

LAMPIRAN

Lampiran A. Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 763-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

- PENELITIAN BERJUDUL** : PENGARUH TERAPI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostona* L.) TERHADAP KADAR SOD, MDA, PROTEASE SERTA EKSPRESI HSP 70, IL-10, dan IFN γ PADA OTAK TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL TRAUMATIC BRAIN INJURY
- PENELITI** : DESSY PUSPITA SARI
- UNIT/LEMBAGA/TEMPAT** : UNIVERSITAS BRAWIJAYA
- DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Malang, 9 Mei 2017

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran B. Determinasi Tanaman Manggis



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074 / 289.1 / 101.8 / 2016
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Manggis

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : INDRA NOVITA WARDANI
NIM : 135090200111038
Fakultas : FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman manggis

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Dilleniidae
Ordo : Parietales (Theales)
Famili : Clusiaceae (Guttiferae)
Genus : Garcinia
Spesies : *Garcinia mangostana* L.
Nama Daerah : Manggoita (Aceh), Mangi (Gayo), Manggista (Batak), Manggih (Minangkabau), Manggis (Melayu), Manggu (Sunda), Manggis (Jawa), Mangghis (Madura), Manggis (Bali), Kirasa (Makasar), Mangustang (Halmahera).

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239a-240a-1a-1b.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi ± 15 m. Batang: Berkayu, bulat, tegak, percabangan simpodial, hijau kotor. Daun: Tunggal, lonjong, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 20-25 cm, lebar 6-9 cm, tebal, tangkai silindris, hijau. Bunga: Tunggal, berkelamin dua, di ketiak daun, tangkai: silindris, panjang 1-2 cm, benang sari kuning, putik satu putih, kuning. Buah: Buni, bulat, diameter 6-8 cm, coklat keunguan. Biji: Bulat, diameter ± 2 cm, dalam satu buah terdapat 5-7 biji, dan berwarna kuning. Akar: Tunggang, putih kecoklatan.
3. Nama Simplisia : *Garcinia mangostanae* Pericarpium / Kulit buah manggis.
4. Kandungan Kimia : Kulit buah manggis mengandung mangostin, saponin dan tannin. Pada ekstrak kulit buah yang larut dalam petroleum eter ditemukan 2 senyawa alkaloid. Kulit kayu, kulit buah dan lateks kering *Garcinia mangostana* mengandung sejumlah zat warna kuning yang berasal dari dua metabolit yaitu mangostin dan B-mangostin. Mangostin merupakan komponen utama sedangkan B-mangostin merupakan konstituen minor. Dari kulit buah juga ditemukan metabolit baru yaitu 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-di(3-metil-2butenil) xanton yang diberi nama α -mangostanin. Sedangkan, buah manggis mengandung triterpenoid, mangostin, tannin, dan resin. Pada akar dan kulit batang juga ditemukan senyawa flavanoid dan polifenol.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
- Anonim. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tan_obat/manggis, diakses 29 Oktober 2010.
 - Anonim. <http://www.plantamor.com/manggis>, diakses 14 Desember 2010.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/manggis>, diakses 6 November 2010.
 - Syamsuhidayat, Sri sugati dan Hutapea, Johnny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Oktober 2016

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R.M. Drs. Apt. M.Kes.
NIP 196412011901031003

Lampiran C. Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostna L.*)



DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074 / 289.2 / 101.8 / 2016
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Manggis**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : INDRA NOVITA WARDANI
NIM : 135090200111038
Fakultas : FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman manggis (*Garcinia mangostana L.*). Adapun proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut:

BAHAN : Serbuk kulit manggis
Etanol 70 %
Kertas saring
ALAT : Toples bertutup
Corong gelas
Timbangan analitik
Gelas ukur
Botol
Water bath
Erlenmeyer
Rotary evaporator
Beaker glass
Alkoholmeter
Shaker digital

Cara Kerja :

1. Timbang serbuk kulit manggis sebanyak 100 gr.
2. Lakukan pembasahan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL.
3. Masukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 70% sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih). Pelarut yang ditambahkan sebanyak 500 mL. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan di-shaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam Erlenmeyer.
5. Ampas dimasukkan lagi dalam toples dan tambahkan pelarut sampai terendam (minimal pelarut 5 cm di atas permukaan), dalam hal ini digunakan 500 mL.
6. Biarkan semalam atau 24 jam di atas shaker 50 rpm.
7. Hasil ekstrak cair dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 2 jam untuk evaporasi.
8. Ekstrak yang dihasilkan dievaporasi / diuapkan diatas water bath selama 2 jam.

Hasil :

1. Dari 100 gr serbuk kulit manggis yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1,5 L dihasilkan ekstrak cair sebanyak 50 mL.

