

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Lebah Kelulut

Lebah kelulut (*Trigona spp.*) atau sering disebut sebagai *Stingless bee* karena lebah kelulut merupakan lebah tidak mempunyai sengat dan sistem pertahanan diri dengan cara menggigit. Lebah kelulut memiliki ciri khas tidak memiliki sengat dan berukuran kecil (Batistuta dkk., 2021). Lebah kelulut termasuk kedalam keluarga *Apidae* yang termasuk kedalam kelas *Insecta*. Lebah kelulut telah diketahui sejak lama keberadaannya, di Indonesia lebah kelulut memiliki nama daerah yaitu gala-gala (Sumatera), klanceng, lenceng (Jawa), dan teuweul (Sunda). Lebah kelulut dapat ditemukan di daerah yang beriklim tropis dan subtropis seperti di Amerika Selatan, Australia, dan Asia Tenggara. Dalam beberapa kasus, produk lebah ini mewakili sumber pendapatan yang unik atau tambahan atau obat-obatan alternatif (Syafrizal dkk., 2012).



**Gambar 2.1** Sarang Lebah Kelulut (Syafrizal dkk., 2012)

##### 2. Madu Lebah Kelulut

Madu dari lebah trigona dikenal sebagai kelulut. Madu adalah pemanis alam yang diproduksi oleh lebah dari nektar dan getah tumbuhan, yang kemudian dikumpulkan dan di simpan dalam

sarang lebah. Madu merupakan cairan yang bersifat lengket dan memiliki rasa yang asam (Suprawijaya dkk., 2019). Madu memiliki kandungan gula yang tinggi, khususnya 41% fruktosa, 35% glukosa, dan 1,9% sukrosa (Qadariah dkk., 2019). Madu yang dihasilkan dari lebah kelulut tidak sebanyak seperti yang ada pada madu lebah lain karena madu lebah kelulut sangat sulit untuk diekstraksi. Disisi lain, hasil propolis lebah kelulut lebih besar daripada lebah lain (Batistuta dkk., 2021). Madu kelulut juga berperan dalam berbagai macam pengobatan seperti pengobatan luka dengan perannya sebagai nutrisi dalam mempercepat penyembuhan luka, *debridement* luka, antiinflamasi, dan antibakteri (Qadariah dkk., 2019), antidiabetes, penyembuh luka, antikanker, imunomodulator, dan lain-lain (Zahra dkk., 2021).

### 3. Tumbuhan Belimbing Wuluh

Tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berasal dari Asia Tenggara tepatnya di Malaysia Barat dan Maluku Indonesia, biasa disebut belimbing wuluh dan belimbing asam. Tumbuhan belimbing wuluh termasuk kedalam keluarga *Oxalidaceae* dan termasuk kedalam kelas *Magnoliopsida* (Saini, 2016). Penelitian ini menggunakan daun belimbing wuluh yang memiliki ciri-ciri daun berbentuk majemuk dengan masing-masing 24 buah dan panjang 5-10 cm. Daunnya berbulu dengan bentuk menyirip dan membentuk kelompok di ujung cabang (Alhassan & Ahmed, 2016).



Gambar 2.2 Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Saini, 2016)

#### a. Kandungan Tumbuhan Belimbing Wuluh

Alkaloid, karbohidrat, fenol, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid, asam sitrat, asam askorbat (vitamin C), glukosid, kalsium sitrat dan kalium oksalat hanyalah beberapa metabolit skunder yang ditemukan pada tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki tingkat flavonoid yang tinggi, yang telah terbukti dapat menghambat beberapa penyakit kanker dan penyakit kardiovaskular. Saponin yang berperan sebagai antiinflamasi juga ditemukan di tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) telah menjadi subjek dari sejumlah penelitian yang diterbitkan karena adanya senyawa flavonoid dan fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antiinflamasi dan imunostimulan (Fidrianny dkk., 2018; Alipin & Azizah, 2021).

#### 4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan kimia di mana pelarut digunakan secara selektif untuk menarik satu atau lebih dari beberapa senyawa kimia pada suatu sampel. Difusi analit dari sampel padat ke dalam pelarut merupakan proses disperse yang dikenal sebagai ekstraksi padat-cair (Leba, 2017).

Maserasi adalah bagian dari proses ekstraksi padat cair yang paling sederhana. Ekstraksi membutuhkan perendaman sampel dalam pelarut sehingga dapat menarik analit dalam sampel dengan hasil yang baik dengan menggunakan suhu kamar. Maserasi dilakukan selama 3-5 hari, dengan intermiten untuk mempercepat mendapatkan analit. Pelarut yang tidak berwarna menunjukkan bahwa semua analit berhasil diekstraksi. Penggunaan metode maserasi dipilih karena dapat digunakan untuk mengekstraksi analit yang peka terhadap panas dan dingin. Ekstraksi maserasi disisi lain memiliki kelemahan membutuhkan banyak pelarut (Leba, 2017).

