3.

Tabel 2.3: Sifat fisik minyak ikan secara umum

Karakteristik	Harga
Panas Spesifik	0,50 – 0,55
Panas Pembentukan, kal/g	ca 54
Nilai kalori, kal/g	ca 9500
Titik lebur, °C	10 – 15
Titik nyala °C	
sebagai trigliserida	ca 360
sebagai asam lemak	ca 220
Titik didih, °C	>250
Berat spesifik pada 15 °C	ca 0,92
30 °C	ca 0,91
45 °C	ca 0,90
Viskositas pada 20 °C	60 - 90
50 °C	20 – 30
90 °C	ca 10

ca= *calculated*

2.6.1 Viskositas

Aliran cairan dikelompokkan ke dalam dua tipe. Yang pertama adalah aliran laminer atau aliran kental yang secara umum menggambarkan laju aliran kecil

melalui sebuah pipa dengan garis tengah kecil. Aliran yang lain adalah aliran turbulen yang menggambarkan laju aliran yang besar melalui pipa dengan diameter yang lebih besar (Dogra, 1990).

Viskositas intrinsik merupakan analog dari koefisien virial dan merupakan dimensi 1/konsentrasi. Adanya zat terlarut akan menaikkan viskositas larutan. Bahkan pada konsentrasi rendahpun efeknya besar karena molekul besar mempunyai aliran fluida pada jarak jauh (Atkins, 1997).

Koefisien viskositas secara umum diukur dengan dua metode: viskometer oswald dan metode bola jatuh. Dalam viskometer oswald, waktu yang dibutuhkan untuk mengalirnya sejumlah tertentu dicatat. Umumnya laju aliran cairan dengan laju aliran yang koefisien viskositasnya diketahui. Persamaan yang digunakan adalah:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \left(\frac{db - d_1}{db - d_2} \right) \quad (1)$$

Menurut Dogra (1990) umumnya koefisien viskositas dapat juga dihitung dengan membandingkan laju aliran cairan dengan laju aliran yang koefisien viskositasnya diketahui. Hubungan itu adalah:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{d_1 t_1}{d_2 t_2} \quad (2)$$

Selain itu pengukuran viskositas dapat juga dilakukan dengan viskometer drum berotasi. Alat ini mempunyai kelebihan dibandingkan dengan Oswald yaitu: gradien geser antara kedua silinder ini lebih sederhana daripada dalam pipa kapiler dan efek ini lebih mudah dipelajari (Atkins, 1997).

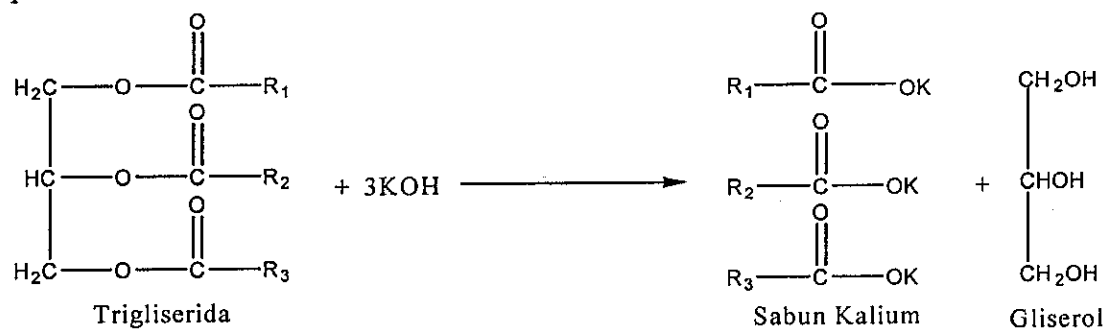
2.6.2 Densitas

Pignometer dapat digunakan untuk menentukan densitas relatif ($t^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$) dan densitas nyata (g/ml pada $t^{\circ}\text{C}$) untuk lemak cair yang tidak mengendap pada temperatur itu. Minyak dan lemak komersial mempunyai densitas nyata 0,0018. Nilai ini lebih rendah daripada densitas relatifnya. Pengukuran dilakukan pada 20° (Kirk and Ronald, 1991).

2.6.3 Angka penyabunan

Angka penyabunan digunakan untuk menentukan berat molekul minyak dan lemak secara kasar. Minyak yang tersusun oleh asam lemak berantai karbon (C) pendek berarti mempunyai berat molekul relatif kecil akan memiliki angka penyabunan yang besar dan sebaliknya minyak dengan berat molekul besar akan mempunyai angka penyabunan relatif kecil (Sudarmadji, dkk., 1997).