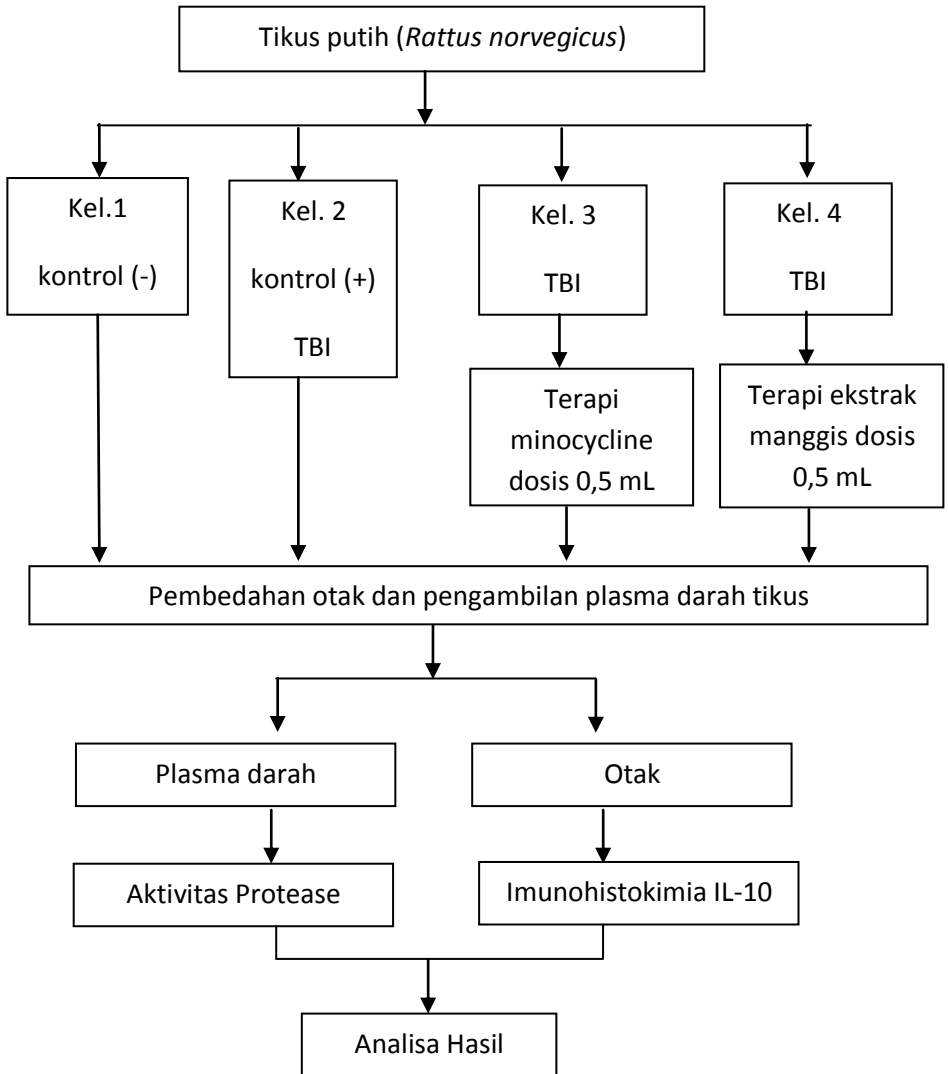
Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Oktober 2016

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 196111021991031003

Lampiran D. Skema Kerja Penelitian



Lampiran E. Persiapan Hewan Tikus Induksi TBI

TIKUS

- Dianastesi dengan ketamine dengan dosis 50 mg/kgBB dan xyla dengan dosis 5 mg/kgBB melalui injeksi intramuscular pada otot paha
- Diletakkan dalam posisi telungkup pada papan bedah dan difiksasi keempat ekstremitasnya menggunakan paper clip
- Kepala tikus didesinfeksi menggunakan alcohol 70 % dan rambut bagian kepala tikus dicukur
- Kulit kepala tikus dibuka dengan digunting dari bagian tengah diantara dua telinga ke arah frontal, hingga tampak bagian tengkorak
- Kepala tikus diposisikan berada tepat di bawah selongsong silinder dengan jarak 1 cm
- Silinder besi seberat 40 g dengan diameter 4 mm dijatuhkan tegak lurus dari ketinggian 180 centimeter sebanyak 1 kali
- Kulit kepala dibersihkan, dijahit kembali, diberikan salep gentamicin 10 % tropical dan analgesic intramuscular

