

UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDANT (IC_{50}) DAN TOKSISITAS AKUT (LD_{50}) FRAKSI ETANOL DAUN NANGKA (*Artocarpus Heterophyllus Lam.*)

Recta Olivia Umboro¹, Dedent Eka Bimmaharyanto S², Ni Komang Wijiani Yanti³

¹Fakultas Kesehatan, Universitas Bumigora

²Fakultas Kesehatan, Universitas Qamarul Huda Badaruddin Bagu

³Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama NTB

Email: umboroolivia@gmail.com¹, Dedenthariyanto@gmail.com², wijiani16@gmail.com³

Abstract

*Antioxidants are needed by the body to ward of free radicals from internal and external factors. The presence of free radicals is related to human health conditions. Back to nature lifestyle and the high cost of drugs therapy makes people preferring to use traditional medicine. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus Lam*) leaves is contain several secondary metabolites such a flavanoids, alkaloids, saponins, steroids and tannins. Flavanoid have an antioxidant effect. In this study, the antioxidant activity of ethanol jackfruit (*Artocarpus heterophyllus Lam*) leaves extract was tested using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method by UV-Vis Spectrophotometry, with Vitamin C as comparison standart. Acute toxicity test was carried out by giving oral doses of ethanol jackfruit leaf extract to 4 groups of male rats. Group I as a control (aquadest); II(100mg/30gBW); III (150mg/30gBW); IV (200mg/30gBW) were then observed for 7 days. The antioxidant activity test showed that ethanol jackfruit (*Artocarpus heterophyllus Lam*) leaves extract had effectiveness as an antioxidant with an IC_{50} value of 58.58 ppm. The data were analyzed using one-way ANOVA showing sig value 0.228, which means ($P > 0.005$), then followed by post hoc test, an average value of 0.00, probability value is 1.000 ($sig > 0.005$). It can be concluded that there is no significant difference between the control and the treatment dose of 100mg, and there is a significant difference in the 150mg/30gBW, 200mg/30gBW dose groups. LD_{50} value dosage range in 150mg and 200mg.*

Key Words: Jackfruits leaf, antioxidant, IC_{50} , toxicity test, LD_{50}

Abstrak

*Antioksidan diperlukan tubuh untuk menangkal radikal bebas baik yang berasal dari faktor internal maupun eksternal tubuh, dimana keberadaan radikal bebas didalam tubuh berhubungan dengan kondisi kesehatan manusia. Gaya hidup back to nature, dan tingginya biaya pengobatan mengakibatkan masyarakat lebih memilih menggunakan obat tradisional. Daun nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam*) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Flavonoid memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan salah satunya adalah sebagai antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam*) dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) secara spektrofotometri UV-Visible menggunakan standar pembanding vitamin C. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan perlakuan dosis secara oral ekstrak daun nangka, kepada 4 kelompok hewan uji tikus jantan, dimana kelompok I sebagai kontrol(aquadest), II(100 mg/30gBB), III(150 mg/30gBB), dan IV(200 mg/30gBB) selanjutnya dilakukan pengamatan selama 7 hari. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam*) memiliki efektivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 58,58 ppm. Hasil analisis data menggunakan statistik one way anova diperoleh nilai sig sebesar 0.228 yang berarti ($P > 0.05$), lalu dilanjutkan dengan post hoc test diperoleh nilai rata-rata sebesar 0.00 dengan nilai probabilitas sebesar 1.000 ($sig > 0.05$) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak terdapat*

perbedaan signifikan antara perlakuan kontrol dengan pemberian dosis 100mg., dan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok dosis 150mg/30gBB, 200mg/30gBB. Pada uji toksisitas akut menunjukkan nilai LD_{50} ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus lam*) pada penelitian ini berada pada rentang dosis 150mg dan 200mg.