## 5. Uji Sitotoksik

Sitotoksik merupakan suatu kemampuan senyawa yang memiliki kapasitas dalam membunuh sel. Ketika hal ini terjadi, sel-sel mengalami proses yang dikenal sebagai kematian sel terprogram atau apoptosis. Salah satu tujuan pengujian sitotoksik adalah untuk mengidentifikasi bahan kimia yang bersifat karsinogenik dalam suatu zat atau untuk mengetahui potensi antikanker suatu obat (Arel & Oktaviani, 2018). Nilai *Lethal Concentration 50* (LC<sub>50</sub>) digunakan sebagai penentu pada uji sitotoksik yang nilainya menunjukkan konsentrasi hambatan proliferasi sel sebesar 50% serta menunjukkan adanya potensi ketoksikan dari suatu senyawa terhadap sel. Ketika nilai LC<sub>50</sub> meningkat menunjukkan bahwa senyawa tersebut kehilangan toksisitasnya (Lestari dkk., 2019; Arel dkk., 2018).

**Tabel 1.1 Klasifikasi tingkat toksisitas berdasarkan LC50 (Tanamatayarat, 2016)**

Klasifikasi	Nilai LC <sub>50</sub>
Sangat Toksik	<10 mg/L
Toksik Sedang	10-100 mg/L
Toksik Lemah	100-1000 mg/L
Inaktif	>1000 mg/L

## 6. Metode BSLT

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dapat digunakan sebagai penelitian awal pada uji aktivitas sitotoksik. Metode ini menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji yang berperan sebagai bioindikator tingkat toksisitas senyawa yang diuji ditunjukkan melalui parameter nilai *Median Lethal Concentration* (LC<sub>50</sub>) (Sadiyah, 2016). Syarat standar metode BSLT pada penapisan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tanaman yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> nya mencapai (LC<sub>50</sub> ≤ 1000 µg/mL) (Lestari dkk., 2019).

Kelebihan dari metode BSLT yaitu metode ini lebih murah, serta singkat tidak memerlukan waktu yang banyak, mudah

dikembangkan dan tidak terdapat aturan etika dalam penggunaan bahan uji (Ningdyah dkk., 2015). Mekanisme uji BSLT adalah senyawa toksik dalam ekstrak terserap oleh saluran pencernaan larva udang melalui bagian mulut. Proses tersebut kemudian dilanjutkan dengan proses distribusi, dimana zat-zat berbahaya dalam tubuh larva udang akan menghambat reaksi metabolisme (Rahimah & Limbong, 2019).

## 7. Uji Antioksidan

Dalam mencegah radikal bebas yang ada didalam tubuh dapat dilakukan dengan pemanfaatan antioksidan. Antioksidan sintetik dan antioksidan alami adalah dua kategori jenis antioksidan. Dalam jumlah besar antioksidan sintesis bersifat beracun dan berbahaya bagi kesehatan. Sehingga dapat menggunakan antioksidan alami yang tidak memiliki sifat beracun serta bermanfaat bagi kesehatan. Electron yang tidak berpasangan dalam orbital terluarnya didefinisikan sebagai radikal bebas. Saat mencari pasangan, molekul menjadi sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas menyerang dan mengikat electron disekitarnya yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit seperti kanker, aterosklerosis, dan penuaan dini (Lung & Destiani, 2017;Rorong, 2019).

Aktivitas antioksidan dapat pengujian secara *in vitro* menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil). Teknik ini dapat memberikan informasi mengenai kereaktivitas suatu senyawa ketika dievaluasi dengan radikal stabil. DPPH dapat menghasilkan serapan yang tinggi pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Lung & Destiani, 2017). Ketika larutan DPPH berubah warna menjadi violet bertemu dengan bahan pendonor electron, maka akan terjadi reduksi antara DPPH yang menyebabkan warna violet akan berubah menjadi warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Tristantini dkk., 2016).

