

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelor (*Moringa oleifera*)

Klasifikasi secara taksonomi dari tumbuhan kelor adalah sebagai berikut (USDA, diakses tahun 2016)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Dicotyledonae
Subclass	: Dilleniidae
Order	: Capparales
Family	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Species	: <i>Moringa oleifera</i>

Kelor (*Moringa oleifera*), terkenal juga dengan sebutan *horseradish tree* ataupun *drumstick tree*, adalah tumbuhan perdu yang banyak ditemukan di daerah tropis dan subtropis, salah satunya di Indonesia, dan dapat tumbuh baik di dataran tinggi maupun rendah (Kavitha *et al.*, 2012). Tumbuhan ini dapat berkembang dengan cepat, dan pohonnya bisa mencapai ketinggian 10 meter dengan batang lunak. Daunnya memiliki bentuk *bipinnate* atau *tripinnate* berwarna hijau dan memiliki susunan secara spiral (Anwar *et al.*, 2007).

Tumbuhan ini merupakan salah satu tumbuhan bernutrisi tinggi dan secara luas digunakan sebagai sumber makanan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi

(Anwar *et al.*, 2007). Selain sebagai sumber makanan, tumbuhan kelor dikenal oleh masyarakat sebagai tumbuhan yang memiliki banyak manfaat untuk bahan obat-obatan. Hampir semua bagian dari tumbuhan kelor dapat dimanfaatkan sebagai obat. Semua manfaat ini disebabkan oleh zat antioksidan alami (asam askorbat, flavonoid, dan karotenoid) yang ada di dalam tumbuhan kelor. Selain manfaat yang sudah disebutkan, zat anti-oksidan tersebut juga memiliki manfaat lain sebagai anti kanker, antibiotik, antifungal, diuretik, dan menurunkan tekanan darah serta kolesterol (Anwar *et al.*, 2007). Berikut adalah bahan aktif yang terkandung dalam daun kelor.

Tabel 2.1 Kandungan Bahan Aktif dalam Daun Kelor (Leone *et al.*, 2015)

Komponen Bioaktif	Jumlah
Vitamin A	45,200 IU
Vitamin B1 – Thiamine	0.24 mg/100g
Vitamin B2 – Riboflavin	0.20 mg/100g
Vitamin B3 - Niacin	3.20 mg/100g
Vitamin C – Ascorbic acid	880 mg/100g
Vitamin E - Tocopherol	16.21 mg/100g
β – carotene	33.48 mg/100g
Lutein	6.94 mg/100g
polyphenols	4581 mgGAE/100g
Caffeic acid	0.409 mg/g
Chlorogenic acid	0.018 mg/g
o-coumaric acid	6.457 mg/g
Ellagic acid	0.018 mg/g
Ferullic acid	0.078 mg/g
Gallic acid	1.034 mg/g
Total flavonoids	5.059 mg/g
Isorhamnetin	0.118 mg/g
Kaempferol	3.92 mg/g
Quercetin	12.84 mg/g
Rutin	0.390 mg/g
4-hydroxybenzyl (sinalbin)	2.36 mg/g
4-(α-L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl	22.56 mg/g
4-O-(α-L-acetyl-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isomer 1	2.76 mg/g

4-O-(α -L-acetylramnopyranosyloxy)-benzyl isomer 2	1.80 mg/g
4-O-(α -L-acetylramnopyranosyloxy)-benzyl isomer 3	20.16 mg/g
Tannin	13.2 gTAE/kg
Saponin	2.0 gDE/kg
Oxalates	430 mg/100 g
Phytates	25.0 g/kg

Keterangan :

