



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus
altilis*) TERHADAP LARVA ARTEMIA SALINA LEACH DENGAN
METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)**

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh

Program Pendidikan Sarjana

Fakultas Kedokteran

Oleh:

Ahmad Nur Ramadhani

G2A 005 006

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2009

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus
altilis*) TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)**

Yang Disusun Oleh:

Ahmad Nur Ramadhani

G2A 005 006

Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya
Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 22
Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

TIM PENGUJI LAPORAN AKHIR KTI

Penguji,

Dosen Pembimbing,

Dra. Endang Sri Sunarsih, Apt, M.Kes.

NIP. 131 474 328

Drs. Suhardjono, Apt, Msi.

NIP. 130 937 451

Ketua Penguji,

Drs. Gunardi, Apt, MS.

NIP. 131 673 428

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
ABSTRAK	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang.....	1
B. Perumusan masalah.....	2
C. Tujuan.....	3
D. Manfaat hasil.....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Artocarpus altilis</i>	4
1. Taksonomi tanaman <i>Artocarpus altilis</i>	4
2. Morfologi.....	4
3. Kandungan kimia.....	6
4. Khasiat.....	6
5. Efek biologi dan farmakologi.....	6
B Tinjauan Tentang Toksikologi.....	9
C. Brine shimp lethality test	11
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	
A. Kerangka Teori.....	12

B. Kerangka Konsep.....	13
C. Hipotesis.....	13

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

A. Ruang lingkup penelitian.....	14
B. Waktu dan lokasi penelitian.....	14
C. Jenis penelitian.....	14
D. Populasi dan sampel.....	14
1.Populasi.....	14
2.Sampel.....	14
2.1. Kriteria inklusi.....	14
2.2. Kriteria eksklusi.....	15
2.3. Besar sampel.....	15
2.4. Cara pengambilan sampel.....	15
E. Variabel penelitian.....	15
1. Variabel bebas.....	15
2. Variabel tergantung.....	15
F. Alat dan bahan.....	16
G. Cara kerja.....	16
H. Data yang dikumpulkan.....	18
I. Alur penelitian.....	19
J. Validitas dan reliabilitas.....	20
K. Definisi operasional variabel.....	20
L. Analisis data.....	21

BAB V HASIL PENELITIAN.....	22
BAB VI PEMBAHASAN.....	24
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN.....	31

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)
Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp
Lethality Test (BST)**

Ahmad Nur Ramadhani¹, Suhardjono²

ABSTRAK

Latar belakang: Daun sukun (*Artocarpus altilis*) adalah salah satu obat tradisional yang telah banyak dikenal masyarakat Indonesia. Flavonoid, artoindonesianin dan quercetin merupakan kandungan kimia daun sukun yang berkhasiat sebagai pengobatan. Senyawa tersebut diduga dapat bersifat toksik dalam kadar tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas akut pada ekstrak etanol daun sukun menurut metode Brine Shrimp lethality Test (BST).

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *Post Test Only Control Group Design*. Jumlah sampel total yang diperlukan adalah 250 ekor larva. Sepuluh ekor larva diberikan pada tiap kelompok dari 5 kelompok perlakuan dengan replikasi 5 kali. Masing-masing kelompok diberi berturut-turut 6000, 3000, 1500, 720 dan 0 µg/ml ekstrak daun sukun. Sedangkan kelompok kelima sebagai kontrol negatif. Data diperoleh dari menghitung jumlah larva yang mati 24 jam setelah perlakuan. Berdasarkan data, LC 50 ekstrak etanol daun sukun ditentukan dengan analisis probit menggunakan *SPSS 15.0 for windows*.

Hasil penelitian: Penelitian ini menunjukkan tidak adanya hubungan yang berarti antara ekstrak daun sukun yang diberikan dengan kematian larva. Hasil dari analisis probit menunjukkan harga LC 50 dari ekstrak etanol daun sukun adalah 3608.893 µg/ml.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak etanol daun sukun pada penelitian ini, menunjukkan tidak adanya efek toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach menurut metode BST. Hal ini ditunjukkan dengan harga LC 50 >1000 µg/ml.

Kata kunci: *Artocarpus altilis*, *brine shrimp lethality test*, toksisitas akut

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

² Staf Pengajar, Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

***Acute Toxicity Test Of Etanol Extract Of The sukun Leaves (Artocarpus altilis.)
Toward Artemia salina Leach Using Brine Shrimp Lethality Test (BST) Method***

Ahmad Nur Ramadhani¹, Suhardjono²

ABSTRACT

Background: *Sukun is a well known herbal plant in Indonesia. Flavonoid, Artoindosianin dan quercetin are chemical substance of sukun leaves that has therapeutical effect. Those compounds presumably can be toxic in some level. The goal of this study is to find out acute toxicity potency of etanol extract of the sukun leaves with Brine Shrimp Lethality Test (BST).*

Method: *This research was an experimental research using post test-only control group design. Total samples were 250 Brine shrimp (Artemia salina Leach) larvae. Ten larvae were used in each 5 groups with 5 times replication. Each group was consecutively given 6000, 3000, 1500, 720 and 0 µg/ml leaves extraction of sukun. The fifth group was used as negative control. Data have been obtained by calculating amount of died larvae 24 hours after treatment. Through the data, LC₅₀ value was analyzed by probit analysis using SPSS 15.0 for windows.*

