

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
FRAKSI n-HEKSANA YANG AKTIF TERHADAP BENUR UDANG
Artemia salina LEACH DARI DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*)

SERIWANTA ALYUS
H 311 13



anuddin
KAAN
IP08

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008



**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL HERBA KELADI
TIKUS (*Typhonium divaricatum* Decne) DENGAN METODE
UJI LETAL UDANG RENIK AIR ASIN**

OLEH
ANA ADRIYANI
H511 96046

REPUBLIK INDONESIA	
Tgl. Pengantar	08-07-2006
No.	pal. mipa
Spesies	Loe x sp
No. Divisi	0109-08/04
No. Klas	14771



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2001

SKRIPSI

OLEH

ANA ADRIYANI

H511 96046



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2001

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL HERBA KELADI TIKUS
(*Typhonium divaricatum* Decne) DENGAN METODE
UJI LETAL UDANG RENIK AIR ASIN**

**OLEH
ANA ADRIYANI
H511 96046**

Skripsi untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar sarjana

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2001

UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL HERBA KELADI TIKUS

(Typhonium divaricatum Decne) DENGAN METODE

UJI LETAL UDANG RENIK AIR ASIN

Disetujui oleh

Pembimbing Utama



(Dra. Eva Firmina Sabu, M.Sc)

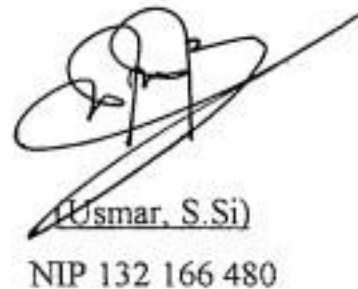
NIP 130 369 540

Pembimbing Pertama



(Drs. H. Moh Hasbi)
NIP 130 369 543

Pembimbing Kedua



(Usmar, S.Si)
NIP 132 166 480

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas karunia dan perkenan-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai.

Pada kesempatan ini, dengan penuh kerendahan hati ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar besarnya kepada Ibu **Dra. Eva Firmina Sabu, M.Sc** selaku pembimbing utama, Bapak **Drs. H. Moh Hasbi** selaku pembimbing pertama dan penasehat akademis penulis serta Bapak **Usmar, S.Si** selaku pembimbing kedua atas kesediannya meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membantu dan membimbing penulis hingga selesainya skripsi ini. Juga kepada Bapak **Drs. Gemini Alam, M.Si** atas bantuan dan bimbingan beliau untuk penelitian ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih.

Pada kesempatan ini pula, tak lupa kami mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Bapak/Ibu dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya di Jurusan Farmasi.
4. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

5. "Rotary Club of Bugis Junction Singapore" dan "Rotary Club Makassar"
Khususnya **Mr. Stanley Belliston** atas segala bantuan selama penulis menjalankan pendidikan.
6. Sahabat dan rekan rekan angkatan 96' Jurusan Farmasi :Ina, Piyeng, Minne, Kalu, Uli, Yuli, Rahim, K'Ilo dan semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu . Terima kasih, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalasnya.

Akhirnya kepada keluarga tercinta Ayahanda **Drs. Muchtar Andi Mala** dan Ibunda **Hj. Hartatiah Patiroi** , saudara-saudaraku serta seluruh keluarga yang telah dan selalu mendoakan serta meberikan bantuan moril maupun materil tanpa pamrih dan ketulusan hati.

Bersama dengan ini penulis menyampaikan mohon maaf yang sebesar besarnya atas segala keterbatasan dan kesalahan selama ini. Semoga hal ini dapat menjadi cambuk dan pelajaran berharga di kemudian hari.

Demikian pula dalam penulisan ini yang masih banyak kekurangan, oleh karena itu berbagai kritik dan saran akan sangat berguna untuk proses belajar yang tidak pernah berhenti. Semoga penulisan ini bermanfaat bagi semua pihak.

Makassar, Juni 2001

PENULIS

ABSTRAK

Telah dilakukan uji toksisitas ekstrak metanol herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) dengan metode uji letal udang renik air asin menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Pengujian ini merupakan salah satu metode untuk uji pendahuluan efek sitotoksik dengan hewan uji larva udang yang pertumbuhannya sangat pesat. Penelitian ini meliputi pengamatan kematian larva udang setelah perlakuan dengan ekstrak metanol selama 24 jam dalam beberapa konsentrasi dengan penentuan LC_{50} .

Penelitian ini bertujuan untuk menguji adanya efek toksik dari ekstrak metanol herba keladi tikus terhadap larva udang *Artemia salina* Leach yang diduga berkaitan dengan efek sitotoksiknya.

Ekstrak metanol kental dilarutkan dalam air laut yang sebelumnya telah dilarutkan dalam metanol 1% dan dibuat dalam konsentrasi berturut-turut 1,10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 $\mu\text{g/ml}$ serta metanol 1% dalam air laut sebagai pembanding negatif dan larutan siklofosfamid dengan konsentrasi berturut-turut 1,10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 $\mu\text{g/ml}$ sebagai pembanding positif. Untuk tiap konsentrasi digunakan 10 ekor larva udang dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian berupa data jumlah larva udang yang mati dan dihitung dengan metode grafik probit log konsentrasi diperoleh nilai LC_{50} yaitu $84,14 \pm 18,40 \mu\text{g/ml}$ dan larutan siklofosfamid $64,71 \pm 14,45 \mu\text{g/ml}$ sedangkan pada pembanding negatif

tidak terdapat larva udang yang mati.

Berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* decne.) bersifat toksik terhadap larva udang dimana sifat toksik ini diduga berkaitan dengan efek sitotoksiknya.

ABSTRACT

A research concerning the toxicity of methanol extract of Rodent Tuber (*Typhonium divaricatum* Decne) herb using brine shrimp lethality test has been conducted. This test is one of the methods for preliminary tests of cytotoxicity effect using well grown brine shrimp as the experimental animal. This research included the observation of mortality on brine shrimp nauplii (*Artemia salina* Leach) after treated with the extract for 24 hours and determination LC_{50} for each extract.

The aim of this research is to examine the toxicity effect of methanol extract from rodent tuber herb (*Typhonium divaricatum* Decne) over brine shrimp (*Artemia salina* Leach), which was assumed to be related to its toxicity effect by determine the LC_{50} of the extract.

The concentrated methanol extract was dissolved into sea water that was pre-dissolved in methanol 1% , and made in concentrations of 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 $\mu\text{g/ml}$ respectively; methanol 1% in sea water used as a negative control, and cyclophosphamide solution in concentration of 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 $\mu\text{g/ml}$ respectively as positive controls. Ten brine shrimp was used for each and three replications were proceed.

The number of dead brine shrimp were caalculated using probit log concentration method, to obtain LC_{50} value, which is $84,14 \pm 18,40 \mu\text{g/ml}$ for methanol extract and $64,71 \pm 14,45 \mu\text{g/ml}$ for cyclophosphamide solution. However, no brine shrimp dead was found in the negative control.

no brine shrimp dead was found in the negative control.

According to LC_{50} value, it was concluded that the methanol extract is toxic to the brine shrimps where as this toxicity property was assumed to be related to its cytotoxicity effect.

