

DAFTAR PUSTAKA

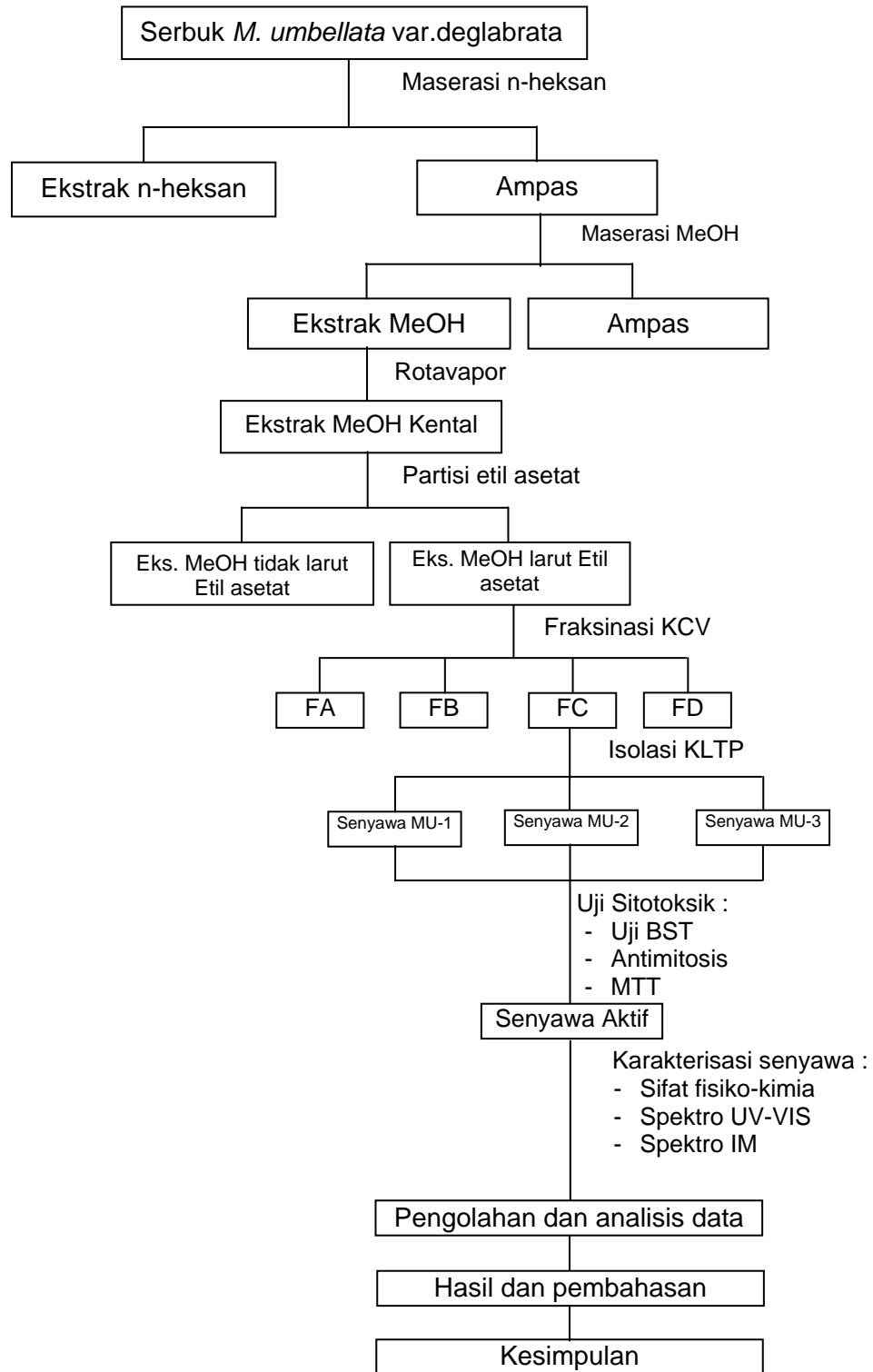
- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan makanan*, Edisi Pertama, Cetakan Pertama, Penerbit ANDI, Yogyakarta, 9
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Bhakti Husada. Jakarta. 4-26.
- Backer, CA., Bakhuizen Van den Brink, R.C. Jr. 1965. *Flora of Java*. Noordhoff-Groningen, The Netherlands. Vol I: 405
- Carballo, JL., Hernandez-Inda, ZL., Perez, P., Garcia-Gravalos, MD., 2002, A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products, *BMC Biotechnology*, 2: 17, p.1-5
- Costa-Lotufo L. V., Cunha G. M. A., Farias P. A. M., Viana G. S. B., Cunha K. M. A., Pessoa C., Moraes M. O., Silveira E. R., Gramosa N. V., and Rao V. S. N. 2002, The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. *Toxicon* 40 : 1231- 1234.
- Dias, G.O., Porto, C., Stuker C.Z., Graessler V., Burrow R.A., Dalcol I.I., da Silva, U.F. and Morel A.F. 2007, Alkaloid from *Melochia Chamaedrys*, *Planta Med.* 73(3) : 289 -292
- Endrini, S., Rahmat, A., Ismail, P., and Hin, T.Y.Y., 2002, Anticarcinogenic Properties and Antioxidant Activity of Henna (*Lawsonia enermis*), *J. Med. Sci.*, 2(4): 194-197
- Ferreira, E.G., Wilke, D.V., Jimenez, P.C., Portela, T.A., Silveira, E.R., Hajdu, E, Pessoa, C, Moraes, M.O., Costa-lotufo, L.V. 2007, Cytotoxic Activity of Hydroetanollic Extracts of Sponges (Porifera) Collected at Pedra da Risca do Meio Marine State Park Ceara State Barzil, *Porifera Research : Biodiversity, Innovation and Sustainability*, 313 - 318
- Freimoser, F.M., Jacob, C.A. Aebi, M., and Tuor, U. 1999, The MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] Assay Is a Fast and Reliable Method for Colorimetric Determination of Fungal Cell Densities, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 : 3727 -3729
- Fusetani, N. 1987, Marine Metabolites which Inhibit Development of Echinoderm Embryos, Scheur PJ (ed), *Bioorganic Marine Chemistry* 1 : 61 – 92