Menurut Ketaren (1986) prinsip penyabunan adalah penguraian minyak dan lemak menjadi asam lemak dan gliserol berdasarkan hidrolisis oleh basa kuat. Angka penyabunan menunjukkan seberapa banyak asam lemak yang dapat dilepas oleh minyak atau lemak ketika ditambah oleh basa kuat. Hal ini digambarkan dengan persamaan reaksi berikut ini:



Angka penyabunan dinyatakan sebagai banyaknya mg KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan lemak secara sempurna dari 1 gram lemak atau minyak (Sudarmadji, dkk., 1997).

2.7 Ikan Layang (*Decapterus maruadsi*)

Ikan layang termasuk dalam family *Carangidae*. Nama latin ikan layang adalah: *Decapterus maruadsi*. Spesies lain yang masih satu famili adalah *Decapterus muroadsi*, *Decapterus poliaspis*, *Decapterus russeli*. Sebagian besar dari ikan ini, bernilai ekonomi (Kizevetter, 1973).

Ikan layang memiliki ciri-ciri umum yaitu pada tulang mata berada dua tumpukan bagian depan. Sirip dubur dengan 24-26 jari-jari lemah dengan 40 kelopak tebal pada garis rusuk. Bentuknya ada yang sedikit gepeng atau lonjong dan tinggi, pangkal ekornya kecil, bentuknya bulat panjang biasanya memiliki sisik kecil tipis dan gurat sisi sempurna, pada bagian depan melengkung ke atas, dan pada bagian belakang melurus sampai ke ujung ekor. Gigi terdapat pada rahang, lidah dan langit-langit bentuknya halus dan kecil. Sirip punggung ada dua yang terpisah dengan jelas, bagian depan disokong oleh jari-jari keras saja, sedangkan bagian belakang mempunyai satu atau beberapa jari-jari keras dan banyak yang lunak. Sirip ekor cagak dua dengan lekukan sangat dalam. Sirip dubur lebar dan sangat panjang, sama besar dengan sirip punggung bagian belakang. Sirip perut terletak tepat dibawah sirip dada, dan sirip dadanya besar dan kuat, terletak lebih bawah. Bentuk dari sirip dada pinggirannya melengkung ke ujung dengan bagian pangkal yang kuat. Panjang ikan layang berkisar antara 20-40 cm (Tatang, 1981).

Hasil dari analisis *Sychevadan lisachenco* menyatakan bahwa lemak yang terkandung EPA berperan sebagai prekursor untuk prostaglandin-3 dan tromboksan-3 (Budavary, 1999). dalam *Decapterus* 4,5% sementara kandungan proteinnya tinggi (Kizevetter, 1973). Nio (1992) memberikan data mengenai kandungan gizi ikan layang dalam tabel 2.4.

Tabel 2.4: Kandungan gizi dari 100 gram ikan layang

Gizi	Nilai
Energi	103 Kal atau 439 kJ
Air	74,0 gram
Protein	22,0 gram
Lemak	1,7 gram
Karbohidrat	0 gram
Kalsium	50 mgram
Mineral	2,3 gram
Fosfor	150 mgram
Besi	2,0 mgram
Aktiviti Retinol	45 mgram
Tiamine	0,05 mgram
Asam askorbat	0 gram

Ikan-ikan dalam famili *Carangidae* mempunyai yield kulit dan tubuh yang rendah meliputi: Kepala 18,1-26,3%; saluran pencernaan 5,2-12,2; (termasuk gonade 1,1-4,4; liver 0,7-1,8%) , tulang 60-66,1% (meliputi: tulang 6-7%, sirip 5,7%, daging dan kulit 50,6-56,4%). *Decapterus maruodsi* dan *maruodsi* berukuran kecil dengan panjang (15-23 cm), dan berat (40-205 gram). Ikan yang terbesar adalah *Decapterus polyaspis* (panjang 44-55 cm dan berat 1500-1800 gram) (Kizevetter, 1973).

Berdasarkan data Badan Pusat Statistika Jawa Tengah dari 72 TPI yang ada di Jawa Tengah jumlah produksi perikanan laut terbesar pada tahun 2001 adalah ikan layang dengan jumlah 49.458.359 Kg atau dengan nilai komersial Rp 149.920.638.000 (Anonim, 2002).