IU : International Unit

GAE : Gallic Acid Equivalent

TAE : Tannic Acid Equivalent

DE : Diosgenin Equivalent

2.2 Zebrafish (*Danio rerio*)

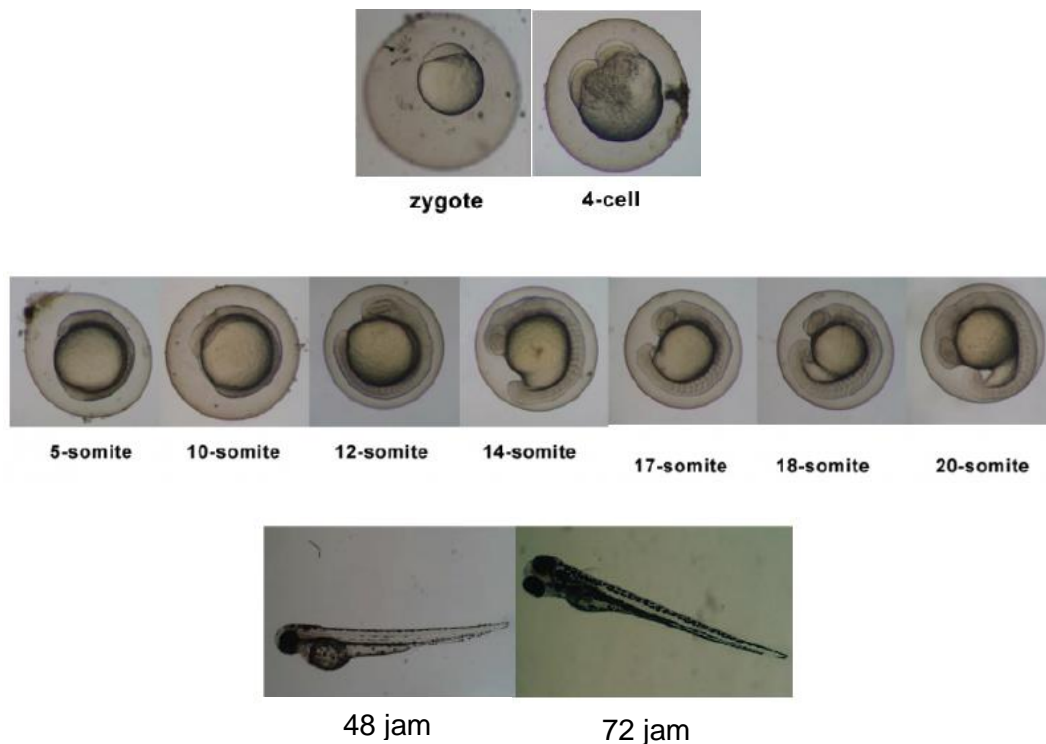
Klasifikasi secara taksonomi dari Zebrafish (*Danio rerio*) adalah sebagai berikut (ITIS, diakses tahun 2016)

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Actinopterygii
Order	: Cypriniformes
Family	: Cyprinidae
Genus	: Danio
Species	: <i>Danio rerio</i> – zebra danio

Zebrafish adalah ikan yang berasal dari daerah Timur Laut India dan Bangladesh, yang sekarang penyebarannya sudah sangat luas. Ikan ini mempunyai ukuran tubuh yang kecil (3-4 cm) dan hidup di air yang tenang dan dangkal, serta memiliki banyak vegetasi seperti di kolam, danau, sungai, dan parit. Di habitatnya, zebrafish memangsa zooplankton, fitoplankton, alga, larva nyamuk, dan serangga-serangga kecil yang terdapat di dasar maupun di permukaan air (Spence *et al.*, 2006).

Zebrafish mendapatkan namanya dari corak tubuhnya yang menyerupai zebra, dan memiliki dua variasi warna : biru kehitaman yang mengandung pigmen *melanophores* dan *iridophores*, serta silver kekuningan yang mengandung pigmen *xanthophores* dan *iridophores*. Pigmen ini akan mulai terlihat setelah 24 jam paska fertilisasi. Corak warnanya ini memudahkan zebrafish untuk berkamufase untuk melindungi dirinya. Ikan ini hanya mempunyai satu *dorsal fin* dan tidak memiliki *adipose fin*. Jenis kelamin ikan dapat dilihat melalui karakteristik umumnya : jantan memiliki tubuh yang lebih ramping dan memiliki warna tubuh yang lebih gelap, sedangkan betinanya memiliki perut yang lebih besar karena ovariumnya berisi telur (Reed dan Jennings, 2011).