- Gritter, R.J., Bobbitts, J.M. Schwarting, A.E. 1985. *Pengantar Kromatografi*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwan Sudiro, 1991, Penerbit ITB. Bandung. 6.
- Hadi, S., and Bremner, J.B. 2001, Initial Studies on Alkaloids from Lombok Medical Plants, *Molecules*, vol 6 : 117-129
- Harborne, J.B. 1984. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, 2006, Terbitan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.
- Hartati, M.S. dan Wahyuono, S. 1999. Skrining Toksisitas dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dari Daun beberapa Spesies Benalu yang Secara Tradisional digunakan untuk Mengobati Tumor di Indonesia. *Berkala Ilmu Kedokteran*. Vol. 31. No. 1: 17-22.
- Hostettmann, K., M. Hostettmann dan A. Marston. 1985. *Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung. 33-34
- Houghtin, P.J., Raman, A. 1998. *Laboratory handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Irnayanti, 2007, Fraksinasi Senyawa Aktif Antimitosis Ekstrak Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *deglabrata*), Skripsi tidak diterbitkan, Makassar : Fakultas Farmasi Unhas
- Jacobs R. S. and Wilson L. 1986, Fertilized sea urchin egg as a model for detecting cell division inhibitors. In: Modern analysis of antibiotics (A. Aszalor, ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 481-493.
- Jimenez, P.C., Fortier, S.C., Lotufo, T.M.C., Pessoa, C., Moraes, M.E.A., Moraes, M.O., and Costa-Lotufo, L.V., 2003, Biological Activity in Extracts of Ascidians (Tunicata, Ascidiaceae) from the Northeastern Brazilian Coast, *Exp. Mar. Bio. Ecol.* 287 : 93-101
- Lindholm, P, 2005, *Cytotoxic of Plant Origin-Biological and Chemistry Diversity*, Dissertation. Swedish : Degree of Doctor of Philosophy Faculty of Pharmacy-UPPSALA
- Mc Laughlin, J.L., Chang, C.J., Smith, D.L., 1993, "Bench top" bioassay for the discovery of bioactive natural products: an update, *In: Studies in Natural Products Chemistry* (Edited by: AU Rahman) Elsevier, 383-409