Result: *This experimental result indicated no significant correlation between concentrations of sukun extract and larvae's death. The result of probit analysis indicated that LC₅₀ value of leaves extraction of sukun was 3608.893 µg/ml.*

Conclusion: *The administering of leaves extraction of sukun, in this research, had no acute toxicity effect to Artemia salina larvae according to BST method. It's indicated by LC₅₀ value more than 1000 µg/ml.*

Key words: *Artocarpus altilis, brine shrimp lethality test, acute toxicity.*

¹ Undergraduate student, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

² Lecturer, Department of Pharmacy, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat tradisional telah lama dikenal dan digunakan oleh masyarakat Indonesia.. Obat tradisional lebih mudah diterima oleh masyarakat karena selain telah akrab dengan masyarakat, obat ini lebih murah dan mudah didapat.^{1,2}

Sementara ini banyak orang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintesis. Walaupun demikian bukan berarti tanaman obat atau obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, bila penggunaannya kurang tepat. Agar penggunaannya optimal, perlu diketahui informasi yang memadai tentang kelebihan dan kelemahan serta kemungkinan penyalahgunaan obat tradisional dan tanaman obat.²

Salah satu tanaman di Indonesia yang diterima oleh masyarakat adalah tanaman sukun atau yang disebut dengan *Artocarpus altilis*. *Artocarpus altilis* dapat dimanfaatkan untuk keperluan kehidupan manusia. Buahnya dapat dijadikan pangan alternatif karena keberadaannya tidak seiring dengan pangan konvensional (beras), artinya keberadaan pangan ini dapat menutupi kekosongan produksi pangan konvensional. Selain untuk pangan alternatif, sukun juga dapat dibuat minuman untuk obat penyakit, terutama adalah daunnya. Daun sukun efektif mengobati penyakit seperti liver,

hepatitis, pembesaran limpa, jantung, ginjal, tekanan darah tinggi dan kencing manis, karena mengandung phenol, quercetin, dan champorol dan juga dapat digunakan sebagai bahan ramuan obat penyembuh kulit yang bengkak atau gatal-gatal.^{3,4,6,7}

Tulisan-tulisan ilmiah mengenai tanaman sukun masih sangat terbatas, terutama daunnya yang sangat bermanfaat untuk kesehatan.. Hal ini patut disayangkan karena tanaman sukun dan khasiatnya sudah sangat akrab di kehidupan masyarakat.^{1,2}

Penelitian yang akan dilakukan meliputi uji toksisitas akut dari ekstrak daun sukun menggunakan metode *Brine Shimp Lethality Test* (BST). Bentuk ekstrak dipilih dengan harapan untuk menghilangkan variabel umum, iklim waktu pengambilan daun sukun tersebut. Uji toksisitas ini akan dilakukan pada larva *Artemia salina Leach (brine shimp)*^{8,9,10}.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

- Apakah kandungan zat aktif dalam ekstrak etanol daun sukun mempunyai potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina Leach*?

C. Tujuan

1. Tujuan Umum

Mengetahui potensi toksisitas akut pada ekstrak etanol daun sukun menurut metode Brine Shrimp lethality Test (BST).

2. Tujuan Khusus

Menentukan nilai LC 50 larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak etanol daun sukun.

D. Manfaat Hasil

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan informasi tentang efek sitotoksik ekstrak etanol daun sukun sebagai obat berbagai penyakit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Artocarpus altilis*

Tanaman sukun, *Artocarpus altilis* Park dapat digolongkan menjadi sukun yang berbiji disebut *breadnut* dan yang tanpa biji disebut *breadfruit*. Sukun tergolong tanaman tropik sejati, tumbuh yang paling baik di dataran rendah yang panas. Tanaman ini tumbuh baik di daerah basah, tetapi juga dapat tumbuh di daerah yang sangat kering asalkan ada air tanah dan aerasi tanah yang cukup. Sukun bahkan dapat tumbuh baik di pulau karang dan di pantai. Di musim kering, di saat tanaman lain tidak dapat atau merosot produksinya, justru sukun dapat tumbuh dan berbuah dengan lebat.^{3,4}

Di Indonesia, daerah penyebaran hampir merata di seluruh daerah, terutama Jawa Tengah dan Jawa Timur. Mengingat penyebaran sukun terdapat di sebagian besar kepulauan Indonesia, serta jarang terserang hama dan penyakit yang membahayakan, maka hal ini memungkinkan sukun untuk dikembangkan. Beberapa sinonim: *Artocarpus communis*, *Artocarpus communis* Forst, *breadfruit*, *Artocarpus incisa* L. f. ; *A. altilis* (Park.) Fosberg^{3,4}

1. Taksonomi Tanaman *Artocarpus altilis*

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>

Bangsa	: <i>Urticales</i>
Suku	: <i>Moraceae</i>
Marga	: <i>Artocarpus</i>
Jenis	: <i>Artocarpus altilis</i>