Hasil

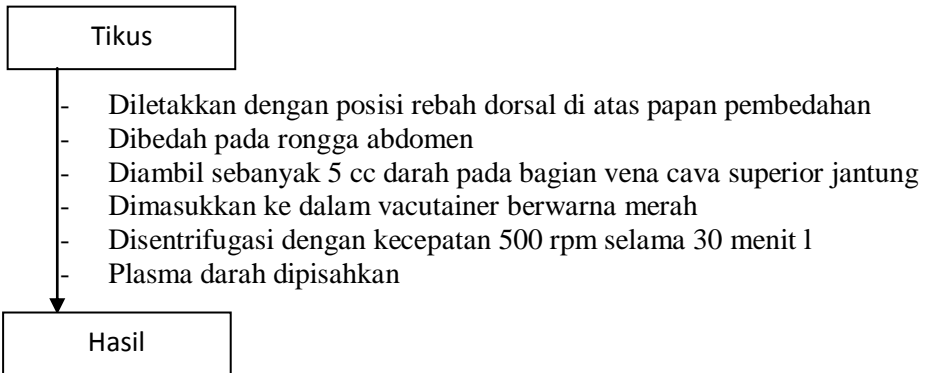
Lampiran F. Pengambilan Otak Tikus

Tikus

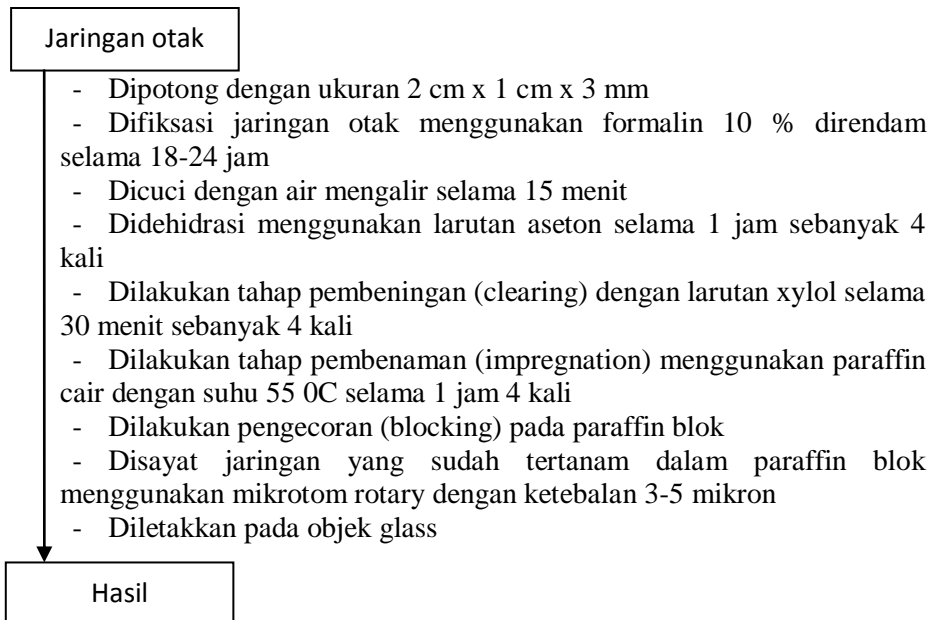
- Dilakukan euthanasia menggunakan ketamine dengan dosis 0,2 mL
- Diletakkan pada papan bedah
- Dilakukan pemotongan leher belakang tikus atau dipotong searah punggung ke perut seluruhnya sehingga terlihat batas antara tengkorak kepala dan kulit
- Tengkorak tikus digunting seperlunya dari arah perpotongan leher
- Tengkorak dibuka dengan kekuatan jari hingga terbuka dan didapatkan penampang otak dan batas-batasnya
- Dilakukan pemotongan saraf yang masih terhubung ke otak
- Otak dikeluarkan dengan hati-hati dan diletakkan dalam botol organ berisi larutan formalin 10

Hasil

Lampiran G. Pengambilan Plasma Darah Tikus



Lampiran H. Pembuatan slide Preparat Histopatologi Jaringan Otak



Lampiran I. Pengukuran IL-10 dengan Metode immunohistokimia

Hasil

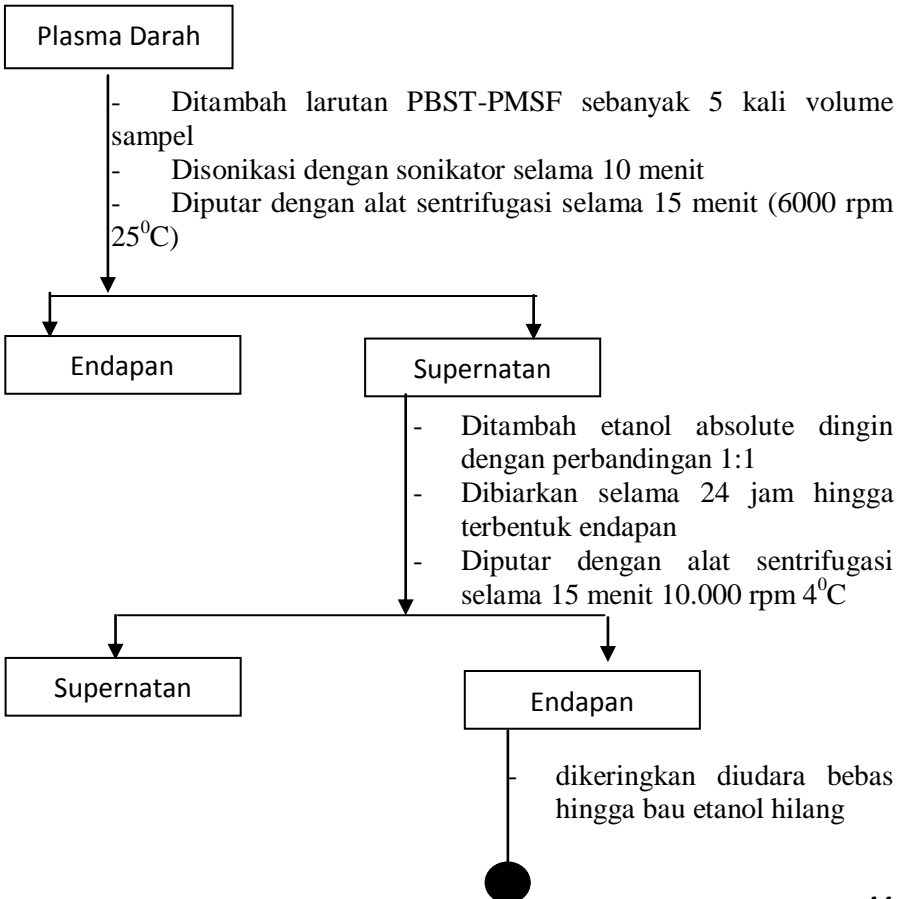
- Dipanaskan pada suhu 60 0C selama 60 menit
- Dideparafinasi dengann xylool selama 3 kali 10 menit
- Dimasukkan ke dalam etanol absolute selama 2 kali 10 menit
- Dimasukkan dalam etanol bertingkat (95%, 90%, 80% dan 70% serta akuades) masing-masing selama 5 menit
- Direndam dalam Chamber berisi buffer sitrat pH 6,0
- Chamber dipanaskan dalam waterbath suhu 90⁰C selama 20 menit
- Slide dikeluarkan dari waterbath suhu 95⁰C selama 20 menit
- Dicuci dengan PBS selama 6 menit
- Diteteskan 3% H₂O₂ dalam methanol diinkubasi selama 15 menit
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit
- *Blocking unspezifik protein* ditetaskan *Background Sniper*, diinkubasi 15 menit pada suhu ruang
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit
- Diteteskan Antibodi primer (mouse anti IL-10 monoklonal antibodi) yang dilarutkan dalam buffer PBS+2% BSA
- Diinkubasi semalam pada suhu 4⁰C
- Slide preparat dikeluarkan, ditunggu sampai suhu ruang
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit
- Diteteskan antibody sekunder(rabbit anti mouse igG biotin labeled), diinkubasi 30 menit pada suhu ruang
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit
- Ditambahkan SA-HRP (*Strep Avidin-Horse Radish Peroksidase*)
- Diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit dan dibilas dengan akuades
- Ditambahkan DAB(DAB chromagen : DAB buffer = 1:50)
- Diinkubasi selama 3-10 menit pada suhu ruang
- Dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali 2 menit dan dicuci dengan aquades 3 kali 2 menit
- Diberikan counterstrain (Mayer's Hematoxylian) bersama tap water dengan perbandingan 1:10