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Ucapan terima kasih	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	viii
Daftar isi	ix
Daftar lampiran	xiii
Daftar tabel	xiv
Daftar gambar	xv
BAB I Pendahuluan.....	1
BAB II Pola Penelitian.....	3
BAB III Tinjauan Pustaka.....	6
III.1 Uraian Umum	6
III.1.1 Klasifikasi	6
A. Tumbuhan	6
B. Hewan	6
III.1.2 Morfologi	8

A. Tumbuhan	8
B. Hewan	8
III.1.3 Nama daerah Tumbuhan	9
III.1.4 Kandungan kimia Tumbuhan	9
III.1.5 Kegunaan Tumbuhan	9
III.2 Metode Ekstraksi	9
III.3 Uraian Tentang toksisitas.....	10
III.3.1 Toksisitas	10
III.3.2 Konsentrasi letal tengah (LC_{50})	12
III.4 Uji Hayati Produk Bioaktif Alam	13
III.5 Siklofosamid	15
BAB IV Pelaksanaan Penelitian	17
IV.1 Alat dan Bahan	17
IV.1 Alat alat yang digunakan	17
IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan	17
IV.2 Penyiapan bahan penelitian	18
IV.2.1 Pengambilan sampel	18
IV.2.2 Pengolahan Sampel	18
IV.2.3 Ekstraksi sampel	18
IV.2.4 Penyiapan larva.....	19
IV.2.5 Pembuatan sampel uji	19

IV.3 Pelaksanaan pengujian	20
IV.4 Pengumpulan dan analisa data	20
IV.5 Pembahasan hasil	20
IV.6 Pengambilan kesimpulan	20
BAB V Hasil dan Pembahasan	22
V.1 Hasil Penelitian	22
V.2 Pembahasan	22
BAB VI Penutup	26
VI.1 Kesimpulan	26
VI.2 Saran	26
Daftar Pustaka	27
Tabel	24
Lampiran	31
Gambar.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1a.	Perhitungan LC_{50} Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (<i>Typhonium divaricatum</i> Decne) Menurut Metode Grafik Probit Log Konsentrasi.....	31
Lampiran 1b.	Perhitungan LC_{50} Pembanding Positif Larutan Siklofosfamid Menurut Metode Grafik Probit Log Konsentrasi	33
Lampiran 2a.	Perhitungan Standar Deviasi LC_{50} Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (<i>Typhonium divaricatum</i> Decne) Berdasarkan Nilai Bobot Per Probit	32
Lampiran 2b.	Perhitungan Standar Deviasi LC_{50} Pembanding Positif Larutan Siklofosfamid Berdasarkan Nilai Bobot Per Probit.....	34
Lampiran 3.	Analisa Data Pengamatan Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach Dengan Metode Rancangan Faktorial.....	35



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil Perhitungan LC_{50} dan Jumlah Rata-Rata Larva Udang Yang Mati Terhadap Beberapa Sampel Uji ...	24
Tabel 2. Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach Setelah 24 Jam Perlakuan....	29.
Tabel 3. Harga Probit Sesuai Prosentasenya	42
Tabel 4. Nilai Bobot Per Probit.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Kerja	38
Gambar 2a. Grafik Hubungan Log Konsentrasi Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (<i>Typhonium divaricatum</i> Decne) Terhadap Harga Probit Pesuai Persentase Kematian ..	39
Gambar 2b. Grafik Hubungan Log Konsentrasi Larutan Siklofosfamid Terhadap Harga Probit Sesuai Persentase Kematian	40
Gambar 3. Histogram Jumlah Rata-Rata Larva Udang Yang Mati Terhadap Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (<i>Typhonium divaricatum</i> Decne) dan kontrol pada tiap konsentrasi	41
Gambar 4. Siklus Hidup <i>Artemia salina</i> Leach.....	44
Gambar 5. Foto Tanaman Keladi tikus (<i>Typhonium divaricatum</i> Decne).....	45

BAB I

PENDAHULUAN

Dewasa ini kanker diperkirakan sebagai penyakit nomor tiga penyebab kematian di Indonesia, oleh karena itu pengobatan kanker semakin bertambah penting akhir akhir ini. Kebanyakan penderita kanker sekarang menerima beberapa bentuk pengobatan, meskipun dalam banyak kasus hanya untuk meringankan penyakit saja. Pengobatan kanker dengan kemoterapi menghadapi beberapa kendala, antara lain mahalnya harga obat dan banyak efek samping yang ditimbulkan seperti rambut rontok, mual, hilangnya nafsu makan, sehingga perlu dicari pengobatan alternatif lain .

Obat tradisional merupakan salah satu warisan budaya bangsa yang perlu diteliti dan dikembangkan serta dimanfaatkan secara maksimal. Salah satu tumbuhan obat yang telah digunakan secara tradisional adalah herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne). Tanaman ini telah digunakan oleh masyarakat di Malaysia untuk mengobati beberapa macam penyakit kanker diantaranya kanker payudara, kanker hati, kanker lambung, kanker pankreas, kanker usus, kanker mulut rahim (1). Walaupun ada beberapa literatur yang mengatakan tanaman ini beracun (1)) tetapi menurut keterangan dari Yayasan Cancer Care Jakarta cairan tanaman tidak bersifat racun sehingga aman untuk dikonsumsi, dan cairan tanaman ini dapat membantu mengatasi efek samping dari kemoterapi seperti rambut rontok, mual, dan hilangnya nafsu makan. Berdasarkan hal tersebut maka perlu

dilakukan uji sitotoksik terhadap tanaman keladi tikus sebagai suatu upaya untuk pengembangan tanaman ini sebagai obat antikanker.

Uji lethal udang renik air asin merupakan salah satu metode pengujian bahan yang bersifat sitotoksik dengan menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach. Bahan yang mempunyai letalitas terhadap larva udang diperkirakan mempunyai kemampuan untuk membunuh sel kanker dalam kultur sel (2). Walaupun metode pengujian ini tidak spesifik terhadap aktivitas bahan antitumor (3), namun dapat dikatakan mempunyai toleransi yang positif dan pengujiannya lebih cepat, murah, mudah dan tidak memerlukan kondisi aseptis (4)

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji adanya efek toksik dari ekstrak metanol herba keladi tikus terhadap larva udang *Artemia salina* Leach yang diduga berkaitan dengan efek sitotoksiknya dengan menentukan LC_{50} dari ekstrak tersebut.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disiapkan sesuai kebutuhan.

II.2 Penyiapan Bahan Penelitian

II.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel herba keladi tikus *Typhonium divaricatum* Decne diambil di wilayah Sidoarjo Jawa Timur.

II.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel dibersihkan dan diangin anginkan, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan.

II.2.3 Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol, Dan ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapor .

II.2.4 Penyiapan Larva

Telur *A. salina* Leach ditetaskan 48 jam sebelum pelaksanaan pengujian dengan cara merendam telur udang dalam air laut dengan penerangan dan aerasi. Larva yang berumur 48 jam digunakan sebagai hewan uji.

II.2.5 Pembuatan Sampel Uji

Ekstrak metanol kental yang diperoleh dilarutkan dengan pelarut yang sesuai untuk mendapatkan konsentrasi 2 mg/ml, kemudian dari larutan stok tersebut dibuat kadar 1,10,50,100,200,400,800,1000,1500 µg/ml dengan memipet larutan stok dengan mikropipet, kemudian pelarut diuapkan dan ditambahkan air laut masing masing 5 ml.

II.3 Pelaksanaan Uji Toksisitas

Larva udang yang telah berumur 48 jam dimasukkan ke dalam vial yang berisi ekstrak metanol dalam air laut. Setiap vial ekstrak terdapat 10 ekor larva udang, kemudian dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan air laut dan disimpan pada tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Pengamatan jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam. Dilakukan pula uji yang sama terhadap larutan kontrol negatif yaitu metanol 1% dan kontrol positif yaitu larutan siklofosfamid.

II.4 Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis probit untuk menghitung LC_{50} (4,5).

II.5 Pembahasan Hasil

Pembahasan diuraikan berdasarkan hasil yang diperoleh dari analisis data.

II.6. Pengambilan Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan hasil disimpulkan toksisitas dari ekstrak metanol bahwa bila harga LC_{50} di bawah $1000 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan toksik dan berpotensi sebagai antikarsinogen sedangkan bila harganya di atas $1000 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan tidak toksik (4).

BAB III
TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Uraian Umum

III.1.1 Klasifikasi

A. Tumbuhan (7)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Anak divisi: Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Bangsa : Arcales

Suku : Araceae

Marga : Typhonium

Jenis : *Typhonium divaricatum* Decne

B. Hewan uji (8)

Filum : Arthropoda

Kelas : Crustaceae

Anak kelas: Branchiopoda

Bangsa : Anostraca

Suku : Artemiidae

Marga : Artemia

Jenis : *Artemia salina* Leach

III.1.2 Morfologi

A. Tumbuhan (9,10)

Terna menahun, tinggi 10 hingga 45 cm, batang di atas tanah, tumbuh mulai dari dataran rendah hingga ± 1000 m di atas permukaan laut di tempat terbuka (tersinari matahari) ataupun agak rindang yang biasanya lembab. Kelopak bunganya berbentuk tikus pada waktu mekar, bunganya berwarna putih. Daun berwarna hijau halus, ujungnya berbentuk ujung anak panah yang melebar. Batang daun berwarna hijau keputih putihan. Akarnya membesar seperti umbi dan berwarna putih.