**Tabel 2.2 Klasifikasi tingkat antioksidan berdasarkan IC50 (Pramesti, 2013)**

Klasifikasi	Nilai LC <sub>50</sub>
Sangat Kuat	<50 mg/L
Kuat	50-100 mg/L
Sedang	100-150 mg/L
Lemah	150-200 mg/L
Sangat Lemah	>200 mg/L

## 8. Nanogel

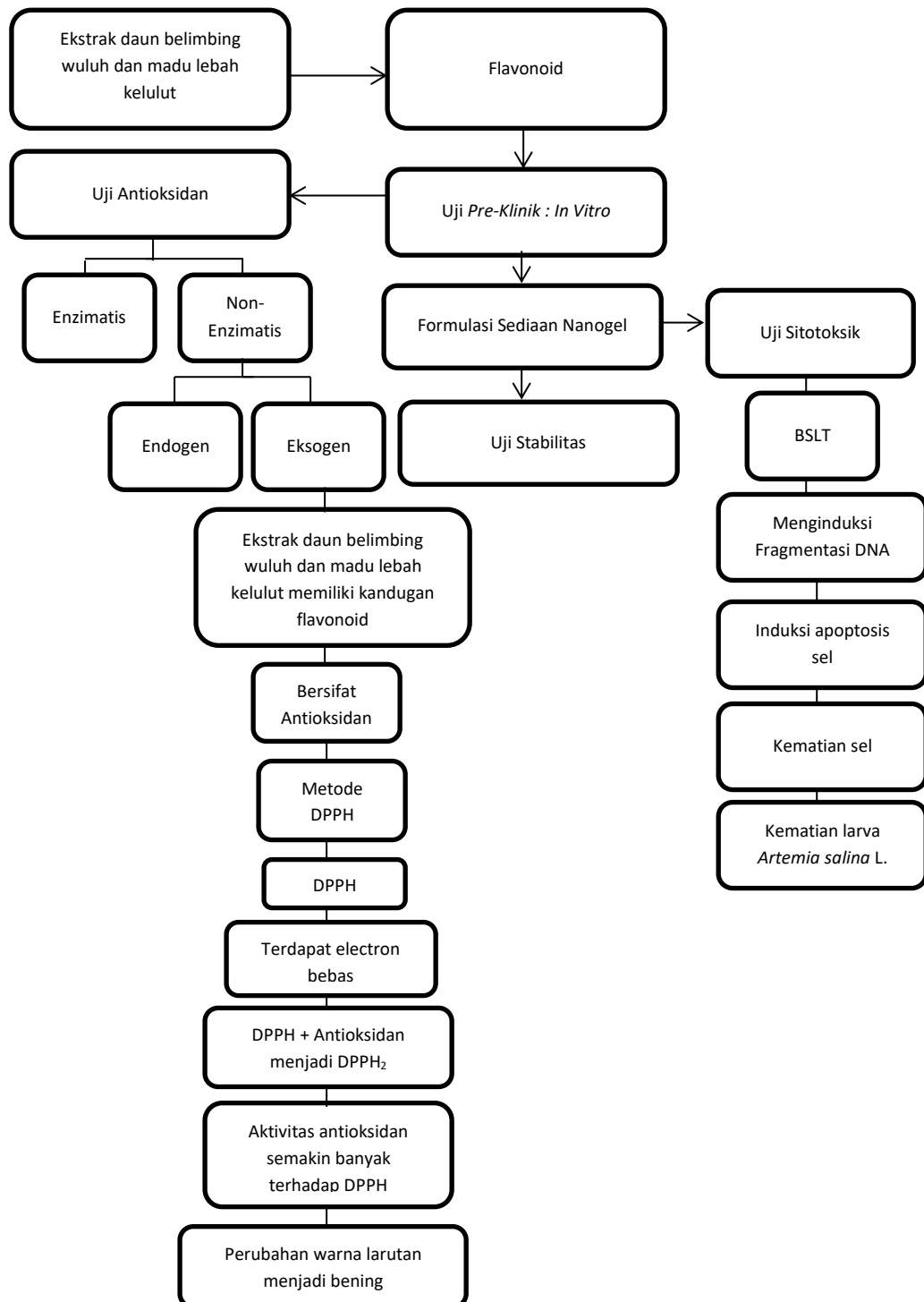
Nanogel merupakan jaringan polimer yang berbentuk ikatan silang berukuran nano yang memiliki kemampuan menyerap air dalam jumlah yang cukup besar, kemampuan khusus yang dimiliki nanogel yaitu kemampuan untuk merespon perubahan yang relevan secara biomedis seperti pH, suhu (Purwandari dkk., 2020). Nanoemulsi dan gel adalah dua bagian yang membentuk dalam sediaan nanogel. karena kulit memiliki kualitas lipofil, sangat cocok dengan nanoemulsi yang merupakan salah satu sediaan yang dapat meningkatkan permeabilitas obat pada permukaan membran kulit (Ariani & Wulandari, 2021).