2. Morfologi

Habitus	Pohon tinggi mencapai 30 m, dengan stek umumnya pendek dan bercabang rendah. Buah yang tidak bermusim, namun mengalami puncak pengeluaran buah dan bunganya dua tahun sekali.
Batang	Batangnya besar, agak lunak dan bergetah banyak. Bercabang banyak, pertumbuhan cenderung ke atas. Permukaan kasar, coklat, tingginya mencapai 20 meter. Kayunya lunak dan kulit kayu sedikit kasar.
Daun	Daunnya lebar sekali, bercanggap menjari dan berbulu kasar. Tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip tebal, permukaan kasar hijau.
Bunga	Bunga-bunga sukun berkelamin tunggal (bunga betina dan bunga jantan terpisah), tetapi berumah satu. Bunganya keluar dari ketiak daun pada ujung cabang dan ranting. Bunga jantan berbentuk tongkat

panjang disebut ontel, panjang 10-20 cm berwarna kuning. Bunga wanita berbentuk bulat bertangkai pendek (babal) seperti pada nangka. Kulit buah menonjol rata sehingga tampak tidak jelas yang merupakan bekas putik dari bunga sinkarpik.

Buah Buah sukun terbentuk dari keseluruhan jambak bunganya. Buahnya terbentuk bulat atau sedikit bujur. Ukuran garis pusatnya ialah diantara 10 hingga 30 cm. Berat normal buah sukun ialah diantara 1 hingga 3 kg. ia mempunyai kulit yang berwarna hijau kekuningan dan terdapat segmen-segmen petak berbentuk polygonal pada kulitnya. Segmen polygonal ini dapat menentukan tahap kematangan buah sukun. Polygonal yang lebih besar menandakan buahnya telah matang manakala buah yang belum matang mempunyai segmen-segmen polygonal yang lebih kecil dan lebih padat. Buah-buah sukun mirip dengan buah keluwih (timbul). Perbedaannya adalah duri buah sukun tumpul, bahkan tidak tampak pada permukaan buahnya.

Biji Berbentuk ginjal, panjang 3-5 cm, berwarna hitam.

Akar Akar tanaman sukun mempunyai akar tunggang yang dalam dan akar samping yang dangkal. Akar samping

dapat tumbuh tunas yang sering digunakan untuk bibit.

3. Kandungan Kimia

Daun tanaman sukun mengandung beberapa zat berkhasiat seperti saponin, polifenol, asam hidrosianat, asetilcolin, tanin, riboflavin, phenol. Daun tanaman ini juga mengandung quercetin, champorol dan artoindonesianin. Dimana artoindonesianin dan quercetin adalah kelompok senyawa dari flavonoid.^{3,7}

4. Khasiat

Daun sukun efektif mengobati penyakit seperti liver, hepatitis, pembesaran limpa, jantung, ginjal, tekanan darah tinggi, kencing manis dan juga bisa untuk penyembuh kulit yang bengkak atau gatal-gatal.^{3,5,6,7} Ada juga yang memanfaatkan batangnya untuk obat mencairkan darah bagi wanita yang baru 8-10 hari melahirkan. Zat-zat yang terkandung di daunnya pun juga bisa mampu untuk mengatasi peradangan.

5. Efek Biologi dan Farmakologi

Kandungan kimia dari pohon nangka-nangkaan yang diteliti menghasilkan lebih dari 100 senyawa kimia baru. Salah satu contohnya adalah artoindonesianin. Nama ini telah menjadi nama trivial yang dipublikasikan pada *Journal of Natural Product* (Amerika Serikat).

Artoindonesianin (berasal dari kata *Artocarpus* dan Indonesia) mungkin memiliki makna harfiah nangka Indonesia atau senyawa kimia dari

nangka yang ditemukan pertama kali oleh orang Indonesia atau senyawa kimia dari nangka hasil riset yang didanai rakyat Indonesia.

Artoindonesianin adalah senyawa kimia dari kelompok senyawa flavonoid dengan kerangka dasar dibentuk dari molekul artoindonesianin E yang terprenilasi, teroksigenasi, dan/atau tersiklisasi. Senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa-senyawa flavonoid dan turunannya dari tanaman nangka-nangkaan memiliki fungsi fisiologi tertentu. Ada dua kategori fungsi fisiologi senyawa flavonoid tanaman nangka-nangkaan berdasarkan sebarannya di Indonesia. Tanaman nangka-nangkaan yang tumbuh di Indonesia bagian barat, produksi senyawa flavanoid diduga berfungsi sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antimikroba atau antibakteri) bagi tanaman.³

Studi molekuler lebih lanjut mengenai kerja artoindonesianin juga sedang dilakukan. Seperti diketahui, kebanyakan sel-sel kanker (tumor ganas) manusia atau penyakit serius lainnya secara molekuler selalu dihubungkan dengan kegagalan fosforilasi protein yang disebabkan oleh aktivasi berlebih atau ekspresi berlebih dari protein kinase atau hilangnya inhibitor sel.

Oleh karena itu, eksplorasi artoindonesianin sebagai inhibitor protein kinase sangat membantu penemuan obat-obat antikanker baru. Untuk itu, dukungan finansial dari pemerintah atau industri obat terhadap riset ini perlu digalakkan sehingga obat-obat tradisional kita bisa menjadi tuan rumah di rumah sendiri dan teruji secara ilmiah.^{7,13}

Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Pertama, flavonoid sebagai oksidan yakni melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker.^{14,15,16} Mekanisme apoptosis sel pada teori ini merupakan akibat fragmentasi DNA.^{15,16} Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil.^{17,18} Senyawa ini terbentuk dari reaksi redoks Cu(II). Senyawa tembaga ini dimobilisasi oleh flavonoid baik dari ekstra sel maupun intra sel terutama dari kromatin.¹⁷ Kedua, flavonoid sebagai antioksidan.^{19,20,21} Efek antioksidan flavonoid terutama berupa proteksi terhadap *Reactive Oxygen Species* (ROS).²² Ketiga, flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Keempat, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan.