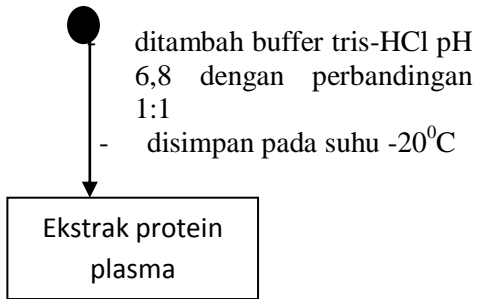
- Diinkubasi selama 5-10 menit pada suhu ruang kemudian dibilas dengan tap water
- Dilakukan *mounting cover glass*
- Dikeringkan hingga *entellan* kering
- Dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop

Hasil

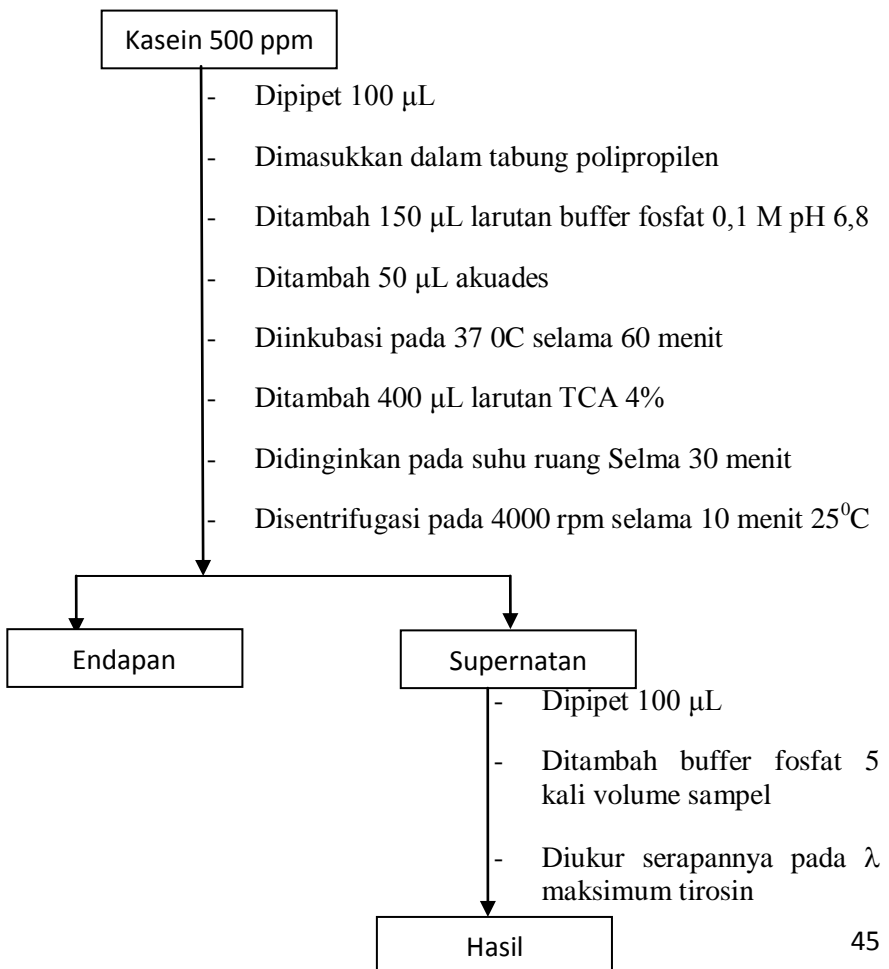
Lampiran J. Langkah-langkah Pengujian Aktivitas Protease

