

Lampiran 1. Kelaikan Kode Etik (*Ethical clearance*)KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYAFAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATANJalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.idKETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 189 / EC / KEPK – S1 / 04 / 2016

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Metode Ekstraksi Sonikasi dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Aktivitas Antikanker Ekstrak Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) pada Viabilitas Sel HeLa

PENELITI : Diana Samudra Faesal

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Brawijaya Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Sentral Biomedik (LSB) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang,

29 APR 2016

An. Ketua,
Koordinator Divisi I

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpPark
NIP.19520410 198002 1 001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).



Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Hasil Ekstrak Kasar Daun Lindur *Bruguiera gymnorrhiza*

N-heksan

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat akhir sampel}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{148,87}{360} \times 100 \% \\ &= 41,35 \%\end{aligned}$$

Etil asetat

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat akhir sampel}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{179,67}{360} \times 100 \% \\ &= 49,90 \%\end{aligned}$$

Metanol

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat akhir sampel}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{194,34}{360} \times 100 \% \\ &= 53,98 \%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Kasar Daun Lindur *Bruguiera gymnorrhiza*

Kadar air dapat dihitung dengan rumus:

$$\%wb = \frac{(A + B) - C}{B} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = Berat botol timbang dan tutup

B = Berat sampel

C = Berat akhir

Adapun % kadar air yang didapatkan dari tiga pelarut yang digunakan antara lain sebagai berikut:

1. N – heksana

$$\begin{aligned} \%wb &= \frac{(A + B) - C}{B} \times 100 \% \\ &= \frac{(83,65 + 1) - 84,59}{1} \times 100 \% \\ &= 6 \% \end{aligned}$$

2. Etil asetat

$$\begin{aligned} \%wb &= \frac{(A + B) - C}{B} \times 100 \% \\ &= \frac{(86,08 + 1) - 86,90}{1} \times 100 \% \\ &= 18\% \end{aligned}$$

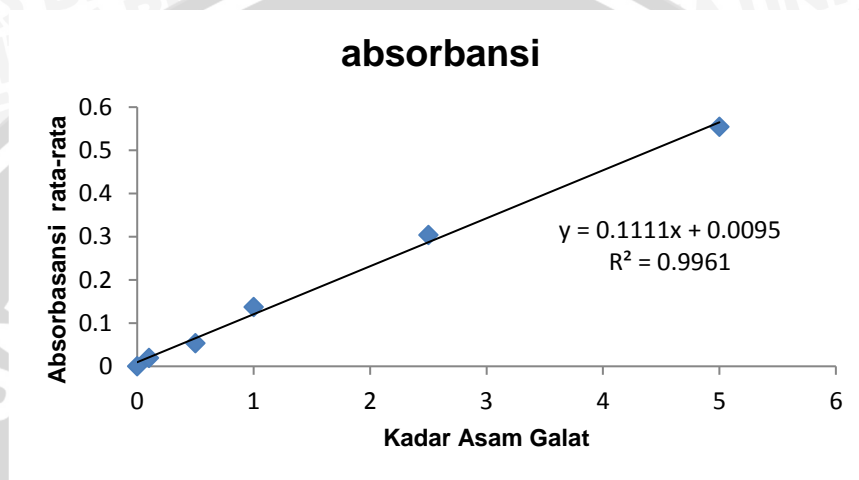
3. Metanol

$$\begin{aligned} \%wb &= \frac{(A + B) - C}{B} \times 100 \% \\ &= \frac{(83,61 + 2) - 85,23}{2} \times 100 \% \\ &= 19 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan kadar total fenol ekstrak kasar daun lindur *Bruguiera gymnorrhiza*

Tabel. Kadar total fenol ekstrak kasar daun lindur

Ekstrak	Total fenol (mg GAE/g ekstrak)
N-heksan	53,39 mg GAE/g
Etil asetat	62,39 mg GAE/g
Metanol	101,64 mg GAE/g



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Kadar Asam Galat

1. N-heksan

$$y = 0,111x + 0,009$$

$$0,175 = 0,111x + 0,009$$

$$0,111x = 0,175 - 0,009$$

$$x = \frac{0,1655}{0,111}$$

$$x = 1,495$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar equivalen} &= x \cdot 10 \text{ mL} \\ &= 1,495 \times 10 \text{ mL} \\ &= 14,95 \end{aligned}$$

$$\frac{\text{Kandungan fenol}}{\text{kadar equivalen}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{\text{bobot sampel}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$\frac{14,95 \times 10^{-3} \text{ mg GAE}}{0,28 \times 10^{-3} \text{ g}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$P = 5339,28$$

$$FP = p \times n$$



$$\frac{5339,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} \times 1$$

$$\frac{5339,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} = \frac{100 \text{ g}}{100 \text{ g}}$$

$$= 53,39 \text{ mg GAE/g}$$

2. Etil Asetat

$$y = 0,111x + 0,009$$

$$0,203 = 0,111x + 0,009$$

$$0,111x = 0,203 - 0,009$$

$$x = \frac{0,194}{0,111}$$

$$x = 1,747$$

$$\text{Kadar equivalen} = x \cdot 10 \text{ mL}$$

$$= 1,747 \times 10 \text{ mL}$$

$$= 17,47$$

$$\frac{\text{Kandungan fenol}}{\text{kadar equivalen}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$\frac{\text{bobot sampel}}{100 \text{ g}}$$

$$\frac{17,47 \times 10^{-3} \text{ mg GAE}}{0,28 \times 10^{-3} \text{ g}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$P = 6239,28$$

$$FP = p \times n$$

$$\frac{6239,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} \times 1$$

$$\frac{6239,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} = \frac{100 \text{ g}}{100 \text{ g}}$$

$$= 62,39 \text{ mg GAE/g}$$

3. Metanol

$$y = 0,111x + 0,009$$

$$0,325 = 0,111x + 0,009$$

$$0,111x = 0,325 - 0,009$$

$$x = \frac{0,3165}{0,111}$$

$$x = 2,846$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar equivalen} &= x \cdot 10 \text{ mL} \\ &= 2,846 \times 10 \text{ mL} \\ &= 28,46 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\frac{\text{Kandungan fenol}}{\text{kadar equivalen}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{\text{bobot sampel}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$\frac{28,46 \times 10^{-3} \text{ mg GAE}}{0,28 \times 10^{-3} \text{ g}} = \frac{p \times \text{mg GAE}}{100 \text{ g}}$$

$$P = 10164,28$$

$$\text{FP} = p \times n$$

$$\frac{10164,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} \times 1$$

$$\begin{aligned} \frac{10164,28 \text{ mg GAE}}{100 \text{ g}} &= \frac{100 \text{ g}}{100 \text{ g}} \\ &= 101,64 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Uji Toksisitas