Sedangkan quercetin merupakan turunan dari flavonoid, khususnya yang flavonol, digunakan sebagai suplemen gizi. American Cancer Society mengatakan bahwa quercetin telah dipromosikan sebagai efektif terhadap berbagai jenis penyakit, termasuk kanker. Sementara beberapa hasil laboratorium awal muncul menjanjikan, namun sampai tidak ada bukti klinis yang handal bahwa quercetin dapat mencegah atau mengobati kanker pada manusia. Dalam jumlah yang dikonsumsi dalam makanan yang sehat, quercetin ini tidak akan menimbulkan masalah besar apapun.^{23,24}

B. Tinjauan tentang toksikologi

Pada awal mulanya toksikologi didefinisikan sebagai ilmu tentang racun. pada saat itu pengertian racun masih dipisahkan dengan makanan. Bahan pangan atau zat kimia yang dengan jelas berbahaya bagi tubuh disebut racun, sedangkan yang bermanfaat bagi tubuh disebut makanan.^{25,26}

Untuk meneliti berbagai macam efek yang berhubungan dengan masa pemejanaan, uji toksikologi dibagi menjadi tiga kategori yaitu :

1. Uji Toksisitas Akut. Uji ini dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam masa pemejanaan dengan waktu yang singkat atau pemberiannya dengan takaran tertentu. Uji ini dilakukan dengan cara pemberian konsentrasi tunggal senyawa uji pada hewan uji. Takaran konsentrasi yang dianjurkan paling tidak empat peringkat konsentrasi, berkisar dari konsentrasi terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan konsentrasi tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji. Biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari.^{25,26}
2. Uji Toksisitas Subkronis atau Subakut, dilakukan dengan memberikn zat kimia yang sedang diuji tersebut secara berulang-ulang terhadap hewan uji selama kurang dari 3 bulan. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spectrum efek toksik senyawa uji, serta untuk

melihatkan apakah spectrum toksik itu berkaitan dengan takaran konsentrasi.^{25,26}

3. Uji Toksisitas Kronis, dilakukan dengan memberikan zat kimia secara berulang-ulang pada hewan uji selama lebih dari 3 bulan atau sebagian besar dari hidupnya. Meskipun pada penelitian digunakan waktu lebih pendek, tetapi tetap lebih lambat dibandingkan Uji Toksisitas Akut maupun Uji Toksisitas Sub Akut.^{25,26}

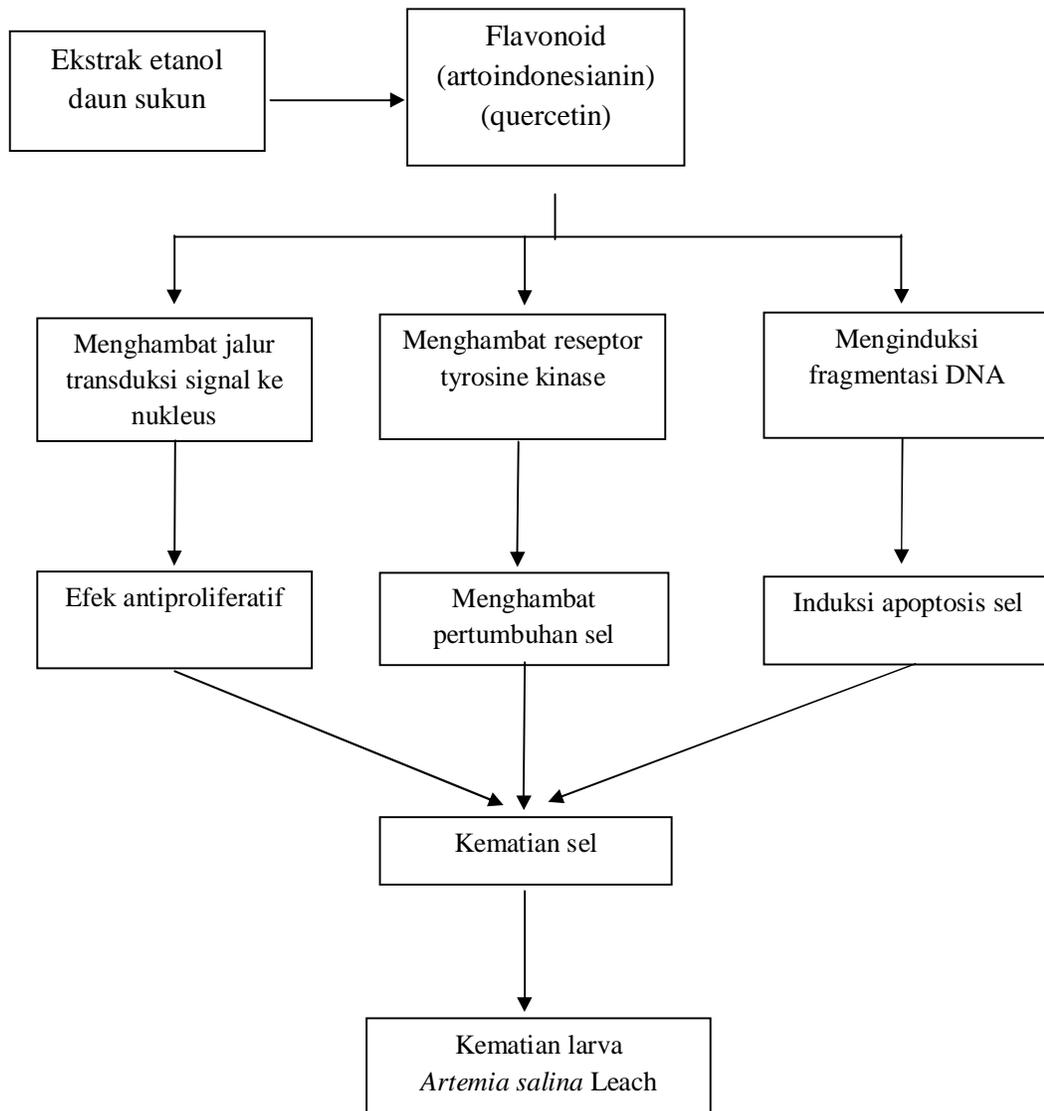
C. *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality test (BST) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina Leach* sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BST ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC 50 dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina Leach*. Suatu ekstrak dikatakan aktif sebagai antikanker berdasarkan metode BST jika harga LC < 1000 µg/ ml. Penelitian Carballo dkk menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara sitotoksitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman. Metode BST dapat dipercaya untuk menguji aktivitas toksikologi dari bahan-bahan alami.^{9,10}