Kata kunci : Daun nangka, antioksidan, IC_{50} , uji toksisitas, LD_{50}

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang ada disekitarnya (Winarsi, 2007). Secara alamiah, radikal bebas terbentuk melalui sistem biologis tubuh dan juga dapat berasal dari lingkungan. Penelitian dari Murray dkk (2009), menyatakan bahwa adanya radikal bebas dalam tubuh disebabkan oleh hasil samping proses oksidasi dan pembakaran sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi. Faktor eksternal pemicu radikal bebas antara lain sinar Ultra Violet, polusi, asap rokok, emisi kendaraan, maupun alkohol. Adanya radikal bebas dapat menyerang sel-sel sehat dalam tubuh. Tubuh dapat memberikan pertahanan dengan memproduksi senyawa antioksidan. Pertahanan yang tidak optimal menyebabkan sel-sel sehat tersebut akan terserang atau sakit jika jumlah radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan persediaan antioksidan dalam tubuh. Hal tersebut dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering disebut stress oksidatif.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam efek negatif oksidan dalam tubuh (Ramadhan, 2015). Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan akibat radikal bebas terhadap sel normal pada tubuh yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti hipertensi, jantung, diabetes, stroke, dan kanker. Faktor pemicu penyakit degeneratif juga disebabkan karena pencemaran lingkungan yang dapat merangsang timbulnya radikal bebas dan stress oksidatif sehingga

dapat merusak tubuh (Hanjani, 2010). *World Health Organization* (WHO) memperkirakan, pada tahun 2020 penyebab kematian karena penyakit degeneratif akan mencapai 73% dari seluruh penyebab kematian. Berdasarkan data WHO tahun.

2011, kematian akibat penyakit degeneratif di negara-negara berkembang menyumbang sekitar 60% dari seluruh penyebab kematian. Tubuh dapat memberikan pertahanan dengan memproduksi senyawa antioksidan. Pertahanan yang tidak optimal menyebabkan sel-sel sehat tersebut akan terserang atau sakit jika jumlah radikal bebas lebih banyak dibandingkan dengan persediaan antioksidan dalam tubuh. Hal tersebut dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering disebut stress oksidatif (Winarsi, 2007). Selain dari dalam tubuh sumber antioksidan dapat diperoleh dari asupan makanan yang mengandung flavonoid. Salah satu sumber potensial antioksidan alami salah satunya berasal dari tumbuhan.

Tingginya biaya pengobatan dan perubahan gaya hidup menyebabkan masyarakat lebih memilih menggunakan obat yang berasal dari bahan alam. Masyarakat pedesaan cenderung memilih obat tradisional untuk menyembuhkan luka. Hal ini didasari dengan alasan kandungan obat yang berasal dari tanaman atau herbal jauh lebih aman digunakan, mudah didapat dan secara ekonomi lebih terjangkau (Ismail, 2009). Senyawa-senyawa antioksidan alami biasanya terdapat dalam daun, bunga, buah dan sayur bagian-bagian dari tanaman. Nangka merupakan salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat, Berdasarkan skrining fitokimia, bagian daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam.*) dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena mengandung metabolit sekunder. yaitu flavonoid, alkaloid,

saponin, steroid, dan tanin. (Marianne dkk, 2011). Flavonoid dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, antiviral, antikanker dan antibakteri.

Pada dasarnya, semua zat, bahan dan sediaan kimia baru yang akan digunakan pada manusia, hewan dan lingkungannya perlu dilakukan pengujian baik dari segi keamanannya, dan kemampuannya sebagai senyawa obat. Penggunaan ekstrak dari bahan tanaman sebagai obat sudah lazim dimasyarakat. Penggunaan daun nangka sebagai obat tradisional sudah sangat lazim dimasyarakat. Namun saja kemampuannya sebagai antioksidan masih belum banyak digunakan. Daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam.*) yang memiliki kandungan senyawa flavonoid, dimana flavonoid memiliki khasiat sebagai anti oksidant yang mampu mengikat radikal bebas didalam tubuh. Sehingga dengan adanya antioksidan dapat mencegah terjadinya penyakit degeneratif seperti stroke, diabetes, hipertensi, dll. Agar penggunaan daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam.*) sesuai dengan khasiatnya maka untuk itu perlu dilakukan pengujian terhadap kemampuan ekstrak dari daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam.*) sebagai senyawa antioksidan. Selain itu untuk mengukur tingkat keamanan ekstrak tersebut sebelum digunakan sebagai bahan berkhasiat perlu dilakukan uji toksisitas (DiPasquale LC, Hayes AW ,2001), untuk melihat kemampuan ekstrak untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup. Salah satu uji toksisitas yang dapat dijadikan parameter adalah uji toksisitas akut. Untuk melihat efek yang timbul segera setelah pemberian dosis tunggal dari suatu zat atau pemberian dosis berulang dalam waktu 24 jam secara oral dengan parameter uji Letal Dose (LD₅₀).