- Mc Laughlin, J.L., Rogers, L.L., dan Anderson, J.E., 1998, The Use of Biological Assay to Evaluate Botanical. *Drug Information Journal*. Vol. 32. 513-524.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982, Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents, *Plant. Med.* 45: 31-4
- Montenegro, R.C., Jimenez, P.C., Farias, R.A.F., Andrade-Neto, M., Bezerra, F.S., Moraes, M.E.A., de Moraes, M.O., Pessoa, C., and Costa-Lotufo, L.V., 2004, Cytotoxic Activity of Pisosterol, a Triterpene Isolated from *Pisolithus tinctorius* (Michx.: Pers.) Coker & Couch 1928, *Z. Naturforsch.* 59c: 519 – 522
- Mujiman, A., 1988, "Udang Renik Air Asin", Bharata Karya Aksara, Jakarta. 15-25.
- Mursyidi, A., 1984, "Statistik Farmasi dan Biologi", Ghalia Indonesia, Jakarta. 157
- Pisutthanan, S., Plianbangchang, P., Pisutthanan, N., Ruanruay, S., Muanrit, O, 2004, Brine Shrimp Lethality Activity of Thai Medicinal Plants in the Family Meliaceae, *Naresuan University Journal*, 12(2): 13-18
- Rahman, A., Choudhary, M.I. and Thomson W.J. 2005, *Bioassay Techniques for Drug Development*, Harwood Academic Publisher. 23
- Robinson, T. 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, 1995, Penerbit ITB, Bandung
- Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta. 240
- Sastrohamidjojo, H. 1996, *Sintesis Bahan Alam*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 54
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah Dr. Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 73
- Sumich, J.L & Dudley, G.H. 1992. *Laboratory and Field Investigation In Marine Biologi*. Ed.4. W.M.C Brown Publishers. 106
- Tan, N.H., and Zhou, J., 2006, Plant Cyclopeptides, *Chem. Rev.*, 106: 840–895

- Tarpley, W.A. 1958. Studies on the Use of Brine Shrimp *Artemia salina* leach as a Test Organism for Bioassay. *Journal of Economic Entomology*. Vol. 51. No. 6: 780-783.
- Tayeb, R., 2005, Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Bioaktif Daun Paliasa Terhadap *Artemia salina* Leach, Tesis tidak diterbitkan, Makassar : Program Pascasarjan Unhas
- Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S. 2005, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Staff Var. *Deglabrata*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi* Vol.11 : 61-71
- Torres, M.R., Sousa, A.P.A., Pessoa, C., and Costalatufu, L.V. 2005, Biological Activity of Aqueous and Organic Extracts of Seaweeds from Ceara State, Brazil. *Arq Clin. Mar, Fortaleza*, 38: 55 – 63
- Windadri, F,I., Rahayu, M., Uji T., dan Rustiami H. 2006, Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Bahan Obat oleh Masyarakat Lokal Suku Muna di Kecamatan Wakarumba, Kabupaten Muna, Sulawesi Utara, *Biodiversitas* Vol. 7 No. 4: 333 – 339

Lampiran 1. Skema kerja



Lampiran 2. Hasil pengamatan jumlah larva yang mati dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) senyawa MU-1, MU-2 dan MU-3 dari hasil isolasi ekstrak metanol daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf.var deglabarata

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah larva mati/replikasi			% kematian
		1	2	3	
Senyawa MU-1	0.5	6	8	7	70
	0.1	6	5	4	50.00
	0.05	3	3	4	33.33
	0.01	0	0	1	3.33
Senyawa MU-2	50	10	9	10	96.67
	5	5	8	8	70.00
	0.5	6	5	3	46.67
	0.005	2	0	0	6.67
Senyawa MU-3	50	9	5	6	66.67
	25	3	2	4	30.00
	12.5	3	1	2	20.00
	6.25	2	1	0	10.00
Kontrol		0	0	0	0

Lampiran 3. Hasil pengamatan uji antimitosis menggunakan sel telur bulubabi senyawa MU-1, MU-2 dan MU-3 dari hasil isolasi ekstrak metanol daun *Melochia umbellata* (hoult) stapf.var deglabarata