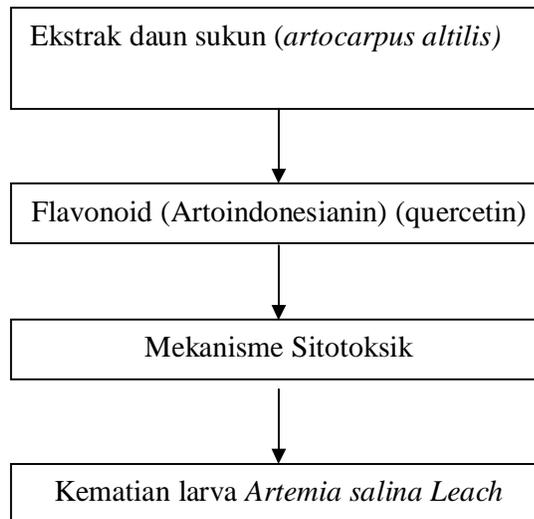
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

A. Kerangka Teori



B. Kerangka Konsep



C. Hipotesis

1. Hipotesis Mayor

Ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) mempunyai potensi toksisitas akut.

2. Hipotesis Minor

1. Nilai LC 50 larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak etanol daun sukun kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.
2. Ekstrak etanol daun sukun dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi bidang farmasi dan farmakologi.

B. Waktu Dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan kurang lebih selama satu minggu.

Lokasi penelitian di Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

C. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test-only control group design*. Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun sukun terhadap larva *Artemia salina Leach*.

D. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah larva *Artemia salina Leach*.

2. Sampel

2.1. Kriteria Inklusi:

- Larva *Artemia salina Leach* berumur 48 jam

- Larva yang tidak tampak cacat secara anatomi

2.2. Kriteria Eksklusi:

- Larva *Artemia salina Leach* yang tidak menunjukkan aktivitas pergerakan sebelum perlakuan.

2.3. Besar Sampel

Jumlah larva *Artemia salina Leach* yang digunakan adalah 10 ekor larva tiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini terdapat lima kelompok perlakuan dimana akan dilakukan replikasi lima kali untuk tiap kelompok perlakuan. Jadi, jumlah sampel total yang diperlukan adalah 250 ekor larva.

2.4. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan *simple random sampling* terhadap larva *Artemia salina Leach*.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sukun.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah efek sitotoksik terhadap larva *Artemia salina Leach*.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, pisau, neraca analitik, pipet, batang pengaduk kaca, lup, *vial* atau botol kaca, kain flannel hitam, kain saring, penangas air, akuarium, pengatur udara dan lampu.

.2.Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sukun dengan perbandingan konsentrasi 1:2:4:8, alkohol 70%, aquadest, larva *Artemia salina Leach*, ragi sebagai pakan larva udang, dan air laut.

G. Cara kerja

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post Test-Only Control Group Design* dan cara pengambilan sampel yaitu *Simple Random Sampling* terhadap larva *Artemia salina Leach*, karena anggota populasi telah bersifat homogen, artinya sampel larva *Artemia salina Leach* dengan jenis serta cara penyediaan yang sama, sehingga mempunyai kesempatan yang sama untuk diseleksi sebagai sampel. Sampel penelitian berupa 250 ekor larva *Artemia salina Leach*. Kriteria inklusi adalah larva berumur 48 jam dan tidak tampak cacat secara anatomi, sedangkan kriteria eksklusi yaitu larva *Artemia salina Leach* yang tidak menunjukkan aktivitas pergerakan sebelum perlakuan.