B. Hewan uji(8,11)

Udang *Artemia salina* Leach mengalami beberapa fase hidup, tetapi secara jelas dapat dilihat dalam tiga bentuk yang sangat berlainan, yaitu bentuk telur, nauplii dan artemia dewasa. Telur yang baru dipanen dari alam berbentuk bulat dengan ukuran 0,2-0,3 mm. Telur yang menetas akan berubah menjadi nauplius.

Nauplius yang baru menetas ini berukuran kurang lebih 300 mikron. Di antara antenula terdapat bintik merah yang disebut "oselus" yang berfungsi sebagai mata nauplius. Dalam pertumbuhannya nauplius mengalami 15 kali perubahan bentuk yang merupakan satu tingkatan hidup, setelah itu berubah menjadi

artemia dewasa. Waktu yang diperlukan sampai menjadi artemia dewasa umumnya sekitar 2-3 minggu. Artemia dewasa berbentuk silinder dengan panjang 12-15 mm. Tubuh terbagi atas bagian kepala, dada dan perut. Pada bagian kepala terdapat 2 tangkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Dada terbagi atas 12 segmen yang masing masing mempunyai sepasang kaki renang. Perut terbagi atas 8 segmen, Artemia dapat hidup pada air laut dengan salinitas 10-220 per mil dengan suhu 25-30°C dengan pH berkisar antara 7,3-8,4. Artemia dapat tumbuh cepat pada perairan laut tetapi tidak mempunyai pertahanan tubuh untuk mampu melawan predator, sehingga artemia selalu dalam keadaan berbahaya pada perairan dengan salinitas yang masih layak bagi kehidupan organisme karnivora. Namun demikian Artemia mempunyai mekanisme pertahanan ekologi yang sangat efisien melalui adaptasi fisiologi terhadap media bersalinitas tinggi di mana predator tidak dapat hidup.

Artemia dikenal mempunyai 2 macam reproduksi yaitu secara ovovipar di mana telur yang telah dibuahi menetas menjadi nauplius dan kemudian dilepas oleh induknya di dalam air. Cara lainnya adalah ovipar yaitu telur yang telah mencapai stadium grastula yang terbungkus dengan kulit luar yang relatif tebal dikeluarkan oleh induknya dalam bentuk kista/telur.

III.1.3 Nama Daerah Tumbuhan (9)

Indonesia : Keladi tikus

Sunda : Ileus, Ki babi

Jawa : Trenggiling mentik

Ternate : Gofu, sepa

III.1.4 Kandungan kimia Tumbuhan (9)

Tanaman dari Suku Araceae sebagian besar mengandung sianida

III.1.5 Kegunaan tumbuhan (1,10)

Selain untuk kanker, tanaman keladi tikus juga bermanfaat untuk penyembuhan penyakit sinusitis, hepatitis, wasir, sakit pinggang, otot dan persendian, perdarahan usus, kesemutan, biang keringat.

III.2 Metode Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia dalam tanaman/simplisia. Ekstraksi adalah pemisahan senyawa aktif dari tanaman atau jaringan hewan, dari komponen inaktif atau inert dengan menggunakan pelarut yang selektif (12).

Maserasi merupakan jenis ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat

aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka zat aktif (zat terlarut) ditarik keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (12,13).

Maserasi umumnya dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus tertentu dimasukkan ke dalam suatu bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari di tempat yang terlindung dari cahaya sambil sekali-sekali diaduk (12).

Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil kecilnya antara larutan didalam sel dengan diluar sel (12).

III.3 Uraian Tentang Toksisitas

III.3.1 Toksisitas

Toksisitas adalah efek berbahaya dari bahan kimia atau suatu obat pada organ target (14). Umumnya setiap senyawa kimia mempunyai potensi terhadap timbulnya gangguan atau kematian jika diberikan kepada organisme hidup dalam jumlah yang cukup. Paracelsus pada tahun 1564 telah meletakkan dasar penilaian toksikologis dengan mengatakan bahwa senyawa kimia pada hakekatnya adalah racun, hanya dosis yang membedakan antara obat dan racun (16).

Bahan-bahan yang dapat bersifat toksik antara lain zat tambahan dan pencemar pada makanan (seperti pewarna, pengawet, pemanis, antioksidan, bumbu penyedap, dan lain lain), pestisida (seperti insektisida, herbisida, fungisida, dan lain lain), logam-logam, terutama logam berat, zat kimia industri dan obat-obatan serta pencemar lingkungan (16).

Efek toksik yang terjadi sangat bervariasi dalam sifat, organ sasaran maupun mekanisme kerjanya. Efek toksik dapat bersifat :

- Lokal ; yaitu hanya terjadi pada tempat bahan toksik bersentuhan dengan tubuh, misalnya pada saluran pencernaan, bahan korosif pada kulit, iritasi gas atau uap saluran napas.
- Sistemik ; terjadi hanya setelah toksikan tersekap dan tersebar ke bagian tubuh lain. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu atau beberapa organ saja.
- Reversibel, bila efek yang ditimbulkan dapat hilang dengan sendirinya atau dapat hilang beberapa waktu setelah pemaparan toksikan terhenti.
- Irreversibel, yaitu efek yang menetap atau justru bertambah parah setelah pemaparan toksikan terhenti. Efek ini dapat dihasilkan pada pemaparan pada waktu yang lama atau dengan kadar toksikan yang tinggi(16).

III.3.2 Konsentrasi Letal Tengah (LC_{50})

Pengertian yang paling sederhana tentang LD_{50} adalah dosis dari suatu senyawa kimia yang dapat menyebabkan 50% kematian hewan percobaan (14,17). Pengertian yang lebih tepat adalah dosis tunggal yang diperoleh secara statistik dari suatu bahan yang dapat menyebabkan 50% kematian hewan percobaan (14). Istilah LD_{50} digunakan untuk perlakuan secara oral dan injeksi sedangkan LC_{50} digunakan untuk perlakuan secara inhalasi atau percobaan toksisitas dalam media air(18).

Nilai LD_{50} yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas suatu bahan kimia dan menentukan indeks terapi yaitu dengan membagi LD_{50} dengan ED_{50} . Dosis tunggal yang diperoleh secara statistik yang dapat menimbulkan efek yang diharapkan pada 50% hewan percobaan disebut "Median Effective Dose" (ED_{50}). Makin tinggi indeks terapi, makin besar batas keamanan obat atau bahan kimia tersebut. Selain itu nilai LD_{50} dapat digunakan sebagai pedoman tingkat keamanan suatu obat pada pengembangan obat baru (14,17).

Penentuan LD_{50} dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan grafik probit log konsentrasi, metode grafik, perhitungan secara matematika ataupun menggunakan metode Reed dan Muench (14,17,18). Penentuan dengan metode grafik probit log konsentrasi dilakukan dengan menempatkan persentase respon dari tiap kelompok



hewan pada ordinat dan logaritma dosis obat yang diberikan sebagai absis. Persentase respon (angka kematian) tersebut dapat dikonversikan menjadi probit, di mana notasi probit adalah $5 +$ simpangan baku. Nilai LD_{50} ditentukan dengan membuat grafik hubungan antara probit dan logaritma dosis yang merupakan garis lurus, di mana dari garis lurus tersebut akan diperoleh logaritma LD_{50} yang selanjutnya diubah menjadi LD_{50} (14,17).

III.4 Uji Hayati Produk Bioaktif Alam

Penelitian fitokimia saat ini lebih ditekankan pada penelitian untuk mendapatkan senyawa bioaktif. Uji hayati yang digunakan untuk tujuan ini sebaiknya sederhana pada pengerjaannya, dapat dilakukan dengan cepat, ekonomis dan menghasilkan korelasi statistik yang valid dengan bioaktivitas yang diharapkan (6).

Belakangan ini telah banyak pengujian sitotoksitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antineoplastik. Metode pengujian tersebut antara lain "Simple Bench-Top Bioassay (terdiri dari Uji lethal udang renik air asin, "Lemna Minor Bioassay" dan Crown-Gall Potato Disc Bioassay) dan pengujian pada pembelahan sel telur bulu babi (2,3)

Dengan berdasarkan pada pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa antitumor adalah sitotoksik (15), maka digunakan "Brine Shrimp Lethality

Test” sebagai uji pendahuluan senyawa antitumor . Senyawa yang mempunyai kemampuan membunuh larva udang diperkirakan juga mempunyai kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel (2).