J.1 Isolasi Protein Plasma Darah



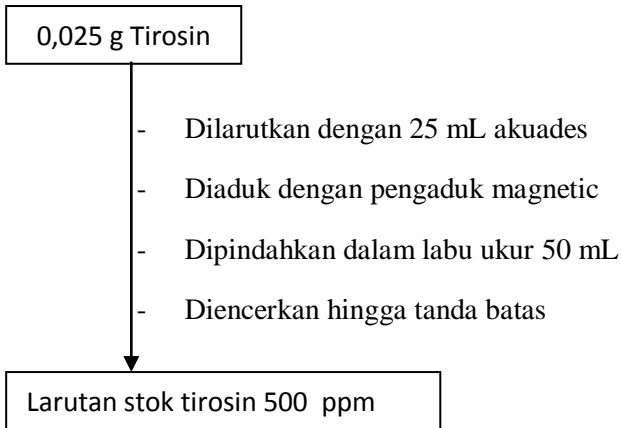


J.2 Pembuatan Larutan Blanko

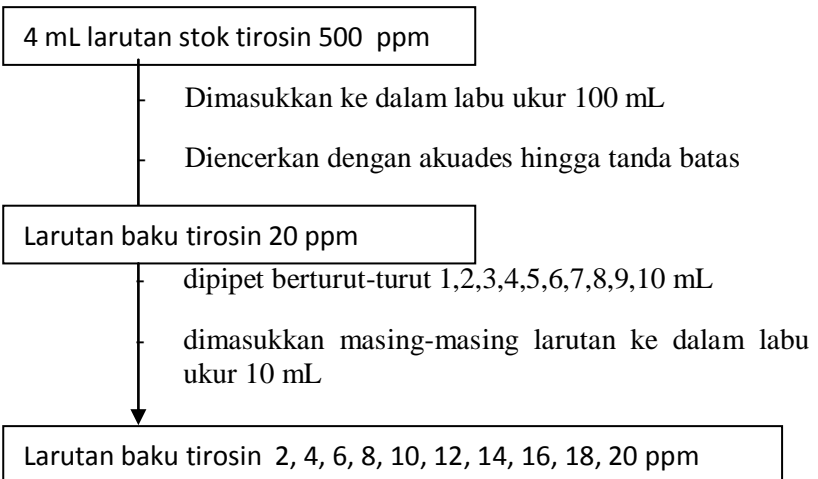


J.3 Penentuan Aktivitas Enzim Protease

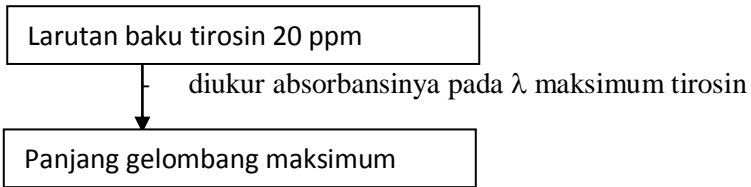
J.3.1 Pembuatan Larutan Stok Tirosin



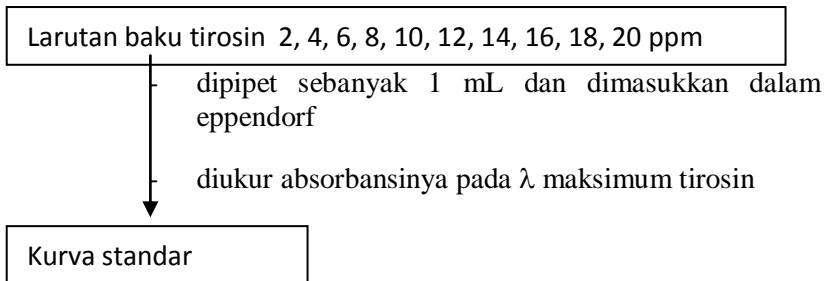
J.3.2 Pembuatan Larutan Tirosin Standar



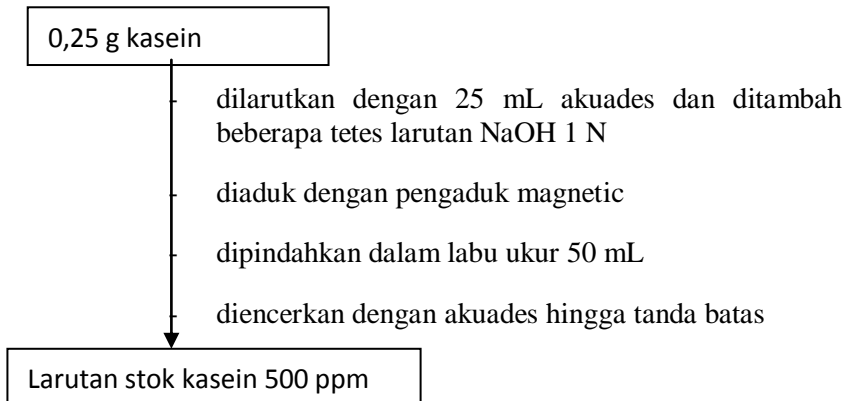
J.3.3 Penentuan λ maksimum Tirosin



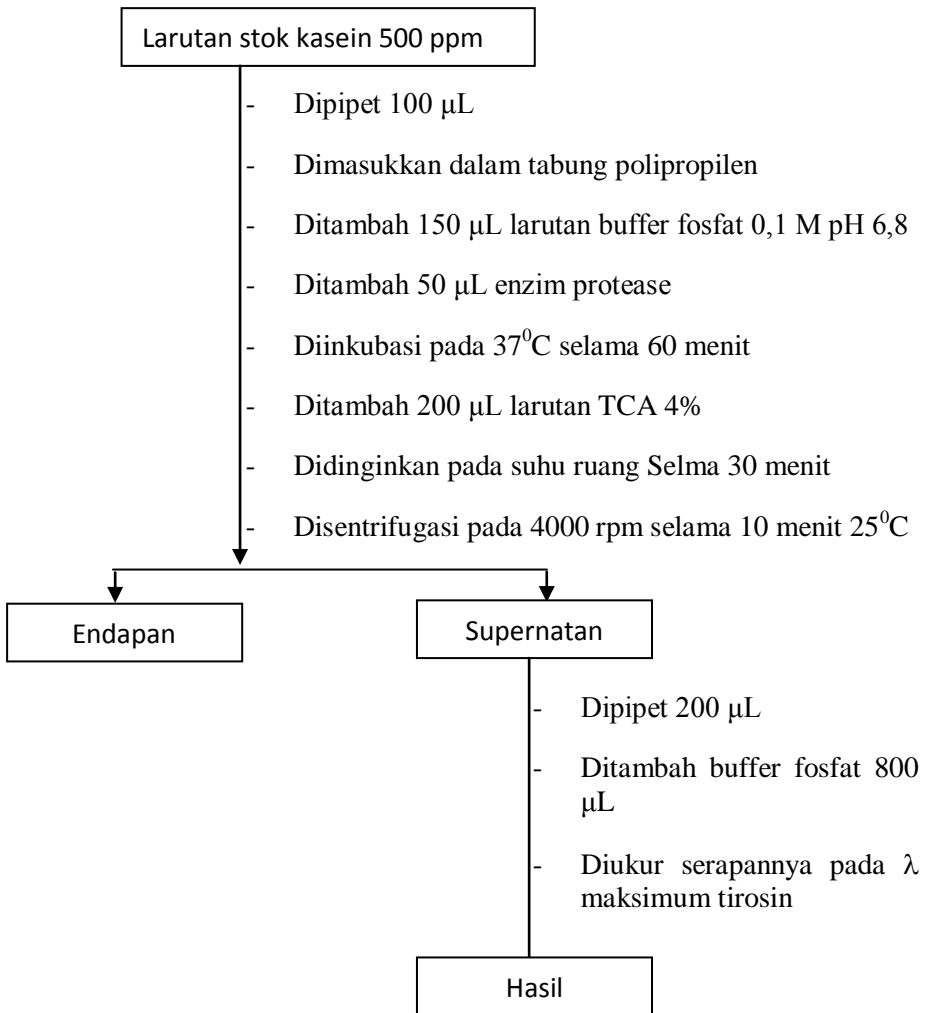
J.3.4 Pembuatan Kurva Baku Tirosin



J.3.5 Pembuatan Larutan Kasein



J.3.6 Pengukuran Aktivitas Protease



Lampiran K. Pembuatan Larutan

K.1 Pembuatan Larutan Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7,4

KCl sebanyak 0,2 gram, KH_2PO_4 sebanyak 0,2 gram, NaCl sebanyak 8 gram, dan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sebanyak 2,16 gram dicampur dan dilarutkan dalam 250 mL akuades steril dan dihomogenkan menggunakan pengaduk magnet dalam gelas kimia 500 mL. kemudian pH larutan diatur 7,4 dengan larutan NaOH 1 M menggunakan pH meter. Kemudian dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 1000 mL dan ditambahkan akuades steril hingga tanda batas.

K.2 Pembuatan Larutan Etanol Bertingkat

Larutan etanol bertingkat dibuat dari larutan etanol absolute 99% yang kemudian diencerkan menjadi 95 %, 90 %, 80 %, 70 %, dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan akuades steril. Perhitungan pembuatan larutan etanol 95 %, dibuat dari etanol absolute, etanol absolute yang diperlukan adalah :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 99\% = 100 \text{ mL} \times 95 \%$$

$$V_1 = 95,96 \text{ mL}$$

Perhitungan pembuatan larutan etanol 90 %, dibuat dari etanol absolute, etanol absolute yang diperlukan adalah :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 99\% = 100 \text{ mL} \times 90\%$$

$$V_1 = 90,90 \text{ mL}$$

Perhitungan pembuatan larutan etanol 80 %, dibuat dari etanol absolute, etanol absolute yang diperlukan adalah :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 99\% = 100 \text{ mL} \times 80\%$$

$$V_1 = 80,80 \text{ mL}$$

Perhitungan pembuatan larutan etanol 70 %, dibuat dari etanol absolute, etanol absolute yang diperlukan adalah :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 99\% = 100 \text{ mL} \times 70\%$$