1. Perlakuan M ulangan 1 (Ekstrak Metanol Daun Lindur *B. gymnorrhiza*)

Tabel. Data Uji Toksisitas Sampel M ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
M	0	0	0	0
	125	4	4	3
	250	7	5	5
	500	8	6	7
	1000	9	8	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas Artemia} = \frac{\text{Jumlah artemia mati}}{\text{Jumlah artemia uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100 \% = 70\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80\%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90\%$$

Hasil dari % kematian *Artemia* pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan M

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:

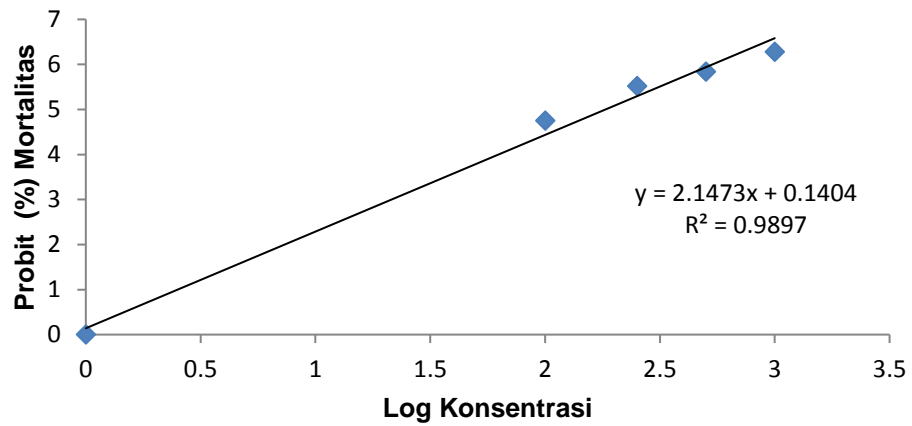
: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 40%, 70%, 80%, 90% maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0, 4,75, 5,52, 5,84 dan 6,28. Kemudian konsentrasi 0, 125, 250, 500, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 125 = 2,0, log 250 = 2,4, log 500 = 2,7, log 1000 = 3 (nilai% probit ditunjukkan dengan blok warna merah). Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % [robit mortalitas dan dimasukkan ke dalam Microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
2,0	4,75
2,4	5,52
2,7	5,84
3	6,28

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar . Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Metanol *B. gymnorrhiza* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 2,147x + 0,140$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,147 x + 0,140$$

$$5 = 2,147 x + 0,140$$

$$5 + 0,140 = 2,147 x$$

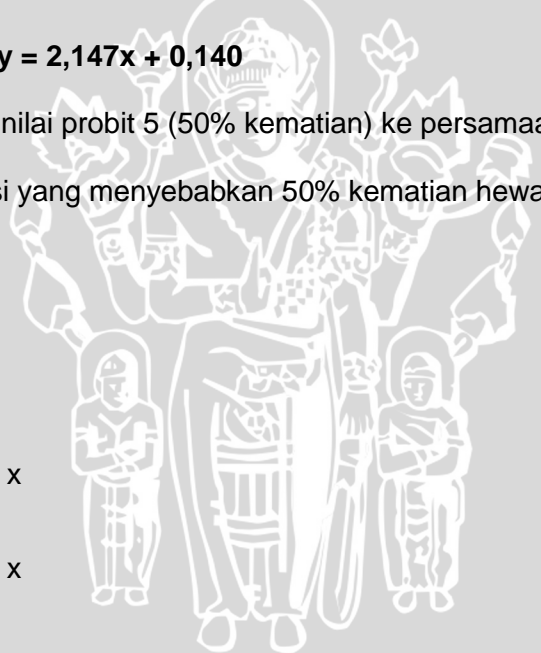
$$5,14 = 2,147 x$$

$$x = \frac{5,14}{2,147} = 2,394$$

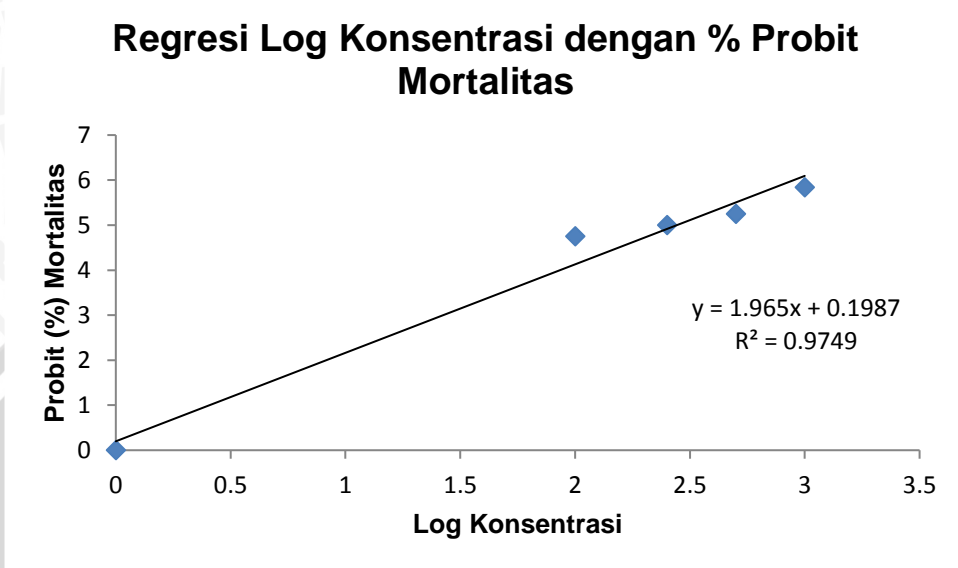
$$\text{Anti Logaritma} = 2,394$$

$$= 247,742 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 247,742 \text{ ppm}$$



Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan M ulangan 2 didapatkan persamaan sebagai berikut :