Pengujian Brine Shrimp adalah pengujian letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktivitas antitumor, tetapi merupakan indikator sitotoksitas yang baik dan menunjukkan korelasi yang kuat dengan pengujian antitumor lainnya seperti uji sitotoksitas dan uji leukemia tikus. Karena kesederhanaan prosedur pengerjaan, biaya yang rendah serta korelasinya terhadap pengujian sitotoksitas dan pengujian antitumor menjadikan “Brine Shrimp Lethality Test” sebagai uji hayati pendahuluan untuk aktivitas antitumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (4,6).

“Lemna Minor Bioassay” terutama digunakan sebagai uji pendahuluan terhadap bahan yang dapat menghambat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dengan pengujian ini dapat diamati bahwa senyawa antitumor alami juga dapat menghambat pertumbuhan lemna, walaupun korelasinya dengan pengujian antitumor lainnya kurang baik. Oleh karena itu pengujian ini lebih diarahkan untuk mencari herbisida dan stimulan pertumbuhan tanaman yang baru (2).

“Crown-Gall Potato Disc Bioassay” merupakan metode pengujian sitotoksitas yang relatif cepat pengerjaannya, tidak mahal, tidak memerlukan hewan percobaan serta menunjukkan korelasi yang sangat baik dengan uji

antitumor lainnya. Crown Gall merupakan suatu penyakit neoplastik pada tumbuhan yang disebabkan oleh bakteri gram negatif *Agrobacterium tumefaciens* yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan jaringan tumor secara otonom dan tidak dipengaruhi oleh mekanisme kontrol normal tumbuhan. Pengujian dilakukan dengan mengukur kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan tumor crown gall pada umbi kentang yang diinfeksi dengan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* (2,3,6)

Pengujian pembelahan sel telur bulu babi dilakukan dengan mengamati penghambatan pembelahan sel telur oleh suatu senyawa, dimana secara normal pembelahan sel telur tersebut terjadi dengan cepat. Keuntungan dari metode ini adalah pengerjaannya yang relatif cepat, tidak memerlukan kultur sel serta peralatan dan metode khusus. Seperti sel kanker, embrio bulu babi juga mempunyai sensitifitas selektif terhadap obat sehingga pengujian dengan cara ini menjadi metode yang layak bagi penentuan bahan yang akan dievaluasi lebih lanjut dari kemampuan antineoplastiknya dengan pengujian secara in vivo (19, 20, 3).

III.5 Siklofosfamid (15)

Dalam penelitian ini, siklofosfamid yang merupakan obat antikanker digunakan sebagai pembanding positif. Siklofosfamid merupakan salah satu alkilator yang paling banyak digunakan, umumnya dalam bentuk monohidratnya. Obat ini merupakan obat tak spesifik terhadap siklus sel. Berbagai alkilator menunjukkan cara kerja yang sama yaitu melalui

pembentukan intermediet yang sangat reaktif yang selanjutnya membentuk ikatan kovalen dengan berbagai nukleofilik penting tubuh misalnya fosfat, amino, sulfhidril, hidroksil, karboksil atau gugus imidasol. Efek sitostatik maupun efek sampingnya berhubungan langsung dengan terjadinya alkilasi DNA ini.

Siklofosfamid adalah pilihan utama dan sangat efektif terhadap penyakit Hodgkin stadium III dan IV, neuroblastoma pada anak serta limfoma non Hodgkin. Siklofosfamid merupakan "pro drug" sehingga efeknya dipengaruhi oleh penghambat atau perangsang enzim metabolismenya. Sebaliknya obat ini merangsang enzim mikrosom sehingga dapat mempengaruhi aktivitas obat lain.

BAB IV
PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat alat yang digunakan

1. Aerator
2. Batang pengaduk
3. Cawan porselin
4. Corong
5. Gelas piala
6. Gelas ukur
7. Kaca pembesar
8. Mikropipet (Socorex)
9. Neraca analitik (Sartorius)
10. Pipet tetes
11. Rotavapor (Sartorius)
12. Seperangkat alat maserasi
13. Timbangan (O'hauss)
14. Vial

IV.1.2 Bahan bahan yang digunakan

1. Air laut
2. Air suling

3. Ekstrak ragi (Liman)
4. Larutan Siklofosfamid untuk injeksi (*Neosar[®]200 mg*)
(Farmitalia Carlo Erba)
5. Kertas pH universal
6. Kertas saring
7. Metanol (teknis)
8. Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne)
9. Telur udang *A.salina* Leach (Mackay Marine Co.Inc)

IV.2 Penyiapan Bahan Penelitian

IV.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) diambil dari wilayah Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur.

IV.2.2 Pengolahan Sampel

Contoh dibersihkan dengan air kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada cahaya matahari tidak langsung di tempat yang terlindung dari cahaya matahari. Setelah kering, bahan diserbukkan dengan derajat halus 4/18.

IV.2.3 Ekstraksi Sampel

Sebanyak 500 gram serbuk herba kering diekstraksi secara maserasi dengan 2 liter metanol selama 3 kali lima hari. Ekstrak metanol dikumpulkan dan diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak

kental, selanjutnya ditimbang sesuai kebutuhan untuk membuat sampel uji.

IV.2.4 Penyiapan Larva (4)

Sebanyak 50 mg telur *A.salina* Leach, direndam dalam 200 ml air laut pada kondisi pH 7-8 di bawah cahaya lampu dan suhu 25°C, dan dilengkapi dengan aerator. Telur udang akan menetas setelah 24 jam dan menjadi larva. Larva yang telah berumur 2 hari digunakan sebagai hewan uji aktivitas ketoksikan.

IV.2.5 Pembuatan sampel uji (4)

Ekstrak kental yang telah ditimbang dilarutkan dengan pelarutnya hingga diperoleh konsentrasi 2 mg/ml sebagai stok. Dari sediaan tersebut dipipet ke dalam vial masing masing 5 µl, 50 µl, 500 µl, 1000 µl, 2000 µl, 4000 µl, 5000 µl dan 7500 µl dengan menggunakan mikropipet, kemudian pelarutnya diuapkan lalu ditambahkan 5 ml air laut. Dari prosedur ini diperoleh konsentrasi masing-masing 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, dan 1500 µg/ml. Untuk ekstrak yang tidak larut dalam air laut, sebelumnya dilarutkan dalam metanol sebanyak 1 %. Kontrol positif dibuat dengan menggunakan larutan siklofosfamid untuk injeksi dengan konsentrasi dan perlakuan yang sama dengan sampel, sedangkan kontrol negatif dibuat dengan menambahkan metanol sebanyak 1% ke dalam air laut.

IV.3 Pelaksanaan Pengujian (4)

Ke dalam masing masing vial yang berisi ekstrak metanol serta larutan kontrol dengan berbagai konsentrasi dimasukkan 10 ekor larva udang *A.salina* Leach dan volumenya dicukupkan sampai 10 ml dengan air laut. Ke dalam tiap vial ditambahkan 1 tetes suspensi ekstrak ragi (3 mg dalam 5 ml air laut) sebagai sumber makanan. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati. Untuk tiap sampel uji dan kontrol dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

IV.4 Pengumpulan dan Analisis Data

Data dikumpulkan dari hasil pengamatan jumlah larva yang mati dari tiap konsentrasi sampel dan kontrol setelah 24 jam. Data tersebut selanjutnya dianalisis secara analisis probit untuk memperoleh LC_{50} , dengan melihat grafik hubungan jumlah larva mati vs konsentrasi sampel.

IV.5 Pembahasan Hasil

Pembahasan diuraikan berdasarkan hasil yang diperoleh dari analisis data.

IV.6 Pengambilan Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan hasil disimpulkan toksisitas dari ekstrak metanol, bahwa bila harga LC_{50} di bawah 1000 $\mu\text{g/ml}$ dinyatakan toksik dan berpotensi sebagai antikarsinogen sedangkan bila harganya di atas 1000 $\mu\text{g/ml}$ dinyatakan tidak toksik (4)

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 HASIL PENELITIAN

Hasil ekstraksi secara maserasi dari 500 g sampel herba keladi tikus segar (*Typhonium divaricatum* Decne) diperoleh ekstrak 30,1 g dalam bentuk ekstrak kental.