$$V_1 = 70,70 \text{ mL}$$

K.3 Pembuatan TCA 4 %

Ditimbang TCA sebanyak 4 gram kemudian dilarutkan dengan buffer fosfat pH 7 dalam gelas kimia 100 mL dan dituangkan dalam labu ukur 100 mL diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

K.4 Pembuatan Larutan Tirosin Standar

Tahapan yang perlu dilakukan untuk membuat larutan baku tirosin diantaranya : 4 mL larutan baku tirosin 500 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas, larutan baku tirosin 20 ppm dipipet berturut-turut 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 mL, dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 10 mL, diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Diperoleh larutan baku tirosin 2,4,6,8,10,12,14,16,18,20 ppm.

K.5 Pembuatan Larutan NaH_2PO_4 0,2 M (Mr = 137, 99 g/mol) (asam)

Larutan NaH_2PO_4 0,2 M dibuat sebanyak 500 mL, maka massa NaH_2PO_4 yang diperlukan yaitu :

$$\begin{aligned} \text{Massa NaH}_2\text{PO}_4 &= \text{Mr NaH}_2\text{PO}_4 \times [\text{NaH}_2\text{PO}_4] \times V \text{ larutan} \\ &= 137,99 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \times 0,5 \text{ L} \\ &= 13,799 \text{ g} \end{aligned}$$

Ditimbang 13,799 gram NaH_2PO_4 kemudian dilarutkan dengan akuades steril dalam gelas kimia 100 mL dan dituangkan dalam labu ukur 500 mL setelah itu diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

K.6 Pembuatan Larutan Na_2HPO_4 0,2 M (Mr= 141, 96 g/mol) (basa)

Larutan Na_2HPO_4 0,2 M dibuat sebanyak 500 mL, maka massa Na_2HPO_4 yang diperlukan yaitu :

$$\begin{aligned} \text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 &= \text{Mr Na}_2\text{HPO}_4 \times [\text{Na}_2\text{HPO}_4] \times V \text{ larutan} \\ &= 141,96 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \times 0,5 \text{ L} \\ &= 14,196 \text{ g} \end{aligned}$$

Ditimbang 14,196 Na_2HPO_4 kemudian dilarutkan dengan akuades steril dalam gelas kimia 100 mL dan dituangkan dalam labu

ukur 500 mL setelah itu diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

K.7 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat 0,2 M pH 6,8

Larutan basa Na_2HPO_4 dengan pH sekitar 9 diturunkan menjadi 6,8 dengan menambahkan larutan asam NaH_2PO_4 tetes demi tetes hingga pH 6,8, setelah itu dihentikan sehingga didapat larutan buffer fosfat pH 6,8.