Bahan yang digunakan adalah daun sukun. Daun sukun segar dikeringkan dengan cara diletakkan di tempat terbuka dengan sirkulasi udara

yang baik dan tidak terkena langsung sinar matahari, akan tetapi ditutup oleh kain flannel hitam. Karena pada pengeringan langsung terhadap sinar matahari akan merusak komponen aktif pada daun sukun. Lalu daun sukun seberat 500 gram dipotong kecil-kecil kemudian daun diekstraksi dengan metode maserasi, dengan cara merendam daun sukun dalam pelarut alkohol 70% selama 24 jam, lalu disaring dengan kain flannel dan direndam kembali dalam alkohol 70% sampai tersari atau terekstraksi sempurna yang ditandai dengan warna alkohol menjadi bening kembali. Setelah itu, pelarut alkohol yang masih tersisa diuapkan pada penangas air atau *water bath* serta diangin-anginkan sehingga didapatkan ekstrak yang kental dengan konsentrasi 100%. Dan dihasilkan ekstrak daun sukun murni seberat 21,72 gram.

Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak yang efektif membunuh larva *Artemia salina* maka dilakukan *trial* atau orientasi dengan uji coba dengan menggunakan konsentrasi desimal, yaitu 1%;0,5%;0,2%, dan 0,1%. Setelah dilakukan *trial* atau uji orientasi, maka konsentrasi yang ditetapkan untuk perlakuan dan replikasinya adalah 0,6%, 0,3%, 0,15%, dan 0,072%.

Larva *Artemia salina* Leach ditetaskan dengan merendam telur tersebut dalam air laut, yang dilakukan 48 jam sebelum dilakukan uji di dalam akuarium dan diberi aerator atau pengatur udara. Bagian dari air laut yang tidak berisi telur larva diberi penerangan. Hal ini bertujuan agar larva yang sudah menetas bergerak menuju cahaya, sehingga terpisah dari cangkang telurnya.

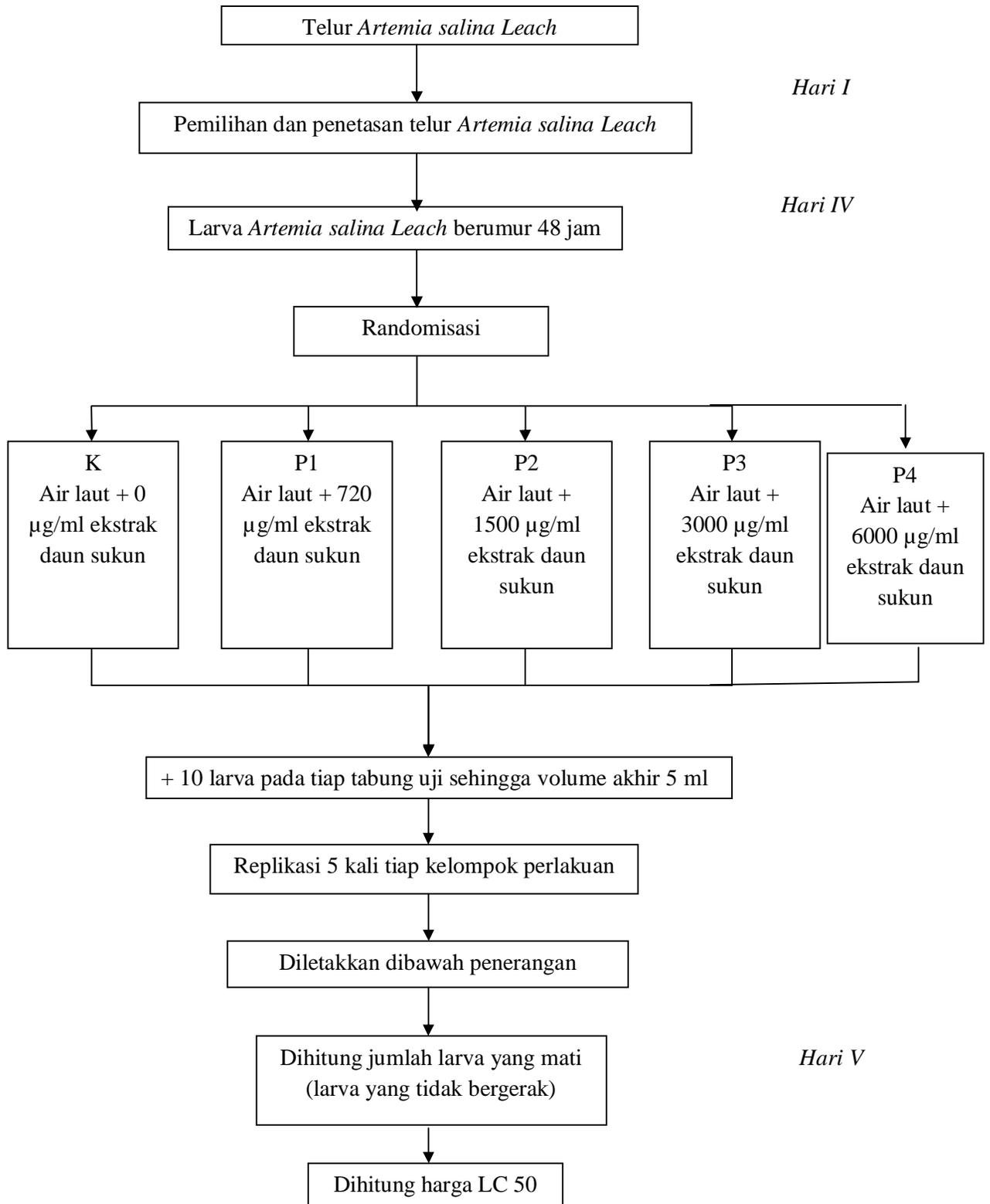
Pelaksanaan uji dilakukan dengan mula-mula menyamakan volume akhir ekstrak daun sukun dengan konsentrasi perlakuan yaitu 0,072%, 0,15%, 0,3% dan 0,6%, yang diencerkan dengan menambahkan 5 ml air laut terlebih dahulu ke dalam masing-masing tabung uji sampai ekstrak daun sukun larut, kemudian baru dimasukkan larva udang yang telah berumur 48 jam ke dalam seri tabung uji yang berisi ekstrak daun sukun yang telah disiapkan masing-masing sebanyak 10 ekor hingga volume dalam masing-masing tabung menjadi 5 ml. Tabung uji lalu diletakkan di bawah penerangan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva udang yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Setiap konsentrasi perlakuan dilakukan replikasi sebanyak lima kali.