KAJIAN PUSTAKA

Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam efek negatif oksidan dalam tubuh (Ramadhan, 2015). Substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah

kerusakan akibat radikal bebas terhadap sel normal pada tubuh yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Beberapa jenis penyakit degeneratif diantaranya yaitu hipertensi, jantung, diabetes, stroke, dan kanker. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan, pada tahun 2020 penyebab kematian karena penyakit degeneratif akan mencapai 73% dari seluruh penyebab kematian. Penyakit degeneratif juga disebabkan karena pencemaran lingkungan yang dapat merangsang timbulnya radikal bebas dan stress oksidatif sehingga dapat merusak tubuh. Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, adanya radikal bebas dapat menyerang sel-sel sehat dalam tubuh.

Sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu : (Parwata, 2015)

1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase.
3. Antioksidan Tersier atau repair enzyme yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferasedan lipase.

Antioksidan memiliki dua fungsi, yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju. autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan

rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

Vitamin c atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (aqueous antioxidant). Sebagai antioksidan, vitamin c bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu. Antioksidan vitamin c mampu bereaksi dengan radikal bebas, kemudian mengubahnya menjadi radikal askorbil.

Nangka

Pohon *Artocarpus heterophyllus* Lam, atau yang lebih dikenal dengan nama nangka dapat digunakan sebagai antioksidan alami karena mengandung metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun nangka terdapat beberapa senyawa yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Flavonoid dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, antiviral, antikanker dan antibakteri (Marianne dkk, 2011).

Simplisia

Simplisia secara umum merupakan produk hasil pertanian tumbuhan obat setelah melalui proses pasca panen dan proses preparasi secara sederhana menjadi bentuk produk kefarmasian yang siap dipakai atau siap diproses untuk dijadikan produk sediaan farmasi yang umumnya melalui proses ekstraksi, separasi dan pemurnian, yaitu menjadi ekstrak, fraksi atau bahan isolat senyawa murni. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa senyawa kimia murni (Anonim, 2000).

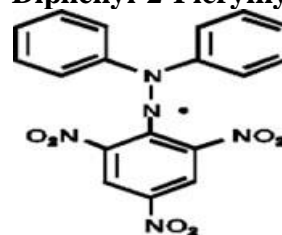
Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah

ditetapkan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Berdasarkan konsistensinya, ekstrak dapat dibagi menjadi 3 bentuk, yaitu Ekstrak cair (*Extracta Fluida/Liquida*), ekstrak kental (*Extracta spissa*), ekstrak kering (*Extracta sicca*). Ekstrak cair biasanya masih mengandung sejumlah pelarut tertentu (kadar air > 20%, ekstrak kental, merupakan ekstrak yang pelarutnya telah diuapkan sampai batas tertentu (kadar air 10-20%).

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin. Etanol digunakan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dan mudah bercampur dengan air. Untuk meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air.

DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)



Gambar 1. Rumus Struktur 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazyl, Prakash, 2001

Radikal DPPH (1,1 difenil-2-Picrylhydrazyl) adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron tersebut untuk beresonansi (Pratimasari, 2009).

Spektrofotometri

Spektrofotometer UV-Vis adalah analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm)

dengan memakai instrument spektrofotometer UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibanding kualitatif (Syifa, 2010).

Sinar tampak (Visible) adalah sinar polikromatis yang dengan bantuan monokromator misalnya prisma dapat diuraikan menjadi beberapa sinar monokromatis dengan berbagai panjang gelombang. Analisa spektrofotometri UV-Visible biasanya dilakukan pada panjang gelombang absorpsi maksimum (λ maks) yang didefinisikan sebagai jarak antara dua puncak dari suatu gelombang. Dimana sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200 – 400 nm sedangkan sinar tampak pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Syifa, 2010).