Ekstrak metanol, pembanding positif larutan siklofosfamid dalam konsentrasi 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 µg/ml, bersama pembanding negatif metanol 1% diujikan terhadap hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach dengan parameter kematian setelah 24 jam perlakuan sebagai respon toksisitas diperoleh hasil seperti pada tabel 1.

V.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas ekstrak metanol dari herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) dengan pembanding positif larutan siklofosfamid dan pembanding negatif metanol 1% terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Pengamatan dilakukan setelah perlakuan selama 24 jam dengan parameter kematian larva udang.

Proses ekstraksi digunakan metode maserasi dengan pelarut metanol yang bersifat semipolar untuk menarik komponen-komponen kimia yang bersifat polar dan non polar. Metode maserasi digunakan karena struktur herba yang lunak.

Penggunaan pembanding negatif metanol 1% dimaksudkan untuk melihat apakah respon kematian hewan uji benar benar berasal dari sampel dan bukan disebabkan oleh faktor teknis perlakuan, dimana metanol 1% digunakan untuk membantu kelarutan dari ekstrak yang tidak larut dalam media air laut.

Siklofosfamid yang merupakan antikanker digunakan sebagai pembanding positif dengan maksud untuk melihat apakah respon kematian dari hewan uji benar benar disebabkan oleh bahan kimia yang berkhasiat antikanker.

Penelitian ini merupakan penelitian secara *in vitro* yang dimaksudkan sebagai uji pendahuluan sitotoksitas atau sebagai indikator toksisitas dari ekstrak metanol herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) yang kelak dapat dijadikan sebagai informasi awal dalam pengujian efek sitotoksitas dan efek antitumor secara *in vitro* lanjutan terhadap sel tumor yang lebih spesifik.

Ekstrak metanol dan pembanding positif dibuat dengan konsentrasi 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500 $\mu\text{g/ml}$ ini dimaksudkan untuk melihat variasi respon yang diberikan di bawah dan di atas konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ dan diujikan pada hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach berumur 48 jam, karena pada umur tersebut *Artemia salina* mengalami pertumbuhan yang cepat sehingga diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal. Sebanyak masing-masing 10 ekor untuk tiap konsentrasi, sampel diujikan dengan parameter kematian setelah 24 jam dan diulang sebanyak 3 kali. Selama pengamatan kondisi ditentukan dengan

pH air 7-8 suhu 25°C dan ke dalam tiap vial diberikan 1 tetes ekstrak ragi untuk mengoptimalkan hasil yang diperoleh.

Efek toksik dari masing masing sampel dapat ditentukan dengan melihat LC_{50} -nya dari perhitungan data kematian larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode analisa probit. (lihat lampiran 1 dan 2)

Tabel 1. Hasil perhitungan LC_{50} dan jumlah rata rata larva udang yang mati terhadap beberapa sampel uji.

SAMPEL UJI	LC_{50} µg/ml	RATA RATA KEMATIAN LARVA UDANG
EKSTRAK METANOL	84,14	6,370
PEMBANDING (+) SIKLOFOSFAMID	64,71	6,556
PEMBANDING (-) METANOL 1%	0	0

Hasil perhitungan LC_{50} pada tabel 1 diperoleh bahwa tingkat toksisitas sampel uji memberikan respon yang mendekati nilai respon pembanding positif terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Hasil analisa data secara statistik dengan rancangan faktorial pada jumlah kematian larva udang dari tiap ekstrak terhadap beberapa konsentrasi memperlihatkan adanya pengaruh yang sangat nyata. Hal ini dapat dilihat dari

harga F hitung yang lebih besar dari F tabel pada taraf 1 %.(lihat lampiran 3)

Jadi

terdapat pengaruh pemberian sampel dan variasi konsentrasi terhadap jumlah kematian larva udang. Analisis lanjutan dengan uji jarak beda nyata Duncan terhadap sampel uji, memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata (NS) pada pemberian ekstrak metanol terhadap siklofosfamid, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan siklofosfamid mempunyai tingkat ketoksikan yang tidak berbeda.

Berdasarkan nilai LC_{50} dari ekstrak metanol dan pembanding positif (siklofosfamid) maka dapat diketahui bahwa sampel uji bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, dan sifat ketoksikan yang dihasilkan oleh ekstrak tersebut diduga berkaitan dengan efek sitotoksiknya.



BAB VI

PENUTUP

VI.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan hasil analisa data dengan analisa probit dapat disimpulkan bahwa

1. Nilai LC_{50} dari ekstrak metanol herba keladi tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) adalah $84,14 \pm 18,40 \mu\text{g/ml}$ dan pembanding positif larutan siklofosamid adalah $64,71 \pm 14,45 \mu\text{g/ml}$
2. Ekstrak metanol bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan sifat toksik ini diduga berkaitan dengan efek sitotoksiknya.

VI.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemisahan serta pemurnian komponen ekstrak metanol sehingga dapat diketahui senyawa aktifnya dan elusidasi strukturnya.
2. Perlu dilakukan pengujian sitotoksitas lanjutan dengan hewan coba mencit terhadap sel tumor atau kanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Theo, K.H.C., dan Lin-Teo, C.B., (1999), "Cancer Yet They Live", Cancer Care, Penang, Malaysia, 2
2. McLaughlin, J.L., Chang, C.J., dan Smith, D.L., (1991), "Bench-Top Bioassay for The Discovery of bioactive Natural Products, An Update", *Natural Products Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1-9
3. Munro, M.H.G., Luibrand, R.T., and Blunt, J.W., (1987), "The Search of Antiviral and Anticancer Compounds from Marine Organism", *Bioorganic Marine Chemistry*, vol I., 106, 107
4. Mayer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., and McLaughlin, J.L., (1982), "Brine Shrimp, a convenient General Bioassay for Active Plant Constituent", *Planta Med*, 31-34
5. McLaughlin, J.L., Gordon, J., Johnson, A.H., (1996), "Monthly Variations in Biological Activity of *Asmina triloba*", Progress in new corps.
6. Anderson, J.E., Goetz, C.M., dan McLaughlin, J.L., (1991), "A Blind Comparison Of Simple Bench-Top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens", *Phytochem. Anal.*, volume 2, 107-111
7. Stenis, Van C.G.G.J., (1992), "Flora untuk Sekolah di Indonesia", PT Pradya Paramita, Jakarta, 131
8. Mudjiman, A., (1988), "Udang Renik Air Asin (*Artemia salina*)", Bhratara Karya Aksara, Jakarta, 12

9. Heyne, K., (1987) "Tumbuhan Berguna Indonesia", Jilid III, Badan Litbang Departemen Kehutanan, Jakarta, 1656
10. Wibowo, D., (2000), "Satu lagi Tanaman Ajaib Penyembuh Kanker", Surabaya
11. Soergelos, P., (1980), "Technological Aspects of The Batch Culturing of Artemia in High Density", Artemia Reference Centre State University of Gent Plateustraat, Belgium.
12. Anonim, (1986), "Sediaan Galenik", Bakti Husada, Jakarta, 1-4, 6, 10, 11
13. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, (1979), "Farmakope Indonesia", Edisi III, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 33
14. Hayes, A. W., (1983), "Principles and Methods of Toxicology", Raven Press, New York, 4-23
15. Gan, S., Suharto, B., Syamsuddin, U., Setiabudi, R. dan Setiawati, A., (1995), "Farmakologi dan Terapi", Edisi IV, Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta, 689, 695, 696
16. Lu, F. C., (1995), "Toksikologi Dasar ; Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko", Edisi II, Diterjemahkan Oleh Edi Nugroho, UI Press, Jakarta
17. Loomis, Ted. A., (1978), "Toksikologi dasar", terjemahan oleh Donatus I. A., Edisi III, Lab. Farmakologi dan Toksikologi fakultas Farmasi UGM, UGM Press, Yogyakarta, 20-28, 208