Sebelum penelitian dilakukan, mula-mula dilakukan identifikasi terhadap daun sukun untuk mengetahui identitas taksonominya di Laboratorium Biologi FMIPA Unnes. Begitu pula dilakukan identifikasi terhadap air laut yang akan digunakan untuk larva *Artemia salina* Leach di Departemen Perikanan dan Kelautan. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa daun sukun serta air laut yang digunakan dalam penelitian adalah benar. Surat keterangan identifikasi daun sukun dapat dilihat pada Lampiran 1, sedangkan surat identifikasi air laut dapat dilihat pada Lampiran 2.

H. Data Yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak daun sukun.

I. Alur Penelitian



J. Validitas dan Reliabilitas

Validitas dijaga dengan :

1. Menyamakan kondisi larva udang.
2. Mengambil secara acak.
3. Menggunakan kriteria standar dalam menilai kematian larva udang dan menggunakan alat ukur yang sama.

Reliabilitas data dijaga dengan replikasi lima kali pada tiap uji.

K. Definisi Operasional Variabel

1. Uji toksisitas akut: uji tunggal di mana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji.
2. *Brine Shrimp Lethality Test* (BST): metode untuk uji toksisitas akut dengan menggunakan larva *Artemia salina Leach* sebagai hewan coba dan digunakan sebagai suatu *bioassay* yang sederhana untuk penelitian bahan alam.
3. *Artemia salina Leach*: sejenis udang-udangan primitif yang termasuk dalam filum *Arthropoda*.
4. Ekstrak daun sukun: sediaan yang dibuat dengan mengekstraksi daun sukun dengan menggunakan pelarut alkohol 70% dengan metode maserasi, lalu pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak yang kental.
5. LC 50 (*Lethal Concentration* 50): merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan.

L. Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak daun sukun. Setelah melewati proses *editing*, *coding*, *entry*, dan *cleaning*, data dianalisis dengan analisis probit menggunakan *SPSS 15.0 for windows* untuk mengetahui harga LC 50, serta disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Jumlah kematian larva pada setiap tabung uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak daun sukun ditunjukkan pada tabel 1. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak daun sukun pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach.

Tabel 1. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Replikasi ke-	Jumlah Kematian Larva Tiap Konsentrasi				Kontrol (-)	Volume Akhir Media
	0.6% (6000µg/ml)	0.3% (3000µg/ml)	0.15% (1500µg/ml)	0.072% (720µg/ml)		
1	9	0	4	0	0	5 ml
2	10	2	3	2	0	5 ml
3	9	1	0	0	0	5 ml
4	8	5	3	0	0	5 ml
5	10	5	2	1	0	5 ml
Total Kematian	46	13	12	3	0	
Rata-Rata	9.2	2.6	2.4	0.6	0	
Persentase Kematian	92%	26%	24%	6%	0%	

Jumlah larva tiap tabung uji dengan lima kali replikasi adalah 50 ekor. Jumlah total sampel adalah 250 ekor larva. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi, sedangkan rata-rata kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah replikasi yang dilakukan yaitu lima kali. Kemudian dihitung persentase kematian larva dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Hasil dari analisis probit dengan menggunakan *SPSS 15.0 for windows* menunjukkan harga LC 50 dari ekstrak daun sukun adalah **3608.893 µg/ml**. *Output* data dari hasil analisis probit beserta grafiknya dapat dilihat pada Lampiran 3.