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	% sel membelah	% sel tidak membelah	% penghambatan
Senyawa MU-1	1	0	100	78.57
	0.1	10.46	89.54	68.11
	0.01	68.87	31.13	9.7
	0.001	73.53	26.47	5.04
Senyawa MU-2	50	17.13	82.87	61.44
	5	43.65	56.35	34.92
	0.5	65.59	34.41	12.98
	0.05	80.28	19.72	-1.71
Senyawa MU-3	50	0	100	78.57
	5	19.08	80.92	59.49
	0.5	57.03	42.97	21.54
	0.05	74.79	25.21	3.78
Kontrol		78.57	21.43	0

$$\% \text{ Membelah} = \frac{\text{Jumlah Sel yang membelah}}{\text{Jumlah Total sel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Tidak Membelah} = \frac{\text{Jumlah Sel yang tidak membelah}}{\text{Jumlah Total sel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan} = \% \text{ tidak membelah sampel} - \% \text{ tidak membelah kontrol}$$

Lampiran 4. Hasil uji MTT menggunakan sel HeLa senyawa MU-1, MU-2 dan MU-3 dari hasil isolasi ekstrak metanol daun *Melochia umbellata* (hoult) stapf.var *deglabarata*

Sampel	Konsentrasi	Absorban/replikasi		
	µg/ml	1	2	3
Senyawa MU-1	100	0.232	0.228	0.237
	50	0.794	0.836	0.825
	25	1.069	1.047	1.047
	12.5	1.175	1.08	1.12
Senyawa MU-2	100	1.177	1.136	1.147
	50	1.159	1.174	1.14
	25	1.182	1.209	1.239
	12.5	1.193	1.28	1.354
Senyawa MU-3	100	1.22	1.208	1.202
	50	1.237	1.164	1.169
	25	1.321	1.221	1.314
	12.5	1.225	1.238	1.417
Kontrol sel		1.300	1.306	1.298
		1.292		
Kontrol media		0.142	0.141	0.144
		0.147		

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{(A \text{ Kontrol} - A \text{ Media}) - (A \text{ Sampel} - A \text{ Media})}{A \text{ Kontrol} - A \text{ Media}} \times 100\%$$

Lampiran 5. Hasil perhitungan % penghambatan uji MTT menggunakan sel HeLa senyawa MU-1, MU-2 dan MU-3 dari hasil isolasi ekstrak metanol daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf.var deglabarata

Sampel	Konsentrasi	% Kematian/replikasi			rata-rata
	µg/ml	1	2	3	
Senyawa MU-1	100	92.341	92.687	91.908	92.312
	50	43.704	40.069	41.021	41.598
	25	19.905	21.809	21.809	21.174
	12.5	10.731	18.953	15.491	15.058
Senyawa MU-2	100	10.558	14.106	13.154	12.606
	50	12.116	10.818	13.760	12.231
	25	10.125	7.789	5.193	7.702
Senyawa MU-3	100	11.467	11.683	11.251	11.467
	50	6.837	7.875	8.395	7.702
	25	1.232	1.102	1.201	1.178

Lampiran 6. Harga probit sesuai prosentasenya

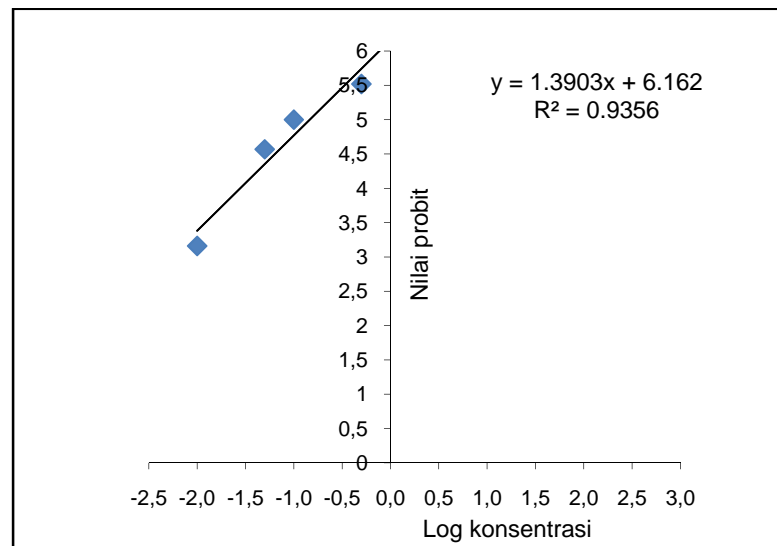
PROSENTASE	PROBIT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	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	5,36	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	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Sumber : Mursyidi, A., (1984), " Statistik Farmasi Dan Biologi " Ghalia Indonesia, Cetakan I, Jakarta, 157