Gambar . Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Metanol *B. gymnorrhiza* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 1,965x + 0,198$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,965 x + 0,198$$

$$5 = 1,965 x + 0,198$$

$$5 + 0,198 = 1,965 x$$

$$5,198 = 1,965 x$$

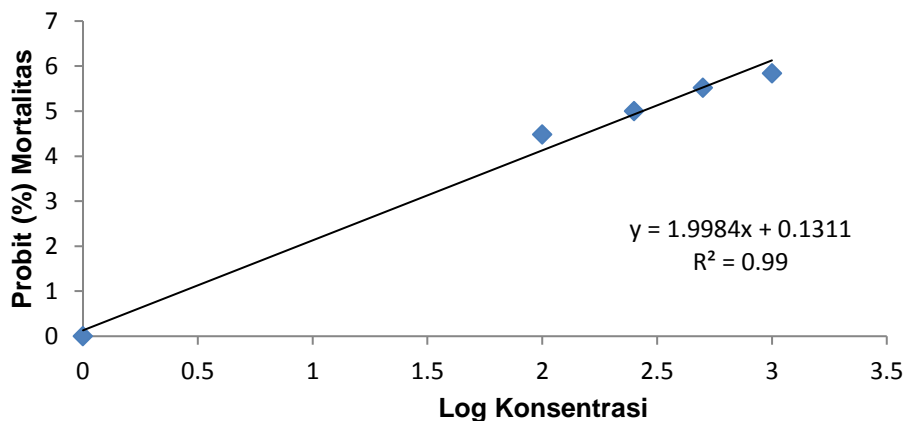
$$x = \frac{5,198}{1,965} = 2,645$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,645 = 441,570 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 441,570 \text{ ppm}$$

Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan M ulangan 3 didapatkan persamaan sebagai berikut:

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar . Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Metanol *B. gymnorhiza* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 1,998 x + 0,131$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,998 x + 0,131$$

$$5 = 1,998 x + 0,131$$

$$5 + 0,131 = 1,998 x$$

$$5,131 = 1,998 x$$

$$x = \frac{5,131}{1,998} = 2,568$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,568 = 369,828 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 369,828 \text{ ppm}$$

2. Perlakuan E ulangan 1 (Ekstrak Etil Asetat Daun Lindur *B. gymnorrhiza*)

Data. Uji Toksisitas Sampel E ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
E	0	0	0	0
	125	4	2	4
	250	5	4	5
	500	8	7	7
	1000	10	8	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas Artemia} = \frac{\text{Jumlah artemia mati}}{\text{Jumlah artemia uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{5}{10} \times 100 \% = 50\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80\%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100\%$$

Hasil dari % kematian *Artemia* pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan M

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:

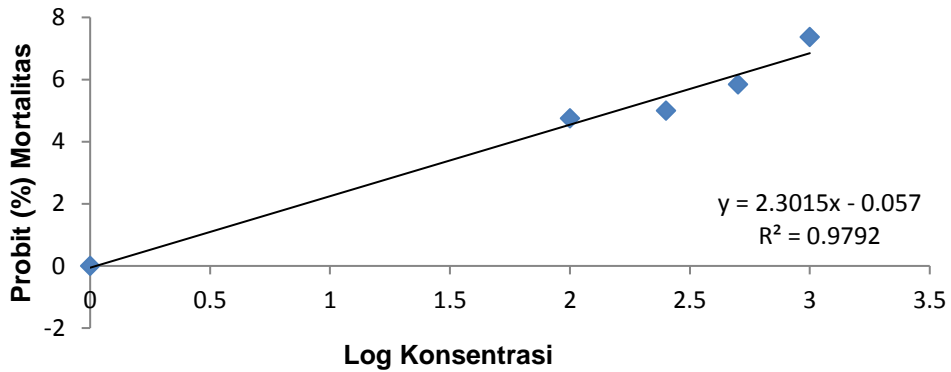
: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 40%, 50%, 80%, 100% maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0, 4,75, 5,00, 5,84, dan 7,37. Kemudian konsentrasi 0, 125, 250, 500, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 125 = 2,0, log 250 = 2,4, log 500 = 2,7, log 1000 = 3 (nilai% probit ditunjukkan dengan blok warna merah). Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam Microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
2,0	4,75
2,4	5,00
2,7	5,84
3	7,37

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil Asetat *B. gymnorrhiza* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 2,301x - 0,057$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,301 x - 0,057$$

$$5 = 2,301 x - 0,057$$

$$5 + 0,057 = 2,301 x$$

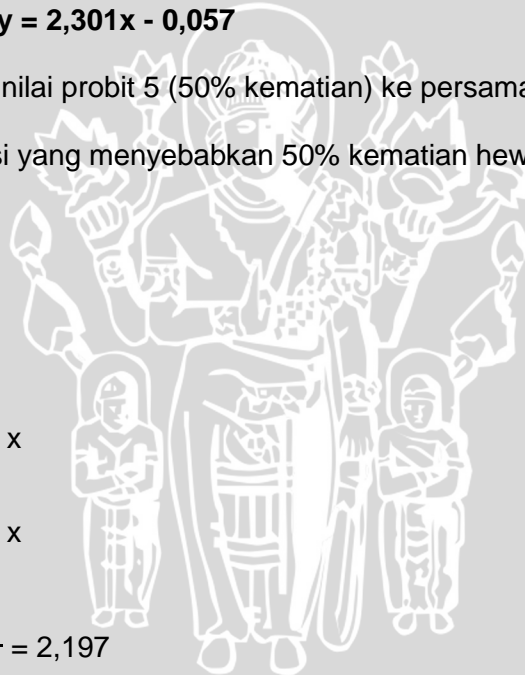
$$5,057 = 2,301 x$$

$$x = \frac{5,057}{2,301} = 2,197$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,197$$

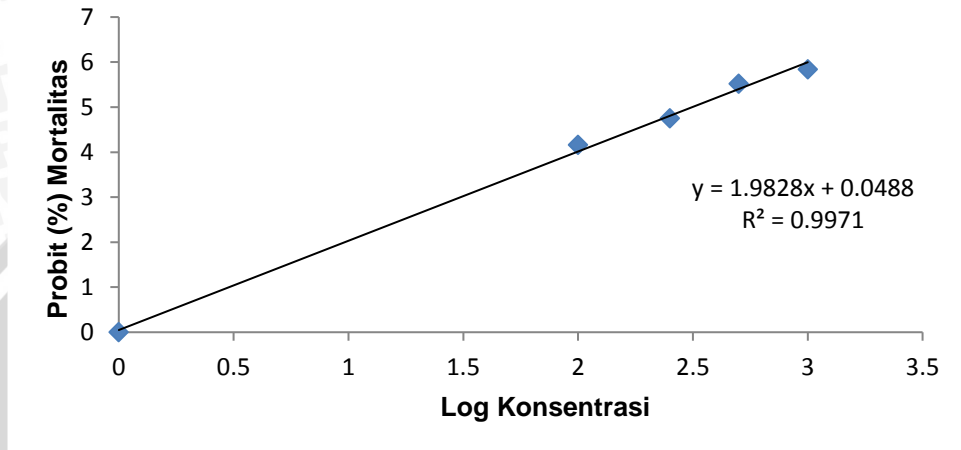
$$= 157,398 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 157,398 \text{ ppm}$$



Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan E ulangan 2 didapatkan persamaan sebagai berikut :

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar . Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Etil Asetat *B. gymnorhiza* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan **$y = 1,982x + 0,048$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,982 x + 0,048$$

$$5 = 1,982 x + 0,048$$

$$5 + 0,048 = 1,982 x$$

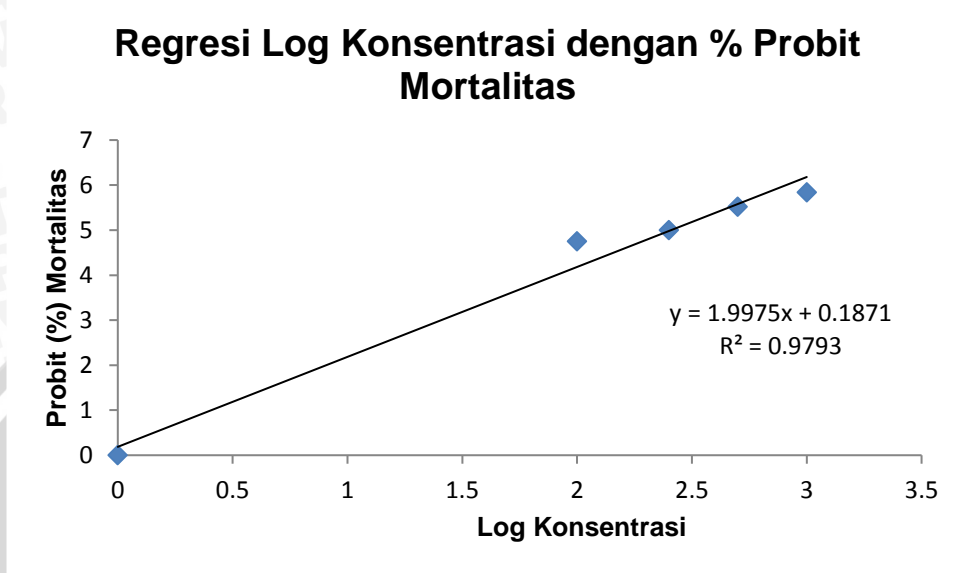
$$5,048 = 1,982 x$$

$$x = \frac{5,048}{1,982} = 2,546$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,546 = 351,560 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 351,560 \text{ ppm}$$

Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan E ulangan 3 didapatkan persamaan sebagai berikut :



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil Asetat *B. gymnorrhiza* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan **$y = 1,997x + 0,187$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,997 X + 0,187$$

$$5 = 1,997 X + 0,187$$

$$5 + 0,187 = 1,997 x$$

$$5,187 = 1,997 x$$

$$x = \frac{5,187}{1,997} = 2,597$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,597 = 395,366 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 395,366 \text{ ppm}$$

3. Perlakuan N ulangan 1 (Ekstrak N-heksan Daun Lindur *B. gymnorrhiza*)

Tabel. Data Uji Toksisitas Sampel N ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
N	0	0	0	0
	125	3	4	3
	250	5	5	6
	500	6	6	7
	1000	8	7	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas Artemia} = \frac{\text{Jumlah artemia mati}}{\text{Jumlah artemia uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30\%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{5}{10} \times 100 \% = 50\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60\%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80\%$$

Hasil dari % kematian *Artemia* pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan N

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:

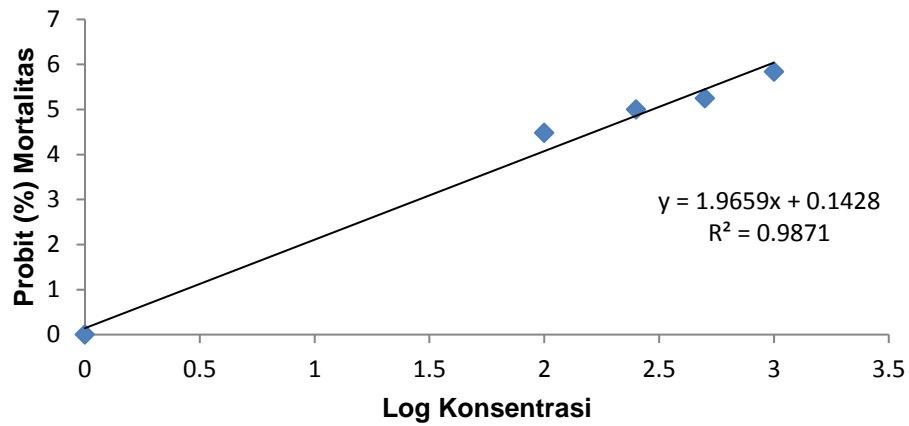
: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 30%, 50%, 60%, 80% maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0, 4,48, 5,00, 5,25 dan 5,84. Kemudian konsentrasi 0, 125, 250, 500, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 125 = 2,0, log 250 = 2,4, log 500 = 2,7, log 1000 = 3 (nilai% probit ditunjukkan dengan blok warna merah). Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam Microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
2,0	4,48
2,4	5,00
2,7	5,25
3	5,84

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *B. gymnorrhiza* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 1,965x + 0,142$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,965 x + 0,142$$

$$5 = 1,965 x + 0,142$$

$$5 + 0,142 = 1,965 x$$

$$5,142 = 1,965 x$$

$$x = \frac{5,142}{1,965} = 2,616$$

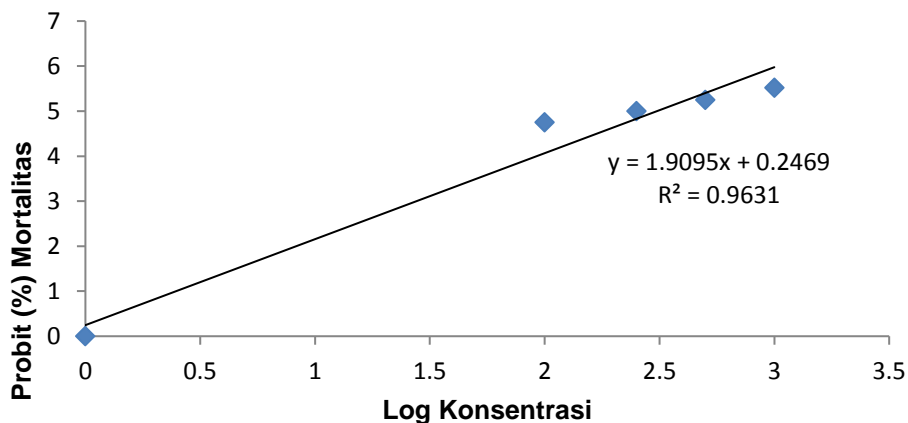
$$\text{Anti Logaritma} = 2,616$$

$$= 413,047 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 413,047 \text{ ppm}$$

Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan N ulangan 2 didapatkan persamaan sebagai berikut :

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *B. gymnorhiza* Ulangan 2

Diperoleh persamaan $y = 1,909x + 0,246$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,909 x + 0,246$$

$$5 = 1,909 x + 0,246$$

$$5 + 0,246 = 1,909 x$$

$$5,246 = 1,909 x$$

$$x = \frac{5,246}{1,909} = 2,748$$

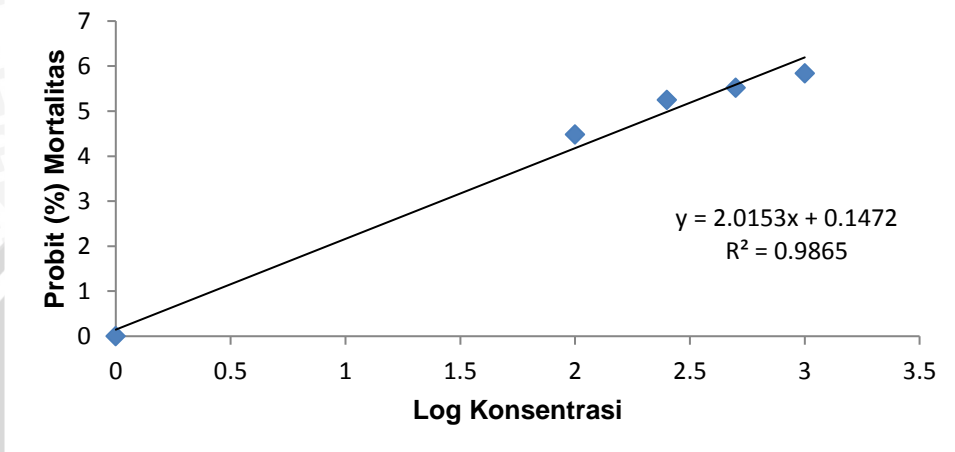
$$\text{Anti Logaritma} = 2,748 = 559,757 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 559,757 \text{ ppm}$$



Dengan cara perhitungan yang sama perlakuan N ulangan 3 didapatkan persamaan sebagai berikut :

Regresi Log Konsentrasi dengan % Probit Mortalitas



Gambar. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *B. gymnorhiza* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 2,015x + 0,147$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,015 x + 0,147$$

$$5 = 2,015 x + 0,147$$

$$5 + 0,147 = 2,015 x$$

$$5,147 = 2,015 x$$

$$x = \frac{5,147}{2,015} = 2,554$$

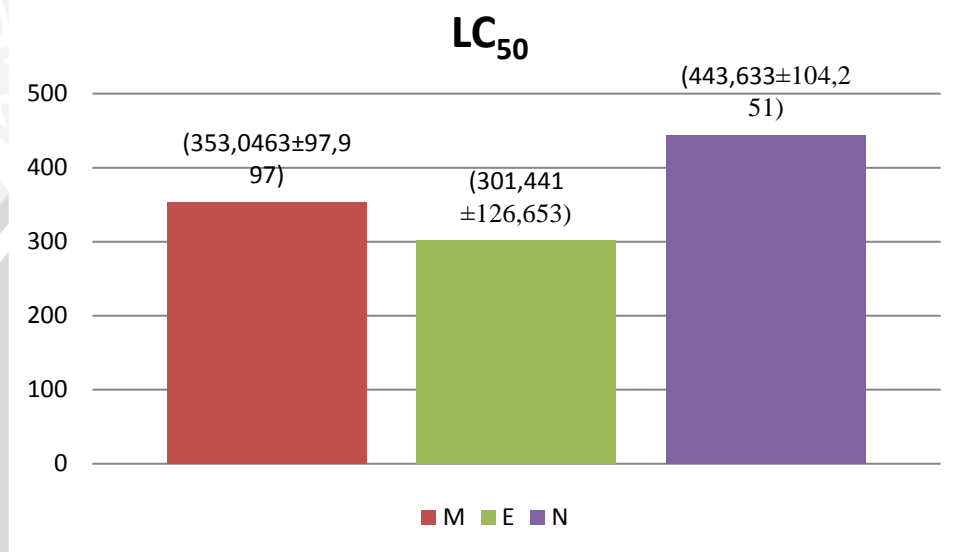
$$\text{Anti Logaritma} = 2,554 = 358,096 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 358,096 \text{ ppm}$$



Tabel. Keragaman nilai LC₅₀ ekstrak *Bruguiera gymnorrhiza*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Sd
	1	2	3			
M	247,742	441,570	369,828	1059,14	353,046	97,997
E	157,398	351,560	395,366	904,324	301,441	126,653
N	413,047	559,757	358,096	1330,9	443,633	104,251
Total	818,187	1352,887	1123,29	3294,364	1098,12	



Gambar. Grafik nilai LC₅₀ ekstrak daun lindur *B. gymnorrhiza*

Keterangan:

M = Ekstrak metanol *B. gymnorrhiza*

E = Ekstrak etil asetat *B. gymnorrhiza*

N = Ekstrak n-heksan *B. gymnorrhiza*

Lampiran 6. Pembuatan larutan induk dan perhitungan dosis

- Pembuatan Larutan Induk

Diketahui : Sampel = 10 mg

Volume ID water = 10 mL

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\text{Volume} = 10 \text{ mL} \longrightarrow 1 \text{ ppm} = \frac{0.01 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

- Konsentrasi larutan induk

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.01/10 \text{ mL}}{10\text{mg}/10\text{mL}}$$

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.01}{10} \times \frac{10}{10}$$