Toksisitas

Tingkat keamanan suatu obat dapat diteliti dengan menentukan toksisitasnya. Toksisitas suatu zat adalah kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup. Pada dasarnya, semua zat, bahan dan sediaan kimia baru yang akan digunakan pada manusia, hewan dan lingkungannya perlu diuji keamanannya, bila ada kemungkinan berbahaya untuk kesehatan (DiPasquale LC, Hayes AW, 2001).

Salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan adalah uji toksisitas akut. Toksisitas akut adalah efek-efek merugikan yang timbul segera setelah pemberian dosis tunggal dari suatu zat atau pemberian dosis berulang dalam waktu 24 jam. Ada beberapa macam cara pemberian untuk pengujian toksisitas akut, yaitu secara oral, parenteral, inhalasi, kulit dan mata. Suatu indeks untuk mendefinisikan toksisitas akut dikenal dengan istilah Dosis Letal 50 (LD₅₀). Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan atau menunjukkan secara kasar median lethal dose (LD₅₀) dari toksikan. LD₅₀ ditetapkan sebagai tanda statistik pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Priyanto, 2010).

Secara umum, semakin kecil nilai LD₅₀, semakin toksik senyawa tersebut.

Begitu pula sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀, semakin rendah toksisitasnya. Hasil yang diperoleh (dalam mg/KgBB) dapat digolongkan menurut potensi ketoksikan akut senyawa uji menjadi beberapa kelas, seperti yang terlihat pada tabel berikut (Priyanto, 2010).

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menguji kemampuan antioksidan ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) dengan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH), menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Kemudian ekstrak etanol diuji tosisitas rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 kelompok hewan uji.

Populasi dalam penelitian ini adalah kelompok hewan uji yang terdiri dari 1 kelompok kontrol (aquadest) dan 3 kelompok perlakuan dosis ekstrak daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) (100mg/gBB; 150mg/gBB; 200mg/gBB).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) yang diambil dari Kecamatan Gunungsari Kabupaten Lombok Barat.

Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, vacuum rotary evaporator, oven, kertas perkamen, timbangan hewan, gunting, aluminium foil, selang sonde, spuit, beacker glass, kandang hewan, batang pengaduk, pipet tetes, tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun nangka, aqua destillata, mg stearat, aerosil, talk, cangkang kapsul, mencit, etanol 96%, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl), methanol p.a, larutan standar Vitamin C.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi simplisia dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Mataram, bertujuan untuk mengetahui spesifikasi

tanaman yang akan digunakan sebagai sampel dalam penelitian.

Pembuatan Simplisia

Simplisia dibuat dengan melakukan pemanenan daun nangka yang usianya tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir sebanyak 3 kali. Setelah pencucian proses perajangan atau perubahan ukuran. Tahap selanjutnya adalah pengeringan, metode pengeringan dilakukan dengan menjemur simplisia di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam untuk mencegah sinar UV secara langsung sampai tingkat kerapuhan yang sesuai (Rauhul dkk, 2017).

Pembuatan Ekstrak

Sampel daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) yang telah kering ditimbang sebanyak 500 gr dan di ekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% hingga semua sampel terendam. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam pada temperatur ruangan (kamar). Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ekstrak hasil maserasi dipekatkan dengan rotary vacum evaporator kemudian ekstrak dikentalkan dengan waterbath sampai diperoleh ekstrak yang kental (Rauhul dkk, 2017).

Penetapan IC₅₀

Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH (1,1- difenil-2-picrylhidrazil) sebanyak 3,9 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml methanol p.a dengan menggunakan labu ukur. Larutan dijaga pada suhu kamar, terlindung dari cahaya untuk segera digunakan.

Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

Sebanyak 2 ml larutan DPPH 0,1 Mm dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dicukupkan volumenya dengan methanol p.a. Larutan ini kemudian dipindahkan dalam wadah gelas coklat dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan amati absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-visibel. Diperoleh panjang gelombang

maksimum DPPH yaitu 517 nm.