Lampiran 7. Contoh cara perhitungan nilai LC_{50} hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)

Sampel	Konsentrasi ug/mL	Log konsentrasi	% kematian	Probit
Senyawa MU-11	0.5	-0.301	70	5.52
	0.1	-1.000	50	5
	0.05	-1.301	33.33	4.57
	0.01	-2.000	3.33	3.16

Hasil analisis regresi diperoleh hasil sebagai berikut :



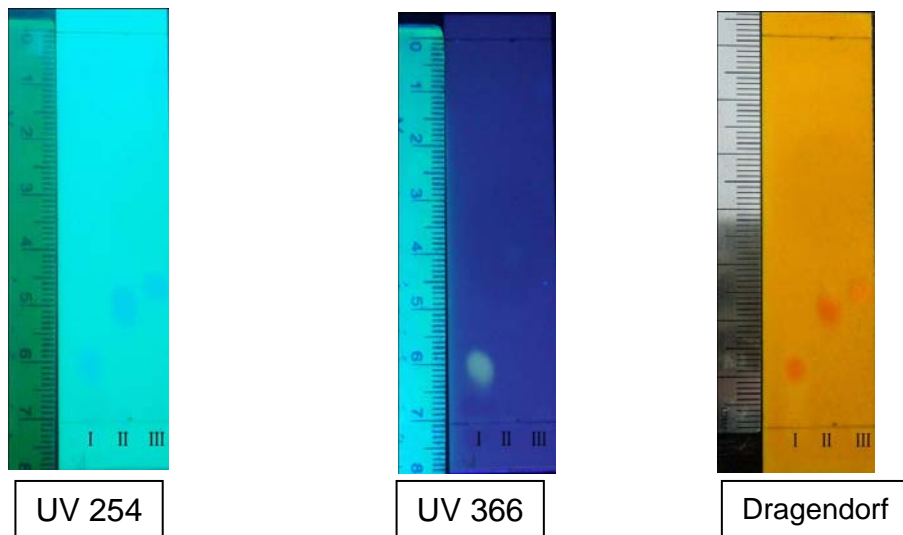
Nilai LC_{50} yaitu : $Y = 5$

$$X = (5 - 6,162)/1,3903$$

$$X = -0.83579$$

Sehingga nilai LC_{50} = antilog -0,83579

$$= \mathbf{0.145952 \mu g/ml}$$

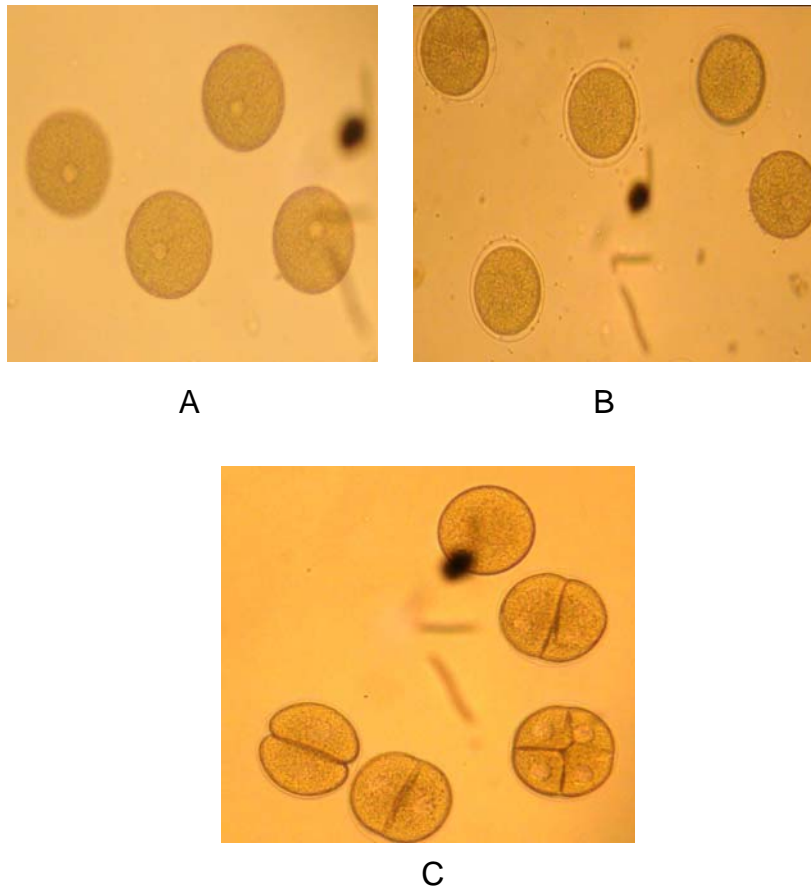


Gambar 9. Kromatogram lapis tipis senyawa alkaloid hasil isolasi dari ekstrak daun *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var *deglabrata*