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.1}{100}$$

$$0.1 \times x = 100$$

$$x = \frac{100}{0,1} = 1000 \text{ ppm}$$

- Perhitungan dosis

Diketahui : media sel 300 µl

dosis (250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, dan 31,25 ppm)

- Konsentrasi 250 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 300 \times 250$$

$$V_1 \times 1000 = 75000$$

$$V_1 = \frac{75000}{1000}$$

$$V_1 = 75 \mu\text{l}$$

- Konsentrasi 125 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 300 \times 125$$

$$V_1 \times 1000 = 37500$$

$$V_1 = \frac{37500}{1000}$$

$$V_1 = 37,5 \mu\text{l}$$

- Konsentrasi 62,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 300 \times 62,5$$

$$V_1 \times 1000 = 18750$$

$$V_1 = \frac{18750}{1000}$$

$$V_1 = 18,75 \mu\text{l}$$

- Konsentrasi 31,25 ppm

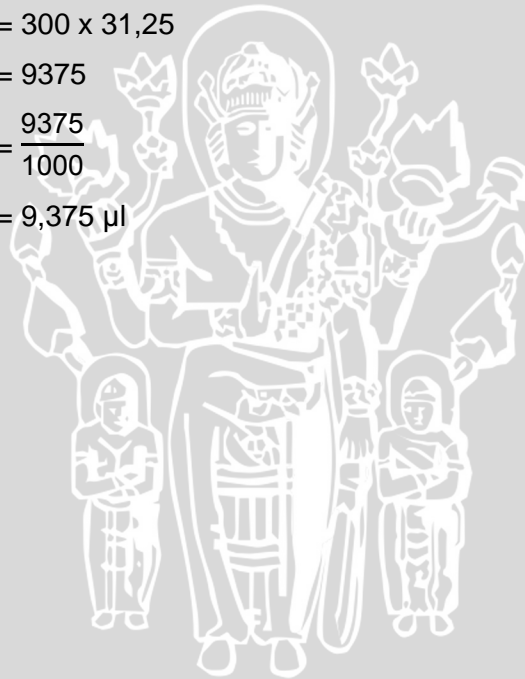
$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 300 \times 31,25$$

$$V_1 \times 1000 = 9375$$

$$V_1 = \frac{9375}{1000}$$

$$V_1 = 9,375 \mu\text{l}$$



Lampiran 7. Hasil Uji sitotoksitas Ekstrak Kasar Daun Lindur *Bruguiera gymnorrhiza*

Tabel. data persentase kematian sel HeLa

Pelarut Metanol		
konsentrasi ekstrak	% kematian sel	rata-rata
31,25 ppm	32,4544899	57,95843
	82,01875743	
	59,40205283	
62,5 ppm	60,36446579	48,65511
	31,01087045	
	54,58998802	
125 ppm	41,11620655	46,56988
	57,95843338	
	40,63500007	
250 ppm	6,469339929	23,47197
	-14,7037452	
	78,65031206	

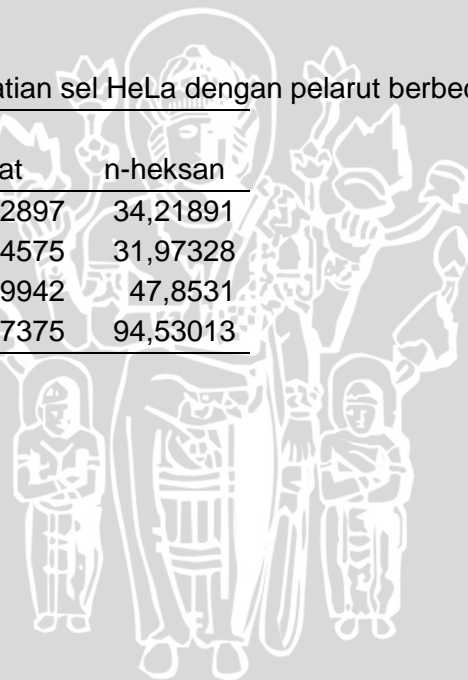
Pelarut Etil Asetat		
konsentrasi ekstrak	% kematian sel	rata-rata
31,25 ppm	49,29671673	38,22897
	72,87583429	
	-7,48564802	
62,5 ppm	33,41690286	36,94575
	69,98859541	
	7,431752891	
125 ppm	25,23639268	42,39942
	7287583429	
	29,08604453	
250 ppm	96,93615834	95,97375
	95,01133241	
	95,97374537	

Pelarut N-heksan

konsentrasi ekstrak	% kematian sel	rata-rata
31,25 ppm	15,1310566	34,21891
	65,6577371	
	21,8679473	
62,5 ppm	33,4169029	31,97328
	69,0261824	
	-6,52323505	
125 ppm	44,9658584	47,8531
	50,7403362	
	47,8530973	
250 ppm	93,567713	94,53013
	103,191843	
	86,8308222	

Rata-rata persentase kematian sel HeLa dengan pelarut berbeda

ppm	etil		
	metanol	asetat	n-heksan
31,25	23,47197	38,22897	34,21891
62,5	46,56988	36,94575	31,97328
125	48,65511	42,39942	47,8531
250	57,95843	95,97375	94,53013



Lampiran 8. Analisis keragaman dengan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Hasil Kematian sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	103803.138 ^a	12	8650.261	12.497	.000
Perlakuan_a	394.924	2	197.462	.285	.754
Perlakuan_b	14465.011	3	4821.670	6.966	.002
Perlakuan_a * Perlakuan_b	4015.547	6	669.258	.967	.468
Error	16611.968	24	692.165		
Total	120415.105	36			

a. R Squared = ,862 (Adjusted R Squared = ,793)

Hasil Kematian sel

Duncan

		Subset	
Pelarut	N	1	
PM1	12	44.1592	
PN3	12	49.4126	
PE2	12	52.1400	
Sig.		.491	

Hasil Kematian sel

Duncan

		Subset	
Dosis	N	1	2
31.25 ppm	9	31.9700	
62.5 ppm	9	38.4911	
125 ppm	9	41.0044	
250 ppm	9	82.8168	
Sig.		.499	1.000



Interaksi

Hasil Kematian sel

Duncan	interaksi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
	250 metanol	3	23.4700	
	62,5 n-heksan	3	26.5133	
	125 etil asetat	3	31.9700	
	250 etil asetat	3	34.2133	
	125 n-heksan	3	36.9400	
	250 n-heksan	3	38.2267	
	125 metanol	3	46.5633	46.5633
	62,5 etil asetat	3	47.8500	47.8500
	62,5 metanol	3	48.6500	48.6500
	31,25 metanol	3	57.9533	57.9533
	250 n-heksan	3		94.5267
	250 etil asetat	3		95.9703
	Sig.		.180	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 9. Proses ekstraksi dengan metode sonikasi