Pengukuran aktivitas antioksidan

5 mg ekstrak etanol dilarutkan dengan 50 ml methanol p.a, campur dan rendam selama 24 jam, Saring dengan kertas saring. Selanjutnya dibuat larutan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Campur, Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan standar pembanding

Timbang vitamin C sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan dengan 50 ml methanol p.a, campur dan rendam selama 24 jam, saring dengan kertas saring. Selanjutnya dibuat larutan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 ml larutan vitamin c dari berbagai konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Zuhra dkk, 2008).

Uji Toksisitas Akut

Persiapan hewan uji

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan umur 2-3 bulan dengan berat antara 20-30 gram sebanyak 20 ekor (4 kelompok). Mencit diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi makan dan minum yang cukup yang bertujuan untuk mengadaptasi hewan uji.

Persiapan dosis uji

Dosis ekstrak daun nangka yang diberikan pada mencit putih jantan adalah 100 mg/KgBB, 150 mg/KgBB, dan 200 mg/KgBB yang diberikan secara oral.

Tahap Pengujian

Mencit dibagi kedalam 4 kelompok uji, yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok 1 sebagai

kontrol dengan perlakuan pemberian *aquadest* secara oral, kelompok 2 diberi perlakuan ekstrak dengan dosis 100mg/30gBB, kelompok 3 diberi perlakuan dengan dosis ekstrak 150mg/30gBB, kelompok 4 diberi perlakuan dosis ekstrak sebesar 200mg/30gBB.

Penentuan Nilai LD₅₀ dan Pengamatan Gejala Toksik

Nilai LD₅₀ ditentukan dengan menghitung jumlah kematian hewan uji selama 24 jam yang disebabkan oleh pemberian tunggal sediaan uji pada kelompok mencit dengan dosis 100 mg/30gBB, 150 mg/30gBB, dan 200 mg/30gBB. Pengamatan gejala toksisitas dilakukan 3 jam setelah pemberian ekstrak dengan melihat gejala konvulsi (kejang), tremor (gemetar), letargi (kelesuan), diare dan mati.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan *one way ANOVA* (*Analysis Of Variance*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi bagian tanaman berupa daun nangka dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram pada tanggal 26 agustus 2019. Hasil determinasi didapatkan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah benar daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*).

Daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus Lam*) diperoleh dari Kecamatan Gunungsari Kabupaten Lombok Barat NTB. Pemilihan daun berdasarkan kesegaran, berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, Pemanenan dilakukan pada saat siang hari untuk menjaga kualitas dari zat aktif. Selanjutnya dilakukan pencucian, perajangan, pengeringan, perubahan ukuran partikel dengan cara di blender dan penyarian menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Pemilihan pelarut didasari pada sifat kepolaran senyawa flavonoid dimana mengacu pada prinsip "*like dissolved like*".

Hasil Pengukuran Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui apakah daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam*) terbukti memiliki aktivitas pengikatan terhadap radikal bebas. Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun nangka. Antioksidan sendiri merupakan senyawa yang mampu menangkal efek negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Holistic Health Solution, 2011).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Senyawa DPPH merupakan sebuah molekul yang mengandung senyawa radikal bebas nitrogen yang tidak stabil yang dapat mengikat ion hidrogen sehingga digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan. Adanya senyawa antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat. Perubahan warna ini terjadi karena DPPH mengalami reduksi sehingga menyebabkan elektron menjadi berpasangan. Dalam penelitian ini vitamin C digunakan sebagai pembanding karena memiliki aktivitas antioksidan yang baik (Pratimasari, 2009).

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak etanol daun nangka diperoleh IC₅₀ sebesar 58,58 ppm sedangkan vitamin C diperoleh IC₅₀ sebesar 41,39 ppm. Hal ini berarti aktivitas antioksidan dari daun nangka lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh lama waktu maserasi. Semakin lama waktu maserasi, semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh artinya semakin besar aktivitas antioksidannya (Ramadhan, 2015). Berikut hasil perhitungan IC₅₀ dapat dilihat pada

Tabel 1.