Nanogel juga memiliki beberapa sifat yaitu memiliki biokompatibilitas dan degradabilitas, nanogel memiliki sifat pembengkakan dalam media berair, kapasitas pemuatan obat yang lebih tinggi, kemampuan permeasi yang baik karena ekstrim ukuran partikel kecil, nanogel mampu melarutkan obat hidrofobik dan agen diagnostik dalam inti atau jaringan gelnya, serta memiliki stabilitas koloid yang baik (Sultana dkk., 2013)

Adapun kelebihan dan kekurangan dari sediaan nanogel. kelebihan sediaan nanogel yaitu memiliki ukuran partikel dan sifat permukaan dapat dimanipulasi untuk menghindari pembersihan cepat oleh sel fagosit, memungkinkan penargetan obat pasif dan aktif (Sultana dkk., 2013), pelepasan obat yang terkontrol dan berkelanjutan di lokasi target, meningkatkan kemanjuran terapeutik dan mengurangi efek samping. Pemuatan obat relatif tinggi dan dapat dicapai tanpa reaksi kimia, mampu mencapai pembuluh kapiler terkecil, karena volumenya yang kecil, dan untuk

menembus jaringan baik melalui jalur paraseluler atau *trans seluler*, pelepasan obat dari nanogel sangat biokompatibel dan biodegradable (Sultana dkk., 2013), sifat bahan yang hidrofilik maupun hidrofobik dapat diformulasikan dalam formulasi nanogel, dan sediaan nanogel dapat dengan mudah diberikan dalam pemberian parenteral dan mukosa (Sharma dkk., 2016). Sedangkan kekurangan sediaan nanogel yaitu teknik yang mahal untuk benar-benar menghilangkan surfaktan pasir pelarut pada akhir proses preparasi, jejak surfaktan atau monomer mungkin tertinggal dan dapat menimbulkan toksisitas (Sultana dkk., 2013), nanogel memiliki efisiensi pemuatan obat yang terbatas dan regulasi pelepasan obat yang suboptimal, serta kadang-kadang interaksi yang kuat antara obat dan polimer menurunkan hidrofilitas nanogel dan menyebabkan struktur runtuh, sehingga menjebak molekul obat secara ireversibel dan meningkatkan hidrofilitas matriks nanogel (Sharma dkk., 2016).

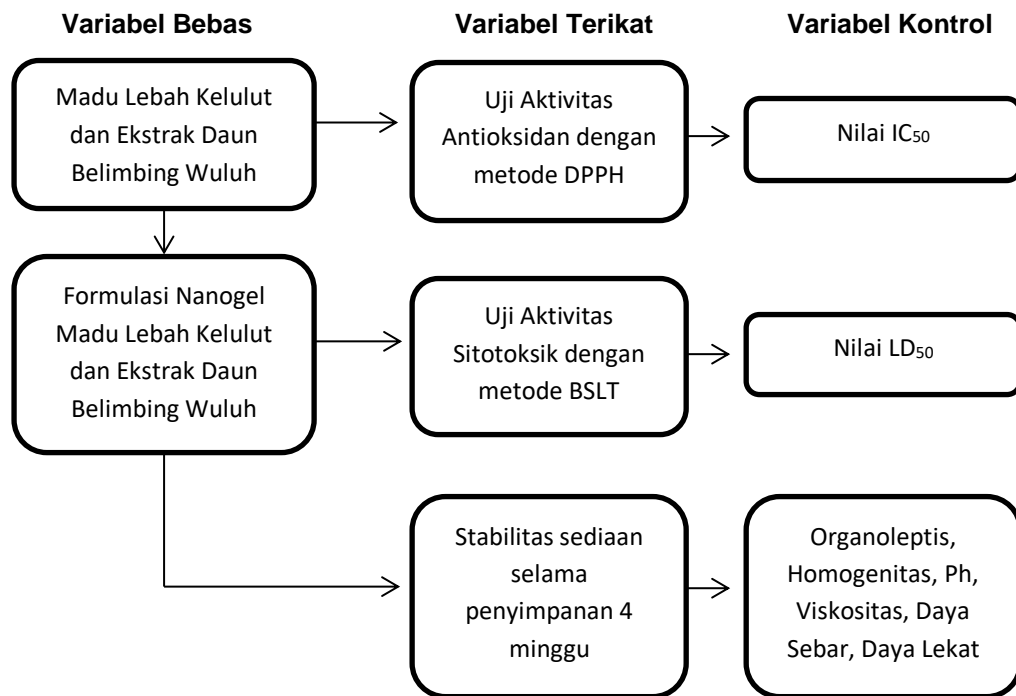
## B. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka Teori Penelitian



### C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian

### D. Hipotesis Penelitian

1. Kombinasi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>
2. Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh tidak bersifat toksik terhadap kulit yang dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub>
3. Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh memenuhi persyaratan stabilitas sediaan selama 4 minggu.