1

1. Daun lindur ditimbang sebanyak 120 gram.



2

2. Dilarutkan dalam 600 mL (1:5 b/v).



3

3. Diekstrak dengan gelombang ultrasonik frekuensi 50 kHz selama 45 menit.



4

3. Disaring untuk memisahkan ampas dan ekstraknya.



5

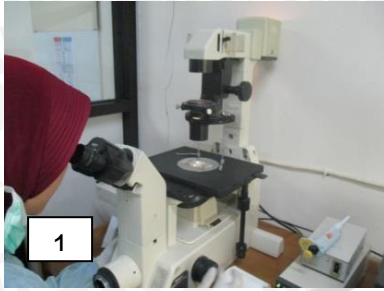
5. Ekstrak di evaporasi



6

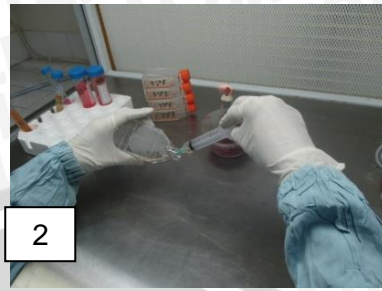
6. sisa pelarutnya diuapkan dengan gas nitrogen

Lampiran 10. Proses Kultur Sel HeLa



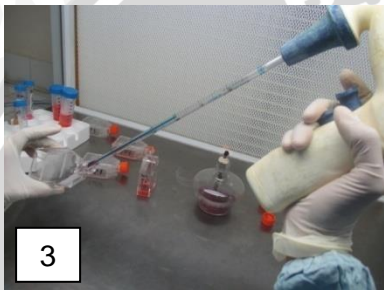
1

1. Pengamatan sel HeLa dalam flask kultur dengan mikroskop inverter



2

2. Proses penarikan media dalam flask



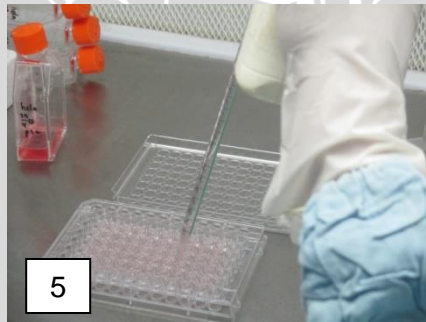
3

3. Proses penambahan tripsin-EDTA dalam flask tube



4

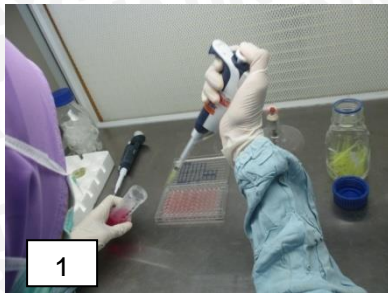
4. Pemandahan larutan dalam centrifuge



5

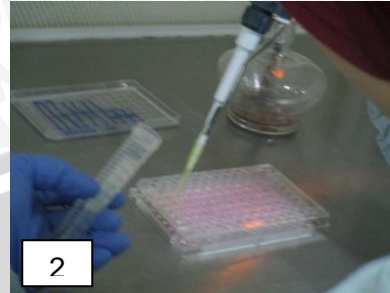
5. Proses penanaman kultur pada sumuran

Lampiran 11. Proses Pemaparan Ekstrak N-heksan, Etil asetat, dan Metanol daun lindur *B. gymnorrhiza*



1

1. Pemaparan ekstrak N-heksan, Etil, dan metanol *B. gymnorrhiza*



2

2. Pemberian larutan MTT +larutan detergen SDS (*sodium dedocyl sulfate*)



3

3. Proses inkubasi sampel uji selama 1 jam dalam inkubator

Lampiran 12. Hasil Uji LC-MS

LC MS –ESI pos ion

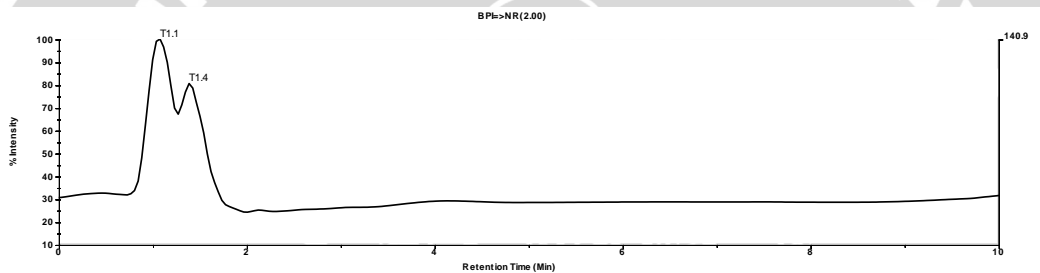
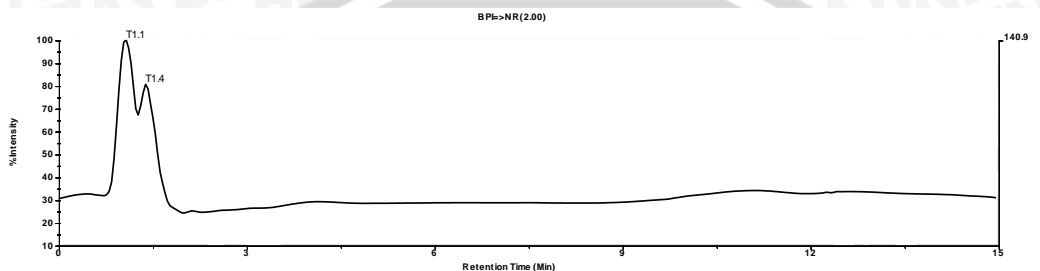
Vol injection 2ul

Flow 0.1 mL/min

Collumn C-18 (15mm x 1mm)