K.8 Larutan Kasein 500 ppm

Ditimbang 0,25 g kasein, kemudian dilarutkan dengan akuades dan ditambah beberapa tetes NaOH 1 N. kemudian diencerkan dengan akuades didalam labu ukur 50 mL hingga tanda batas.

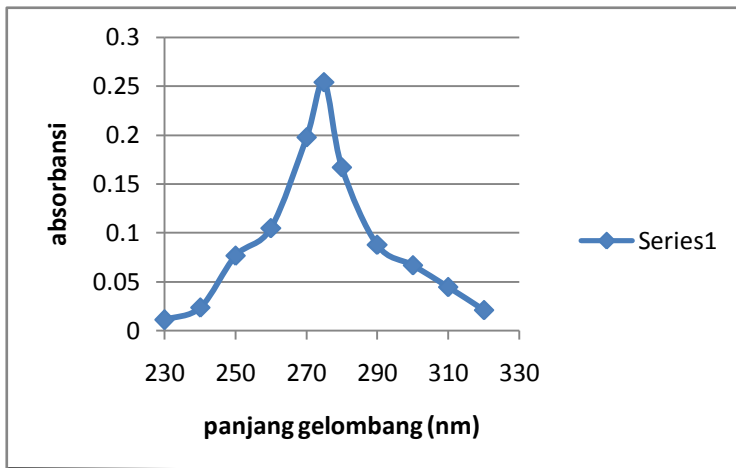
K.9 Pembuatan Larutan Stok Tirosin 500 ppm

Ditimbang 0,25 g tirosin, kemudian dilarutkan dengan 25 mL akuades dalam gelas kimia. Kemudian diencerkan dengan akuades didalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas.

Lampiran L. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Tirosin

Tabel L.1 : Absorbansi Larutan Standar Tirosin 10 ppm

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
230	0.011
240	0.024
250	0.077
260	0.105
270	0.198
275	0.254
280	0.167
290	0.088
300	0.067
310	0.045
320	0.021

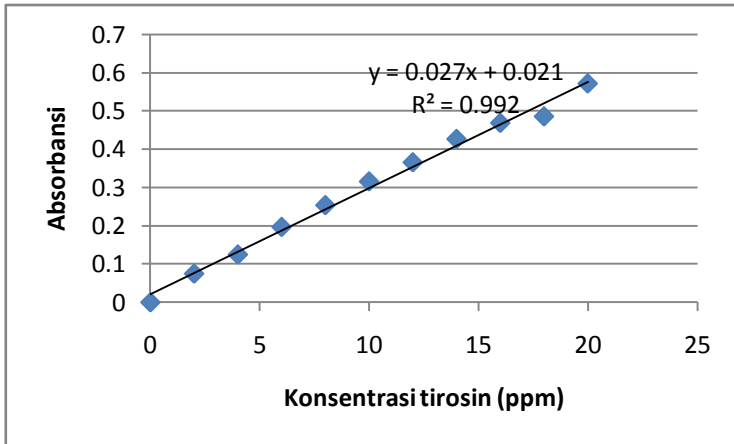


Lampiran 12. Pembuatan Kurva Standar Tirosin

Tabel L.2 Absorbansi Larutan Standar Tirosin

Konsentrasi tirosin (ppm)	Absorbansi
0	0
2	0.075
4	0.125
6	0.197
8	0.254
10	0.316
12	0.366
14	0.427
16	0.469
18	0.486
20	0.572

Kurva Baku Tirosin



Lampiran M. Perhitungan Aktivitas Protease

M.1 Rumus Perhitungan

Misal : Pengukuran aktivitas protease control dengan waktu inkubasi 60 menit dan suhu 37°C

Persamaan kurva baku tirosin : $Y=0,027x+0,021$

Dimana x = konsentrasi tirosin

$$\text{Maka } x = \frac{0,0703 - 0,0212}{0,0278} = 1,7673$$

Nilai x merupakan banyaknya tirosin yang terbentuk oleh enzim protease. Untuk menentukan aktivitas enzim protease digunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{[\text{Tirosin}]}{\text{Mr Tirosin}} \times \frac{v}{p \times q} \times fp$$

Dimana : v = volume total sampel (mL)

q = waktu inkubasi

fp = factor pengenceran

p = jumlah enzim (mL)
 Mr = berat molekul Tirosin 181 $\mu\text{L}/\mu\text{mol}$

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{[\text{Tirosin}]}{\text{Mr Tirosin}} \times \frac{v}{p \times q} \times fp$$

$$\frac{1,7673 \mu\text{g}/\text{mL}}{181 \mu\text{g}/\mu\text{mol}} \times \frac{1 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL} \times 60 \text{ menit}} \times 5$$

$$= 0,00813 \mu\text{mol}/\text{mL}.\text{menit}$$

$$= 0,00813 \text{ unit}$$

Satu unit aktivitas protease dinyatakan dengan banyaknya jumlah mikro mol yang terbentuk oleh 1 mL protease per menit.