No	Kode Sampel	Kons.Sampel (µg/ml)	Abs	% Inhibisi	Persamaan (Y = lx+a)	ES 50 (µg/ml)
1	Ekstrak Daun Nangka	50,0	0,515	49,66	Y = 0.1196x + 42.994 R ² = 0.988	58,58
2		100,0	0,465	54,55		
3		150,0	0,414	59,53		
4		200,0	0,325	68,23		
5		250,0	0,279	72,73		
1	Vit C	20,0	0,602	41,15	Y = 0.4557x + 31.219 R ² = 0.9877	41,39
2		40,0	0,524	48,78		
3		60,0	0,425	58,46		
4		80,0	0,350	65,79		
5		100,0	0,225	78,01		

Tabel 1. Hasil perhitungan IC50 dari ekstrak etanol daun nangka dan vitamin C

Uji Toksisitas

Uji toksisitas perlu dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dari ekstrak daun nangka sebagai antioksidan. Uji ini dilakukan dengan melihat parameter LD₅₀, dimana menggunakan perlakuan hewan ujie mencit jantan yang sebelumnya telah diaklimatisasi selama 1 minggu yang bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana laboratorium dan untuk menghilangkan stres akibat transportasi. Kemudian hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok, yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, dari hasil uji pendahuluan, ditentukan rentang dosis yang digunakan untuk uji toksisitas sebagai berikut, kelompok 1 (kontrol) diberi aquadest dan kelompok perlakuan dosis I (100mg/30gBB mencit), dosis II (150mg/30gBB mencit), dosis III (200mg/30gBB mencit). Pemberian ekstrak dilakukan secara oral menggunakan sonde, pengamatan gejala toksik dilakukan dengan melihat parameter gejala konvulsi (kejang), tremor (gemetar), letargi (kelesuan), diare dan mati. Pengamatan dilakukan selama 7 hari, 3 jam setelah pemberian perlakuan dosis ekstrak.

Kematian mencit dimulai dari dosis tertinggi yaitu 200mg/30gBB atau kelompok IV pada hari pertama, kemudian pada hari ke dua dan tiga tidak ada terjadinya kematian pada hewan uji. Pada hari ke 4 pengujian terdapat 1 hewan uji yang mati pada kelompok IV namun, kematian hewan uji tersebut tidak disebabkan oleh pengaruh pemberian ekstrak melainkan gigitan dari mencit lainnya. Kemudian pada hari ke 5 terdapat 1 mencit yg mati pada kelompok III

dan 1 pada kelompok IV. Pada hari ke enam terdapat 4 hewan uji yang mati, yaitu pada kelompok perlakuan 150mg/30gBB atau kelompok III terdapat 3 hewan uji yang mati dan kelompok perlakuan 200mg/30gBB atau kelompok IV terdapat 1 hewan uji yang mati. Pada hari ke 7 tidak ada 1 pun hewan uji yang mati, hasil pengamatan dapat dilihat pada (Tabel 2.)

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas

No	Kelompok	Jumlah mencit	Dosis (mg/30gBB mencit)	Jumlah kematian/hari							Rata-rata kematian	
				1	2	3	4	5	6	7		
1	Kontrol	5 ekor	Aquadest	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	II	5 ekor	100mg/30g BB mencit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	III	5 ekor	50mg/30g BB mencit	-	-	-	-	1	3	-	-	4 ekor
4	IV	5 ekor	200mg/30g BB mencit	1	-	-	-	1	1	-	-	3 ekor

Hasil Analisis Data

Hasil dari penelitian ini dianalisis menggunakan analisa varian one way ANOVA dengan menggunakan program SPSS. Pertama dengan menguji kesamaan varian (uji homogenitas), berdasarkan output SPSS pada tabel diatas diperoleh *levene statistic* sebesar 8.711 dengan signifikansi/probabilitas sebesar .000, karena nilai uji homogenitas diatas signifikansi .000 sehingga (P<0.05) sehingga homogenitas tidak terpenuhi maka dilanjutkan dengan anova. Dalam penelitian ini, diketahui nilai sig sebesar 0.228 yang berarti (P>0.05) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara masing-masing perlakuan. Lalu dilanjutkan dengan *post hoc test*. Diperoleh interpretasi baris perbandingan perlakuan kontrol positif dan pemberian dosis 100mg memiliki perbedaan nilai rata-rata sebesar 0.00 dengan nilai probabilitas sebesar 1.000 (sig>0.05) sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan kontrol dengan pemberian dosis 100mg. Selanjutnya dilakukan uji homogeneous subsets, uji ini sebenarnya rangkuman dari tabel *post hoc test* untuk melihat kesamaan rata-rata menggunakan *output Tukey HSD*. Pada subset antara kelompok kontrol dan perlakuan 100mg menunjukkan tidak ada perbedaan. signifikan. Namun, jika dibandingkan dengan