2.8 Toksisitas

Toksisitas diartikan sebagai efek toksik yang terjadi karena interaksi zat aktif dengan molekul biologi (Ariens, dkk., 1986). Toksisitas merupakan istilah relatif yang biasa digunakan dalam memperbandingkan suatu zat kimia dengan lainnya, sehingga merupakan hal biasa untuk mengatakan bahwa suatu zat kimia lebih toksik dari pada zat kimia lain. Perbandingan zat kimia seperti itu sangat tidak informatif, karena pernyataan tersebut melibatkan informasi tentang mekanisme biologi yang sedang dipermasalahkan dan juga dalam kondisi bagaimana zat kimia tersebut berbahaya (Loomis, 1978).

Sumber zat toksik sangat bervariasi dan terdiri dari berbagai klasifikasi. Secara sederhana dapat dibedakan menjadi zat toksik yang berasal dari sumber alam (tanaman, hewan, atau sumber mineral) dan zat toksik buatan atau sintetik (Caserat dan Doull, 1975).

Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan untuk menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa. Proses awal untuk menentukan toksisitas senyawa baru adalah membuat suatu kisaran dosis kasar untuk diberikan pada hewan uji (Loomis, 1978).

Takaran yang dianjurkan paling tidak 4 peringkat dosis, berkisar dari dosis terendah yang belum memberikan efek kematian seluruh hewan uji sampai dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau sebagian hampir seluruh hewan uji. Senyawa ini diberikan melalui jalur yang memungkinkan untuk terjadinya efek toksik (Donatus, 1990). Uji toksisitas dilakukan lagi untuk mendapatkan data persen kematian (Loomis, 1978)

Data yang diperoleh pada uji toksisitas dapat berupa data kuantitatif yang dinyatakan dengan LD₅₀ atau LC₅₀, yaitu data kuantitatif yang diperoleh berupa penampakan morfologi efek toksik senyawa uji (Donatus, 1990). Harga LD₅₀ atau LC₅₀ suatu senyawa harus dilaporkan sesuai dengan lamanya hewan uji diamati bilamana lama pengamatan tidak ditunjukkan dianggap bahwa lama pengamatan dilakukan selama 24 jam (Loomis, 1978).

Uji toksisitas dengan hewan uji *Artemia Salina* Leach dapat digunakan sebagai pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik, jika harga LC₅₀ dari uji toksisitas < 1000 µg/ml (Meyer, *et al.*, 1982). Parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktifitas biologi suatu senyawa pada *Artemia Salina* Leach adalah kematian (Meyer, *et al.*, 1982)

Hubungan dosis dan respon yang ditimbulkan dalam uji toksisitas harus diperhatikan. Konsep dasar dalam toksikologi bahwa tidak ada zat kimia yang benar-benar aman, demikian pula bahwa tidak ada zat kimia yang dianggap berbahaya. Pernyataan tersebut disadari bahwa zat kimia tidak akan menimbulkan efek jika jumlah yang berintegrasi dengan jaringan biologi belum cukup untuk menimbulkan

efek, sehingga dapat dikatakan ada hubungan antara zat kimia dengan respon yang ditimbulkan atas mekanisme biologi tertentu (Loomis, 1978).

Terdapat korelasi positif antara nilai LC_{50} dengan sitotoksik secara umum yaitu sekitar 1-10 ppm, harga $LC_{50} \leq 30$ ppm berfungsi sebagai anti kanker, harga $LC_{50} \leq 200$ ppm bisa berfungsi sebagai obat dan harga $LC_{50} \leq 1000$ menunjukkan keaktifan yang bisa berfungsi sebagai obat dan pestisida (McLaughlin, 1991).

2.9 Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Metode BSLT digunakan untuk menentukan toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. BSLT dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama adalah penetasan telur udang *Artemia salina* dalam air laut buatan (kadar garam laut 3,8 %) dan tahap kedua adalah membuat suatu kisaran dosis senyawa atau ekstrak untuk diberikan pada hewan uji *Artemia salina* Leach yang telah berumur dua hari, karena pada umur dua hari larva berada pada keadaan dimana dinding selnya masih dalam kondisi lunak sehingga dengan konsentrasi yang kecil menimbulkan efek yang diinginkan. (Loomis, 1978).

Metode BSLT mempunyai beberapa keuntungan, antara lain: cepat, murah, mudah dan sederhana. *Artemia salina* sebelumnya digunakan dalam bermacam-macam uji hayati, seperti: uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestesi, komponen seperti morfin, kokarsinogen (Meyer, *et al.*, 1982).

Metode ini menguji ekstrak bahan alami, fraksi atau senyawa murni pada konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm. Data yang dihasilkan selanjutnya diolah dengan program sederhana untuk menentukan nilai LC_{50} (McLaughlin, 1991).