18. Klaassen, C.D., Aqmdur, M.O., Doull, J., (1986), "Toxicology, The Basic Science of Poisons", Mc Millan Publishing Company, New York, 7, 13-19, 61-64.
19. Rifai, A., (1995), "Uji Pendahuluan Efek Antikanker dari Daun Benalu Pohon (*Dendrothoe petandra* Miq) Dengan Metode Penghambatan Pembelahan Sel Telur Bulu Babi (*Tripneustes gratilla* L.) Setelah Fertilisasi", Skripsi Sarjana Farmasi, FMIPA Unhas, Ujung Pandang
20. Jamaluddin, (1996), "Uji Sitotoksitas Infus Herba Benalu The (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Dengan Metode Penghambatan Sel Telur Bulu Babi Sebagai Uji Pendahuluan Efek Antikanker", Skripsi Sarjana Farmasi, FMIPA Unhas, Ujung Pandang

Tabel 2. Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang *Artemia salina* Leach Setelah 24 Jam Perlakuan

Jenis Sampel	Jumlah larva yang mati tiap konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)								
	1	10	50	100	200	400	800	1000	1500
Ekstrak metanol	0	2	4	5	7	10	10	10	10
	0	1	3	5	7	10	10	10	10
	0	1	4	5	8	10	10	10	10
Total kematian	0	4	11	15	22	30	30	30	30
% Kematian	0	13,3	36,67	50	73,3	100	100	100	100
Pembanding (+) Siklofosfamid	0	2	4	5	8	10	10	10	10
	0	2	4	6	7	10	10	10	10
	0	1	4	6	8	10	10	10	10
Total kematian	0	5	12	17	23	30	30	30	30
% Kematian	0	16,67	40	56,67	76,67	100	100	100	100
Pembanding (-) Metanol 1%	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total kematian	0	0	0	0	0	0	0	0	0
% kematian	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran Ia. Perhitungan LC_{50} Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi

Log Konsentrasi		Probit		XY
X	XY	Y	Y ²	
1,0	1,00	3,87	14,98	3,870
1,7	2,89	4,69	21,99	7,937
2,0	4,00	5,00	25,00	10,000
2,3	5,29	5,61	31,47	12,903
$\Sigma = 7,0$	$\Sigma = 13,18$	$\Sigma = 19,17$	$\Sigma = 93,44$	$\Sigma = 34,746$

Persamaan regresi $Y = a + bX$

$$a = \frac{\Sigma X^2 \cdot \Sigma Y - \Sigma X \cdot \Sigma XY}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2} = \frac{(13,18 \times 19,17) - (7,0 \times 34,746)}{(4 \times 13,18) - 49}$$

$$= 2,5373$$

$$b = \frac{n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2} = \frac{(4 \times 34,746) - (7 \cdot 19,17)}{(4 \times 13,18) - 49}$$

$$= 1,2887$$

Jadi persamaan garisnya : $Y = 2,5373 + 1,2887X$

Jika $Y = 5$, maka $X = \frac{5 - 2,518}{1,289} = 1,925$

Jadi $\text{Log } LC_{50} = 1,925$
 $LC_{50} = \text{antilog } 1,925$
 $= 84,14 \mu\text{g/ml}$

Keterangan :

X = Log konsentrasi Ekstrak metanol Herba Keladi tikus (*T. divaricatum* Decne)

Y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

a = Panjang sumbu tegak antara titik asal dan titik potong garis regresi dengan sumbu tegak

b = Slope atau gradien

Lampiran 2a. Perhitungan Standar Deviasi LC₅₀ Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) Berdasarkan Nilai Bobot Per Probit

X	n	Ye	W	Nw
1,0	30	3,807	0,398	11,94
1,7	30	4,709	0,624	18,72
2,0	30	5,096	0,634	19,02
2,3	30	5,483	0,591	17,73

$$\Sigma nW = 67,41$$

Persamaan regresi : $Y = a + bX = 2,518 + 1,289 X$

$$\sigma = \frac{1}{b} = \frac{1}{1,289} = 0,776$$

$$SE \text{ Log } LC_{50} = \frac{\sigma}{\sqrt{\Sigma nW}} = \frac{0,776}{\sqrt{67,41}} = 0,095$$

$$\begin{aligned} SE LC_{50} &= LC_{50} \times \log_e 10 \times SE \log LC_{50} \\ &= 84,14 \times 2,302 \times 0,095 \\ &= 18,40 \end{aligned}$$

$$LC_{50} = 84,14 \pm 18,40 \mu\text{g/ml}$$

Keterangan :

X = Log konsentrasi

N = Jumlah hewan coba

Ye Nilai persentase respon kematian dalam satuan probit sesuai hasil regresi

W = Faktor bobot dari masing-masing nilai bobotnya

$\sigma = 1 / \text{slop regresi}$

SE = Standard error, standar deviasi

Lampiran 1b. Perhitungan LC_{50} Pemanding Positif Larutan Siklofosfamid Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi

Log Konsentrasi		Probit		XY
X	XY	Y	Y ²	
1,0	1,00	4,04	16,32	4,040
1,7	2,89	4,75	21,99	8,075
2,0	4,00	5,17	25,00	10,340
2,3	5,29	5,73	32,83	13,179
$\Sigma = 7,0$	$\Sigma = 13,18$	$\Sigma = 19,69$	$\Sigma = 98,44$	$\Sigma = 35,634$

Persamaan regresi $Y = a + bX$

$$a = \frac{\Sigma X^2 \cdot \Sigma Y - \Sigma X \cdot \Sigma XY}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2} = \frac{(13,18 \times 19,69) - (7,0 \times 35,634)}{(4 \times 13,18) - 49}$$

$$= 2,709$$

$$b = \frac{n \cdot \Sigma XY - \Sigma X \cdot \Sigma Y}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2} = \frac{(4 \times 35,634) - (7,0 \cdot 19,69)}{(4 \times 13,18) - 49}$$

$$= 1,256$$

Jadi persamaan garisnya : $Y = 2,709 + 1,265X$

Jika $Y = 5$, maka $X = \frac{5 - 2,709}{1,265} = 1,811$

Jadi $\text{Log } LC_{50} = 1,811$
 $LC_{50} = \text{antilog } 1,811$
 $= 64,71 \mu\text{g/ml}$

Keterangan :

X = Log konsentrasi Pemanding positif (larutan siklofosfamid)

Y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

a = Panjang sumbu tegak antara titik asal dan titik potong garis regresi dengan sumbu tegak

b = Slope atau gradien

Lampiran 2b. Perhitungan Standar Deviasi LC₅₀ Pemanding Positif (Larutan Siklofosfamid) Berdasarkan Nilai Bobot Per Probit

X	n	Ye	W	Nw
1,0	30	3,974	0,405	12,15
1,7	30	4,860	0,633	18,99
2,0	30	5,239	0,624	18,72
2,3	30	5,619	0,567	17,01

$$\sum nW = 66,87$$

Persamaan regresi : $Y = a + bX = 2,709 + 1,265 X$

$$\sigma = \frac{1}{b} = \frac{1}{1,265} = 0,791$$

$$SE \text{ Log } LC_{50} = \frac{\sigma}{\sqrt{\sum nW}} = \frac{0,791}{\sqrt{66,87}} = 0,097$$

$$\begin{aligned} SE LC_{50} &= LC_{50} \times \log_e 10 \times SE \log LC_{50} \\ &= 64,71 \times 2,302 \times 0,097 \\ &= 14,45 \end{aligned}$$

$$LC_{50} = 64,71 \pm 14,45 \mu\text{g/ml}$$

Keterangan :

X = Log konsentrasi

N = Jumlah hewan coba

Ye Nilai persentase respon kematian dalam satuan probit sesuai hasil regresi

W = Faktor bobot dari masing-masing nilai bobortnya

$\sigma = 1 / \text{slop regres}$ SE = Standard error, standar deviasi

Lampiran 3. Analisa Data Pengamatan Kematian Larva Udang *Artemia salina* Leach
 Dengan Metode Rancangan Factorial