Irama sirkadian zebrafish memiliki kesamaan dengan mamalia lain, yaitu *daytime activity* selama 14 jam dan *night-time rest* (waktu tidur) selama 10 jam. Selama *daytime activity* ini, salah satu kegiatannya adalah berkembang biak dengan cara bertelur. Ikan ini tidak membutuhkan musim untuk bertelur, dan dalam kondisi laboratorium ikan ini dapat dipicu untuk bertelur terus menerus sepanjang tahun. Sekali bertelur (dalam 1-3 hari sekali) ikan betina dapat mengeluarkan 100 hingga 1000 telur, dan kemudian telur-telur ini akan dibuahi oleh sperma dari ikan jantan. Telur yang terfertilisasi dengan baik akan berwarna jernih kekuningan, dan selanjutnya akan masuk ke periode perkembangan embrio (0-72 *hpf*), larva awal (72 *hpf* – 13 *dpf*), larva tengah (14-29 *dpf*), *juvenile* (30 hari – 4 bulan), dan dianggap dewasa jika sudah matang secara seksual (Reed dan Jennings, 2011).



Gambar 2.1 Fase Pertumbuhan Zebrafish usia 0-72 hpf (UNSW Embryology, diakses tahun 2017)

2.3 Proses Perkembangan Embrio Zebrafish

Menurut Kimmel *et al.* (1995) dalam fase perkembangan embrio, zebrafish akan melalui beberapa tahap sebagai berikut.

1. Periode Zigot - 0 jam

Pada 40 menit pertama setelah fertilisasi, telur akan memasuki siklus pembelahan yang pertama.

2. Periode Pembelahan (*Cleavage*) – $\frac{3}{4}$ jam

Tiap 15 menit terjadi periode pembelahan ke 2 hingga ke 7 secara cepat (dalam 1,5 jam) yang akan menghasilkan periode zigot 2 sel, 4 sel, 8 sel, 16, 32 sel, hingga 64 sel.

3. Periode Blastula – 2 ¼ jam

Periode ini merujuk pada saat blastodisk mulai berbentuk seperti bola. Proses penting yang terjadi pada periode ini ialah embrio memasuki *midblastula transition* (MBT), adanya *yolk syncytial layer* (YSL), dan permulaan dari *epiboly*.

4. Periode Gastrula – 5 ¼ jam

Pada periode ini mulai terjadi morfogenesis. Terjadi pembentukan lapisan germinal primer dan aksis embrionik. Pada tahap ini, *epiboly* telah mencapai 50% dan di akhir periode ini akan terjadi *Bud stage* atau pembentukan *tailbud* pada waktu 10 *hpf*.

5. Periode Segmentasi – 10 jam

Terbentuk *somite* dan juga dan dimulainya pertumbuhan organ primer. Pertumbuhan *tailbud* terlihat semakin jelas pada periode ini.

6. Periode Faringula – 24 jam

Somite yang terbentuk telah lengkap hingga ujung ekor dan dimulailah perubahan arah dari *body axis* yang mulai kehilangan bentuk lengkungnya. Sistem sirkulasi, pertumbuhan sirip, dan munculnya warna tubuh dimulai pada periode ini.

7. Periode Penetasan – 48 jam

Penetasan terjadi secara tidak bersamaan antara satu telur dengan yang lain, tetapi tidak ada perbedaan antara yang menetas lebih dahulu dengan telur yang menetas lebih lambat pada perkembangan selanjutnya.

8. Periode Larva Awal – 72 jam

Morfogenesis sudah selesai dan larva mulai lebih aktif berenang dan bergerak.

2.4 Etanol

Etanol, atau etil alkohol, merupakan cairan bening yang tidak berwarna, memiliki bau yang khas, rasa yang tajam, dan mudah menguap pada suhu kamar. Cairan ini memiliki rumus kimia C_2H_6O dengan berat molekul 46,07 g/mol. Etanol juga memiliki sifat disinfektan, sehingga dalam bidang medis digunakan sebagai disinfektan topikal dan juga pada proses sterilisasi alat-alat kesehatan (*NCBI Open Chemistry Database*, diakses tahun 2016).

Etanol merupakan molekul yang dapat larut pada air maupun pada lemak, sehingga etanol dapat menembus membran pada tubuh, termasuk juga *Blood-Brain Barrier* yang melindungi otak. Pada manusia, etanol memiliki berbagai macam efek, tergantung dengan dosisnya. Efek stimulasi dan euforia ditemukan pada *intake* dengan dosis rendah, efek sedasi pada dosis tinggi, dan kematian pada kasus-kasus tertentu (*White et al.*, 2000).