BAB VI

PEMBAHASAN

Salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BST). Metode ini menggunakan larva *Artemia salina Leach* sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BST ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC 50 dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina leach*. Apabila suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga LC 50 dengan metode BST, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker. Namun, bila tidak bersifat toksik maka tanaman tersebut dapat diteliti kembali untuk mengetahui khasiat lainnya dengan menggunakan hewan coba lain yang lebih besar dari larva *Artemia salina Leach* seperti mencit dan tikus secara *in vivo*. Metode BST dapat dipercaya untuk menguji aktivitas toksikologi dari bahan-bahan alami.^{9,10}

Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksisitas akut jika mempunyai harga LC 50 kurang dari 1000 µg/ml.¹² LC 50 (*Lethal Concentration* 50) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan yaitu larva *Artemia salina Leach*.¹⁰ Pengujian terhadap ekstrak daun sukun menunjukkan harga LC 50 sebesar **3608.893 µg/ml**, sehingga dapat dikatakan ekstrak daun sukun pada percobaan ini tidak memiliki potensi

toksisitas akut menurut metode BST yaitu pada perlakuan dengan hewan coba larva *Artemia salina Leach*.

Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Pertama, flavonoid sebagai oksidan yakni melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker.^{14,15,16} Mekanisme apoptosis sel pada teori ini merupakan akibat fragmentasi DNA.^{15,16} Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil.^{17,18} Kedua, flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Ketiga, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Namun dalam penelitian ini tidak didapatkan efek yang serupa. Hal ini dapat disebabkan oleh karena pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, sedangkan flavonoid (arctindonesianin, quercetin) yang dihasilkan oleh ekstrak daun sukun bersifat larut dalam alkohol, sehingga ekstrak yang dihasilkan tidak begitu sempurna dalam melarutkan zat aktif.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian kali ini didapatkan bahwa pemberian dari ekstrak etanol daun sukun tidak memiliki potensi toksisitas akut menurut metode BST karena didapatkan nilai LC 50 dari ekstrak daun sukun lebih besar dari 1000 µg/ml.

B. Saran

Pada penelitian ini bisa disarankan untuk penelitian selanjutnya dengan menggunakan sediaan daun sukun dalam bentuk lain dan atau dengan metode ekstraksi lainnya. Dan dengan diketahuinya nilai LC 50 dari ekstrak daun sukun maka dapat digunakan untuk penelitian daun sukun sebagai obat tradisional lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hasan R, Alatas H, Latief A, Napitupulu Partogi M, Pudjadi A, Ghazali Muhammad Vinci, Putra Tulus Sukman, editor. Buku kuliah 3 ilmu kesehatan anak. 11th Ed. Jakarta : Staff Pengajar Bagian Anak FK UI. 1985: 1072-1077.
2. Anonymous. Asphyxia neonatorum. Health for children (Cited 2007, November 27). Available from URL: <http://www.healthofchildren.com/A/Asphyxia-Neonatorum>.
3. Anonymous. Program Nasional Bagi Anak Indonesia Kelompok Kesehatan. (Cited 2008, June 26). Available from URL: <http://www.bappenas.go.id>
4. Anonymous. Asphyxia neonatorum. (Cited 2007, November 27). Available from URL: <http://www.web.uct.ac.za/depts/lch/teaching/undergrad>.
5. Mohan Pammi V, Pai Pragnya M. Renal insult in asphyxia neonatorum. Indian Pediatric 2000, March 31 (Cited 2007, November 23). Available from URL: <http://www.indinpediaries.net/oct2000/oct-1102-1106.htm>
6. Ermin T, Atmodjo D, Winarno, Soemantri AG, editor. Penatalaksanaan kegawatan neonatus. Semarang: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 1991: 46-90.
7. Soemyarso Ninik, Noer M Sjaifullah. Gagal ginjal akut pada nonatus. Lab/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr Soetomo. 2004, September 24 (Cited 2007, November 27). Available from URL : [http://unmed.utah.edu/ms2/renal/word%20files/p\)%20pediatric%20nephrology.htm](http://unmed.utah.edu/ms2/renal/word%20files/p)%20pediatric%20nephrology.htm)
8. Mattoo Tej K. Acute renal failure in the newborn. Up To Date. 2007, August (Cited 2007, November 27). Available from URL: <http://patients.uptodate.com/topic.asp?file-neonatol/19738>.
9. Stapleton FB, Jones DP, Green RS. Acute renal failure in neonates : incidence, etiology, and outcome. Pediatric Research Laboratory, LeBonheur Children Medical Centre, University of Tennessee. (Cited 2007, November 24). Available from URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3153295&dopt=AbstractPlus

10. Pejovic B, Peco-Antic A, Dunjic R. Acute oliguric renal failure in hypoxic neonates born at full term. Narodni Front Hospital of Gynaecology and Obstetrics, Belgrade. (Cited 2007, November 24). Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites>
11. Jayashree G, Dutta AK, Sarna MS, Saili A. Acute renal failure in asphyxiated newborns. Neonatal division, Kalawati Saran Children's Hospital, Lady Hardinge Medical College, New Delhi. (Cited 2007, November 24). Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites>
12. Aggarwal A, Kumar P, Chowdhary G, Majumdar S, Narang A. Evaluation of renal function in asphyxiated newborns. Department of pediatrics, Postgraduate Institute of Medical Education and Research, India. (Cited 2007, November 24). Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites>
13. Karlowicz MG, Adelman RD. Nonoliguric and oliguric acute renal failure in asphyxiated term neonates. Department of Pediatrics, Eastern Virginia Medical School, Children's Hospital of The King's Daughter, USA. (Cited 2008, Maret 24). Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites>