Jenis Sampel	Jumlah larva yang mati tiap konsentrasi $\mu\text{g/ml}$									Jumlah	Rata-rata kematian
	1	10	50	100	200	400	800	1000	1500		
Ekstrak metanol	0	2	4	5	7	10	10	10	10		
	0	1	3	5	7	10	10	10	10		
	0	1	4	5	8	10	10	10	10		
Total kematian	0	4	11	15	22	30	30	30	30	172	6,370
% Kematian	0	13,3	36,67	50	73,3	100	100	100	100		
Pembanding (+) Siklofosfamid	0	2	4	5	8	10	10	10	10		
	0	2	4	6	7	10	10	10	10		
	0	1	4	6	8	10	10	10	10		
Total kematian	0	5	12	17	23	30	30	30	30	177	6,556
% Kematian	0	16,67	40	56,67	76,67	100	100	100	100		
Pembanding (-) Metanol 1%	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Total kematian	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
% kematian	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

$$\text{JK rata-rata (JKR)} = \frac{349^2}{3 \times 3 \times 9} = 1503,03$$

$$\begin{aligned} \text{JK total (JKT)} &= 0^2 + 2^2 + 4^2 + \dots + 0^2 - \text{JKR} \\ &= 3032 - 1503,7 \\ &= 1528,3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan (JKP)} &= \frac{0^2 + 4^2 + 11^2 + \dots + 0^2}{3} - \text{JKR} \\ &= 3011 - 1503,7 \\ &= 1507,3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK sampel (JKS)} &= \frac{172^2 + 177^2 + 0^2}{3 \times 9} - \text{JKR} \\ &= 2256,04 - 1503,7 \\ &= 752,34 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK konsentrasi (JKK)} &= \frac{0^2 + 9^2 + 23^2 + 32^2 + 45^2 + 60^2 + 60^2 + 60^2 + 60^2}{3 \times 3} - \text{JKR} \\ &= 2006,56 - 1503,7 \\ &= 502,86 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Interaksi (JKSK)} &= \text{JKP} - \text{JKS} - \text{JKK} \\ &= 1507,3 - 752,34 - 502,86 \\ &= 252,1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat (JKG)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 1528,3 - 1507,3 \\ &= 21 \end{aligned}$$

$$\text{KT sampel (KTS)} = \frac{\text{JKS}}{2} = \frac{752,34}{2} = 376,17$$

$$\text{KT konsentrasi (KTK)} = \frac{\text{JKK}}{8} = \frac{502,86}{8} = 62,86$$

$$\text{KT interaksi (KTSK)} = \frac{\text{JKSK}}{16} = \frac{248,86}{16} = 15,51$$

$$\text{KT galat (KTG)} = \frac{\text{JKG}}{55} = \frac{25}{55} = 0,4545$$

$$\text{Fh sampel (FhS)} = \frac{\text{KTS}}{\text{KTG}} = \frac{376,17}{0,4545} = 827,66$$

$$\text{Fh konsentrasi (FhK)} = \frac{\text{KTK}}{\text{KTG}} = \frac{62,86}{0,4545} = 138,31$$

$$\text{Fh interaksi (FhSK)} = \frac{\text{KTSK}}{\text{KTG}} = \frac{15,51}{0,4545} = 34,125$$

Tabel ANAVA

Sumber Keseragaman	DB	JK	KT	Fh	Ft 5%	Ft 1%
Perlakuan		1503,3				
- Sampel	2	752,34	376,17	827,66**	3,17	5,03
- Konsentrasi	8	502,86	62,86	138,31**	2,12	2,86
- Interaksi	16	248,1	15,51	34,125**	1,84	2,36
Galat	55	25	0,4545			
Total	81	1528,3				

Keterangan :

Fh >> Ft, sangat berbeda nyata, Ho ditolak

** : sangat berbeda nyata

Analisa pengaruh antar sampel uji dengan uji duncan

$$JNT = JN \frac{\sqrt{KTG}}{3 \times 3} = JN (0,225)$$

DB galat = 55

P	2	3
JN _{0,05}	2,838	2,988
JNT _{0,05}	0,639	0,672
JN _{0,01}	3,775	3,938
JNT _{0,01}	0,849	0,886

Urutan rata-rata sampel uji (terkecil – terbesar)

A	B	C
0	6,370	6,556

Hasil perbandingan antar sampel uji

Sampel	A	B	C
A	-	SS	SS
B	SS	-	NS
C	SS	NS	-

Keterangan :

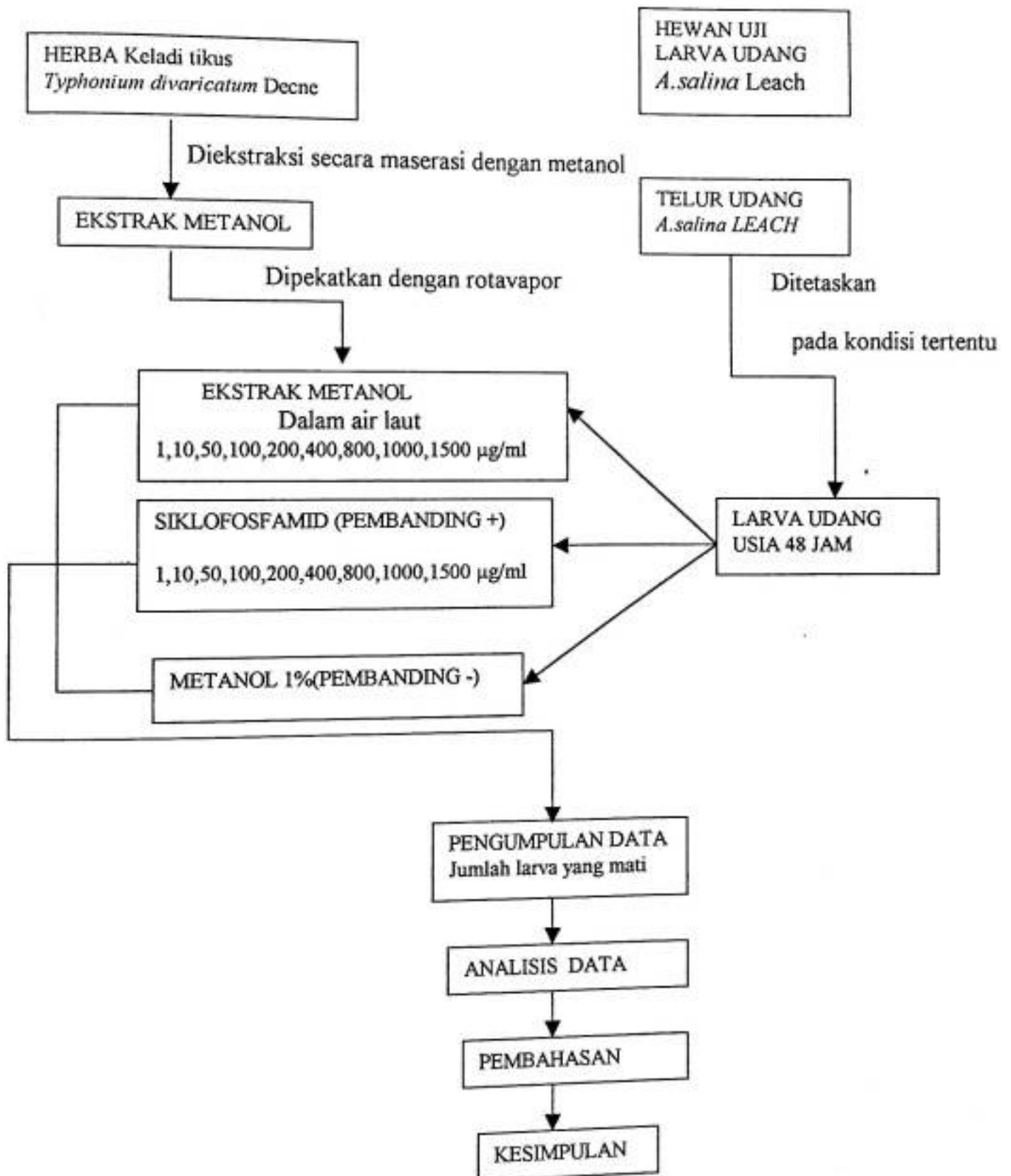
A : Perbandingan negatif (metanol 1%)