Walaupun masih belum diketahui secara pasti, menurut Fadda dan Rossetti (1998), ada beberapa mekanisme dari etanol yang dapat menyebabkan kerusakan pada sistem saraf, yaitu :

1. *Thiamin deficiency*

Beberapa mekanisme yang disebabkan oleh konsumsi alkohol berlebih dapat menyebabkan kekurangan *Thiamin* dalam sistem saraf pusat. Kekurangan *Thiamin* ini menyebabkan peningkatan dari

produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang akan menyebabkan berbagai efek negatif.

2. Neurotoksisitas

Neurotoksisitas ini melibatkan peran dari glutamat, salah satu *neurotransmitter* yang paling banyak jumlahnya di sistem saraf pusat. Pada konsumsi etanol berlebih, dapat terjadi peningkatan produksi glutamat yang akan memicu aktivasi berlebih dari reseptor NMDA (*N-methyl d-aspartate*) dan menginduksi peningkatan produksi dari *Reactive Oxygen Species* (ROS).

2.5 Alcohol-Induced Oxidative Stress

Dalam tubuh, etanol dimetabolisme oleh tiga jalur utama yang melibatkan beberapa enzim, yaitu *alcohol dehydrogenase*, *microsomal ethanol oxidation sistem* (MEOS), dan katalase. Jalur utamanya adalah enzim *alcohol dehydrogenase* yang akan mengubah etanol menjadi asetaldehid. Dari jalur inilah dihasilkan banyak radikal bebas yang dapat mempengaruhi keseimbangan sistem antioksidan (Das dan Vesudevan 2007).

Metabolisme dari etanol juga berhubungan secara langsung dengan sistem mikrosomal dan juga mitokondrial, Hal tersebut dapat menurunkan level dari *antioxidant activity* pada tubuh sehingga dapat menyebabkan stress oksidatif yang disebut sebagai *Alcohol-Induced Oxidative Stress* (Das dan Vesudevan, 2007).

2.6 Aktivitas Lokomotor

Gerak lokomotor adalah gerakan berpindah tempat oleh seluruh tubuh dari satu tempat ke tempat yang lain. Gerakan lokomotor antara lain adalah berjalan, berlari, meloncat, dan gerakan lain yang ditandai dengan perpindahan tempat

(Pratomo, 2011). Pada zebrafish, gerak lokomotor sudah mulai muncul pada 96 *hpf* yang ditandai dengan kemampuan dari larva untuk berenang bebas dan mengubah arah renangnya secara spontan (Granato *et al.*, 1990). Untuk menghitung gerak lokomotor dari zebrafish, digunakan perhitungan jarak yang ditempuh per satuan waktu (menit) sebagai dasar perhitungan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan lokomotor tersebut (de Esch *et al.*, 2012).

2.7 Motilitas

Motilitas atau respon taktil, adalah respon terhadap stimulus yang mempengaruhi sensorik di kulit, dan kinestetik yang merupakan rangsangan pada ekstremitas. Kedua stimulus ini berkontribusi terhadap perkembangan dan pertumbuhan perilaku (Symington dan Pinelli, 2002).

Pada zebrafish, respon taktil ini mulai muncul saat larva telah menetas pada 48 *hpf*. Larva yang baru menetas bila diberi stimulus pada bagian ekornya, akan bergerak lurus ke depan menjauhi arah stimulus yang diberikan. Sedangkan bila distimulus pada bagian kepalanya, larva akan berputar 180 derajat dan berenang menjauh dari arah stimulus (Granato *et al.*, 1990)

Pemberian stimulus pada zebrafish dilakukan dengan cara memberi sentuhan dengan jarum pada bagian ekor (McKeown *et al.*, 2009).

Aktivitas lokomotor dan motilitas ini berikatan erat dengan fungsi sistem saraf pusat, yaitu perencanaan dan koordinasi. Dibutuhkan perencanaan gerakan yang sesuai dengan informasi dari rangsang sensoris agar gerakan yang dihasilkan dapat mencapai tujuan yang tepat. Selain itu, untuk menciptakan suatu gerakan kompleks dibutuhkan kontraksi dari beberapa otot secara bersamaan, dan hal ini juga diatur oleh sistem saraf pusat sehingga terjadi kontraksi otot yang

terstruktur dan dapat menghasilkan gerakan yang diinginkan. Jika terjadi gangguan pada sistem saraf pusat maupun struktur lain, maka kemungkinan besar dapat ditemukan perubahan pada aktivitas lokomotor dan motilitas (Dunn *et al.*, 2016).