Tabel M.1 Data Konsentrasi Tirosim

Perlakuan	Tikus				
	1	2	3	4	5
Tikus sehat	1,7674	1,5156	1,1918	2,7146	1,9472
Tikus model TBI	5,9041	5,4964	5,4365	5,8801	5,3046
Terapi Ekstrak Kulit Manggis	3,2542	3,5779	3,1703	3,5779	3,8297
Terapi Minocycline	3,8177	3,7458	3,8417	3,8897	3,8897

Tabel M.2 Data Aktivitas Protease Plasma Darah Tikus

Perlakuan	Tikus				
	1	2	3	4	5
Tikus sehat	0,0081	0,0070	0,0055	0,0125	0,0090
Tikus model TBI	0,0272	0,0253	0,0250	0,0271	0,0244
Terapi Ekstrak Kulit Manggis	0,0150	0,0165	0,0146	0,0165	0,0176
Terapi Minocycline	0,0176	0,0172	0,0177	0,0179	0,0179

Induksi TBI dengan penjatuhan selongsong besi dapat meningkatkan aktivitas protease plasma darah tikus (*Rattus norvegicus*) dan terapi menggunakan ekstrak kulit manggis (*Garciana mangostana* L.) dapat menurunkan aktivitas protease. Presentasi peningkatan dan penurunan dapat dihitung sebagai berikut :

- Peningkatan aktivitas protease tikus TBI terhadap tikus normal

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\textit{kontrol positif} - \textit{kontrol negatif}}{\textit{kontrol negatif}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,02580 - 0,00841}{0,00841} \times 100\% \\
 &= 206,77 \%
 \end{aligned}$$

- Penurunan aktivitas protease terapi ekstrak kulit manggis

$$\begin{aligned}
 &\frac{\textit{kontrol positif} - \textit{terapi ekstrak kulit manggis}}{\textit{t \textless rapi ekstrak kulit manggis}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,02580 - 0,01603}{0,01603} \times 100\% \\
 &= 60,94 \%
 \end{aligned}$$

- Penurunan aktivitas protease terapi minocycline

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\textit{kontrol positif} - \textit{terapi minocycline}}{\textit{terapi minocycline}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,02580 - 0,01767}{0,01767} \times 100\% \\
 &= 46,01 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran N. Hasil Uji Statistika Aktivitas Protease

Tabel N.1 Uji Normalitas Data

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
VAR00001		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
VAR00002	1.00	.213	5	.200*	.954	5	.769
	2.00	.253	5	.200*	.863	5	.238
	3.00	.243	5	.200*	.924	5	.559
	4.00	.218	5	.200*	.871	5	.269

*. This is a lower bound of the true significance.

Data uji normalitas, didapatkan nilai $p > 0,05$ sehingga data memiliki distribusi yang normal.

Tabel N.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
VAR00002			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.010	3	16	.061

Data uji homogenitas, didapatkan nilai $P > 0,05$ sehingga data memiliki varian yang homogeny.

Tabel N.3 Uji Statistika Anova

ANOVA

VAR00002

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	3	.000	100.182	.000
Within Groups	.000	16	.000		
Total	.001	19			

Nilai F hitung $100,182 > F$ tabel 5 % : 3,01 dan F tabel 1 % : 4,77. Sehingga antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P > 0,01$).

Tabel N.4 Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

Homogeneous Subsets

VAR00002

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.00	5	.008420		
3.00	5		.016046	
4.00	5		.017660	
2.00	5			.025800
Sig.		1.000	.405	1.000

Lampiran O. EKspresi IL-10 otak Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) model TBI

Tabel O.1 Data Ekspresi IL-10 Pada Otak Tikus Putih

Kelompok perlakuan	Rata-rata ekspresi IL-10 %	Rata-rata kelompok
Kontrol negative	38,84	39,680 ± 0,523
	39,62	
	40,22	
	39,74	

	39,98	
Kontrol positif	27,40	26,668 ± 1,426
	24,22	
	27,20	
	27,82	
	26,70	
Terapi ekstrak kulit manggis	36,35	36,254 ± 0,099
	36,15	
	36,37	
	36,19	
	36,21	
Terapi minocycline	35,67	35,384 ± 0,248
	35,62	
	35,26	
	35,27	
	35,10	

Lampiran P. Uji statistika Ekspresi IL-10 Otak Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tabel P.1 Uji Normalitas

VAR00001	Statistic	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
VAR00002 1,00	,254	5	,200*	,921	5	,538	
2,00	,309	5	,134	,806	5	,091	
3,00	,271	5	,200*	,865	5	,245	
4,00	,277	5	,200*	,880	5	,309	

Data uji normalitas, didapatkan nilai $P > 0,05$, sehingga data memiliki distribusi yang normal.

Tabel P.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

VAR00002

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,296	3	16	,048

Data uji homogenitas didapatkan nilai $P < 0,05$ sehingga data memiliki varian yang kurang homogen.

Tabel P.3 Uji Anova

ANOVA

VAR00002

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	460,153	3	153,384	257,785	,000
Within Groups	9,520	16	,595		
Total	469,673	19			

Nilai F hitung $257,785 > F$ tabel 5% : 3,01 dan F tabel 1%: 4,77 sehingga antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Tabel P.4 Uji BNJ (Beda Nyata Jujur)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00002

Tukey HSD

(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1,00	2,00	13,01200*	,48786	,000	11,6162	14,4078
	3,00	3,42600*	,48786	,000	2,0302	4,8218
	4,00	4,29600*	,48786	,000	2,9002	5,6918
2,00	1,00	-13,01200*	,48786	,000	-14,4078	-11,6162
	3,00	-9,58600*	,48786	,000	-10,9818	-8,1902
	4,00	-8,71600*	,48786	,000	-10,1118	-7,3202
3,00	1,00	-3,42600*	,48786	,000	-4,8218	-2,0302
	2,00	9,58600*	,48786	,000	8,1902	10,9818
	4,00	,87000	,48786	,317	-,5258	2,2658
4,00	1,00	-4,29600*	,48786	,000	-5,6918	-2,9002
	2,00	8,71600*	,48786	,000	7,3202	10,1118
	3,00	-,87000	,48786	,317	-2,2658	,5258

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

VAR00002

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2,00	5	26,6680		
4,00	5		35,3840	
3,00	5		36,2540	
1,00	5			39,6800
Sig.		1,000	,317	1,000

Lampiran Q. Dokumentasi Penelitian