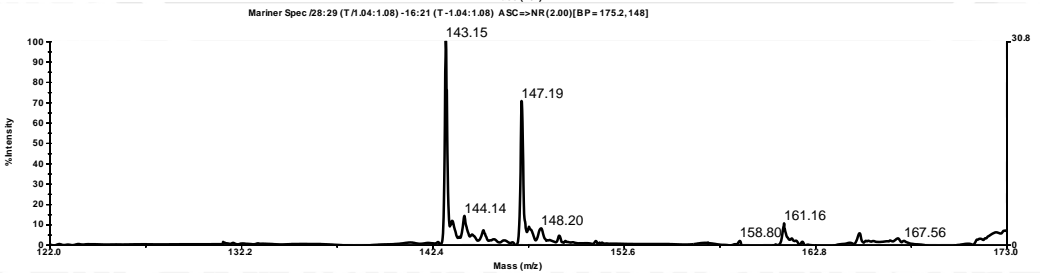
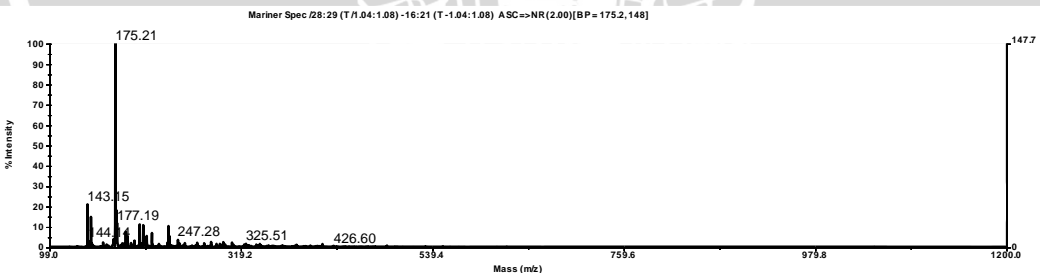
Eluent MeOH

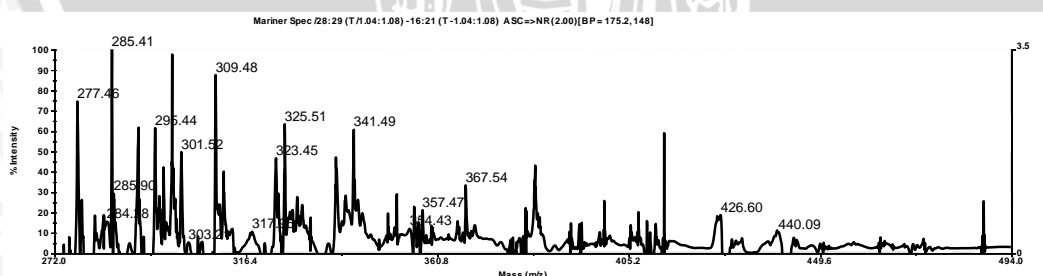
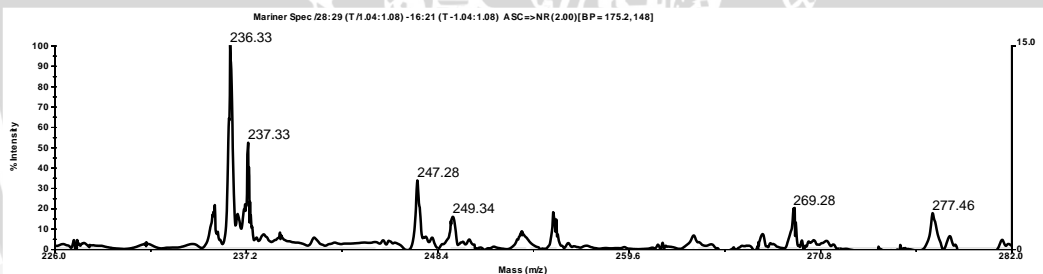
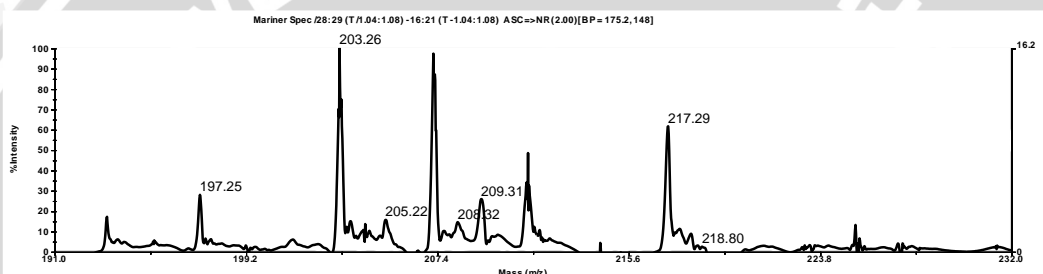
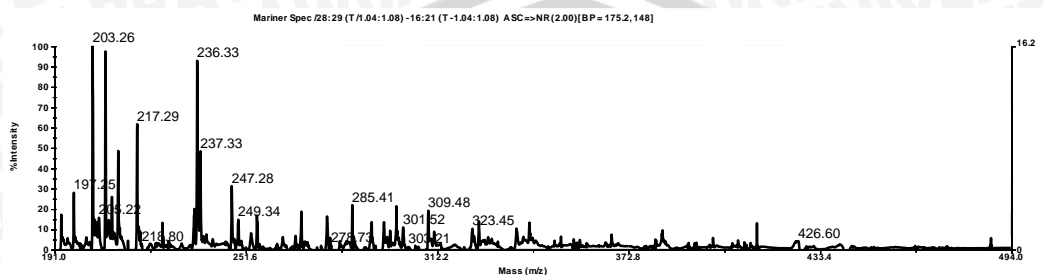
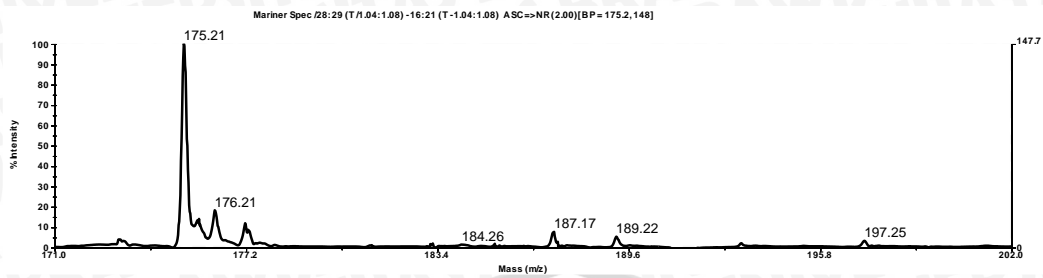
Operating by : Puspa D N Lotulung



Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	1.079717	0.770283	1.234450	141	701.51
2	1.389500	1.312067	1.971000	113	582.95

Rt 1.07





Rt 1.39