Keterangan :

Fase diam : Silika gel GF₂₅₄

Fase gerak : benzene : etilasetat : ammonia (4 :1:3 tetes)



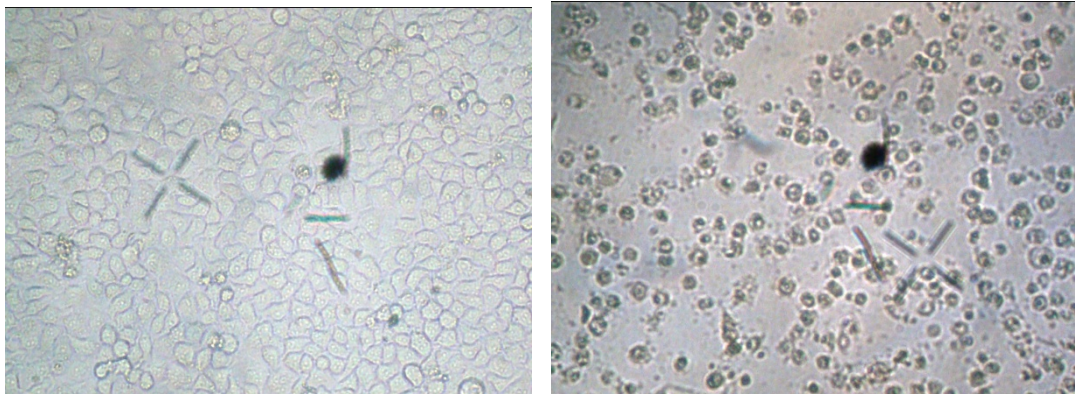
Gambar 10. Foto sel telur bulubabi

Keterangan :

A : Sel telur sebelum fertilisasi

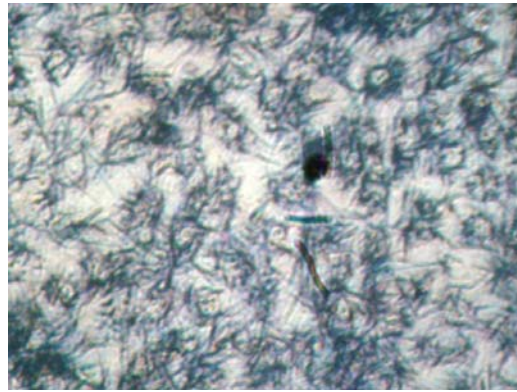
B : Sel telur setelah fertilisasi

C : sel telur setelah mengalami pembelahan



A

B



C

Gambar 11 Foto sel HeLa

Keterangan :

A : Sel HeLa sebelum perlakuan sampel

B : Sel HeLa setelah perlakuan sampel

C : Sel HeLa setelah penambahan MTT



Gambar 12. Foto Tumbuhan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. *deglabrata*