kelompok perlakuan 100mg, 150mg dan 200mg mempunyai perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *One Way ANOVA* maka diperoleh nilai nilai LD₅₀ ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus lam*) pada rentang dosis 150mg dan 200mg.

KESIMPULAN

Dari penelitian uji laboratorium yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam*) maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam*) memiliki aktifitas sebagai antioksidan, ini ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 58,58 ppm.
2. Ekstrak etanol daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam*) dapat digunakan sebagai alternatif antioksidan alami.
3. Berdasarkan dari tingkatan toksisitas harga/nilai LD₅₀ yang diujikan pada mencit jantan, ekstrak etanol daun nangka (*artocarpus heterophyllus lam*) dalam penelitian ini termasuk dalam kategori toksik dengan range dosis sekitar 150mg/30gBB -200mg/30gBB.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*,1,3, Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Asmaliani, ira., Lwo, Maria Immaculata. 2016. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Dari Ekstrak Metanol Daun Nangka (Artocarpus Heterophyllus Lam) Terhadap Tikus yang Diinduksi Karagenan Lambda..*. Fakultas farmasi UMI Makasar dan ITB.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

DiPasquale LC, Hayes AW. 2001. *Acute Toxicity and Eye Irritancy in Principles and Methods of Toxicology*.4th Ed. Philadelphia:Taylor and Francis

Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar*, Laboatorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, UGM, Yogyakarta

Dyta, P.S., 2011, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (artocarpus heterophyllus) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa*, Skripsi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta

Gordon, M.H 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. Didalam : B.J.F Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsvier Applied Science, London.

Hanani, E, A. Mun`im, R. Sekarini, 2005, *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia SP Dari Kepulauan Seribu*, Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol II, No 3.

Handajani. (2010). *Gizi dan penyakit degeneratif*. Makasar: FKM UNHAS

Hidayat, A.Aziz Alimul, 2010. *Metode Penelitian Kesehatan Paradigma Kuantitatif*, Surabaya: Penerbit Health Books Publishing.

Holistic Health Solution. (2011). *Khasiat Fantastis Kulit Manggis*. Grasindo, Jakarta : 17-71

Katzung, Bertram G. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Buku ke 3 Edisi 8, Jakarta: Penerbit Salemba Medika

Marianne, Yuandani, dan Rosnani, 2011, *Antidiabetic Activity From Ethanol Extract Of Kluwih's Leaf (Artocarpus Camansi)*, *Jurnal Natural*, 11 (2): 64-68

Murray R.K., Granner D.K., and Rodwell V.W., 2009, *Biokimia Harper*, Diterjemahkan Oleh Andri Hartono, Edisi 27, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta

Ozyurt, D, 2005, *Determination Of Total Antioxidant Capacity By a New Spectrophotometric Method Based On Ce (IV) Reducing Capacity measurement*, Diakses Tanggal 18 Mei 2010.

- Parwata, I Made Oka Adi. 2015. *Antioksidan, Bahan Ajar Uji Bioaktivitas*. Kimia Terapan Program Pasca Sarjana Universitas Udayana.
- Pinnell, SR. 2003. Cutaneous Photodamage, Oxidative Stress, and Topical Antioxidant Protection. *J Am Acad Dermatol. Vol 48. 1-19*.
- Priyanto. 2010. *Toksikologi* Ed: 2. Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Ramadhan, P., 2015, *Mengenal Antioksidan*, Cetakan Pertama, Graha Ilmu, Yogyakarta