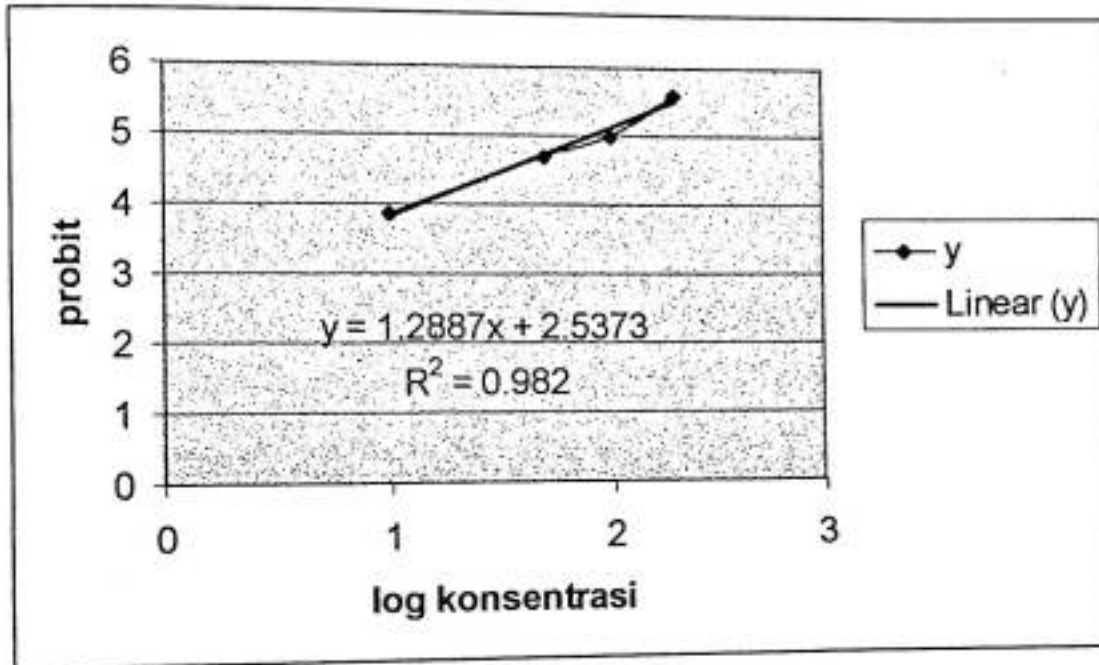
B : Ekstrak Metanol

C : Perbandingan positif (siklofosfamid)

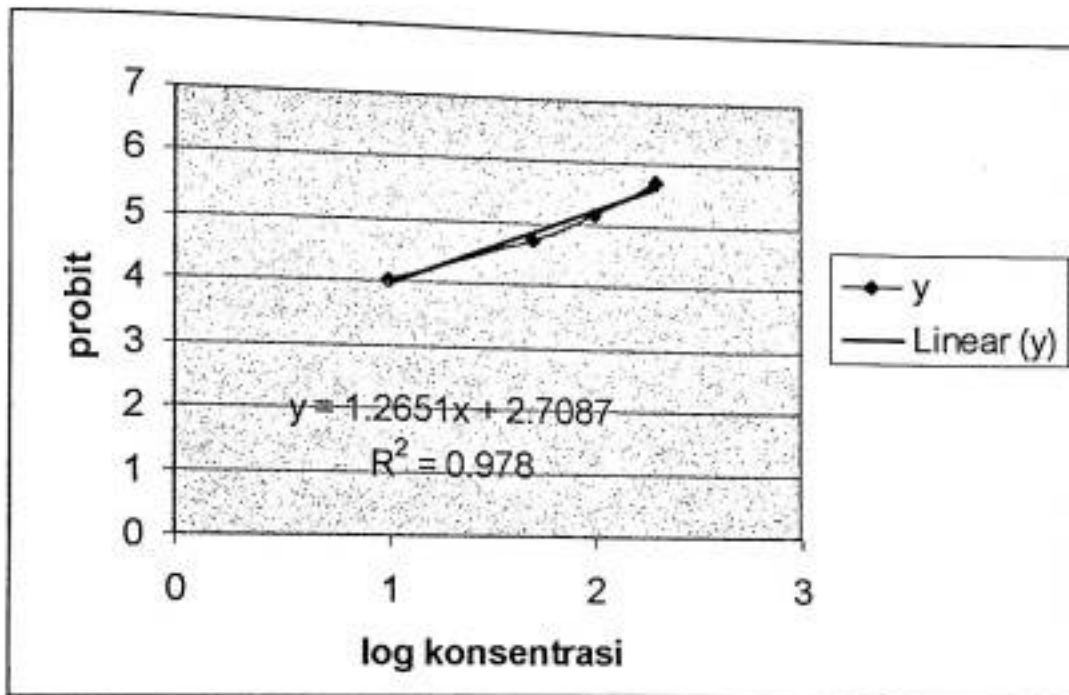
Gambar 1

SKEMA KERJA

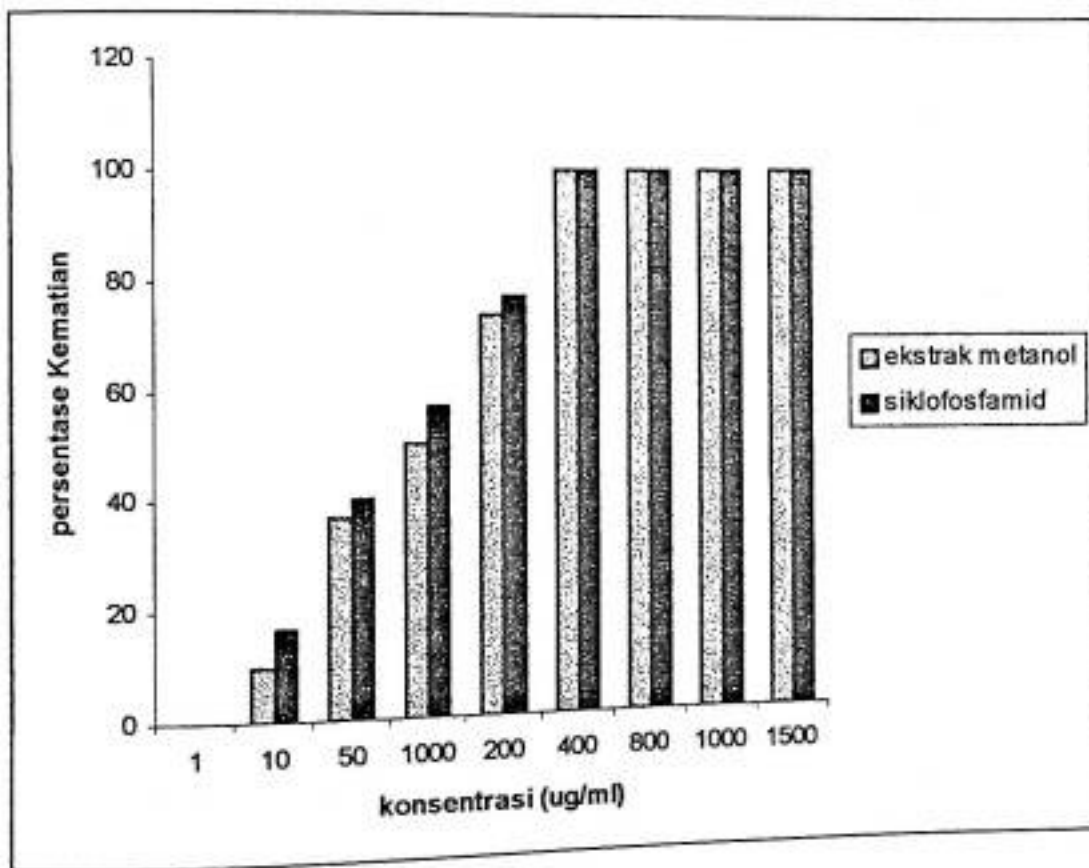




Gambar 2a : Grafik Hubungan Log Konsentrasi Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* decne) Terhadap Harga Probit Sesuai Persentase



Gambar 2b : Grafik Hubungan Log Konsentrasi Larutan Siklofosfamid Terhadap Harga Probit Sesuai Persentase Kematian



Gambar 3. Histogram Jumlah Rata-Rata Larva Udang Yang Mati Terhadap Ekstrak Metanol Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne) dan Kontrol Pada Tiap Konsentrasi.

Tabel 3 : Harga Probit Sesuai Prosentasenya

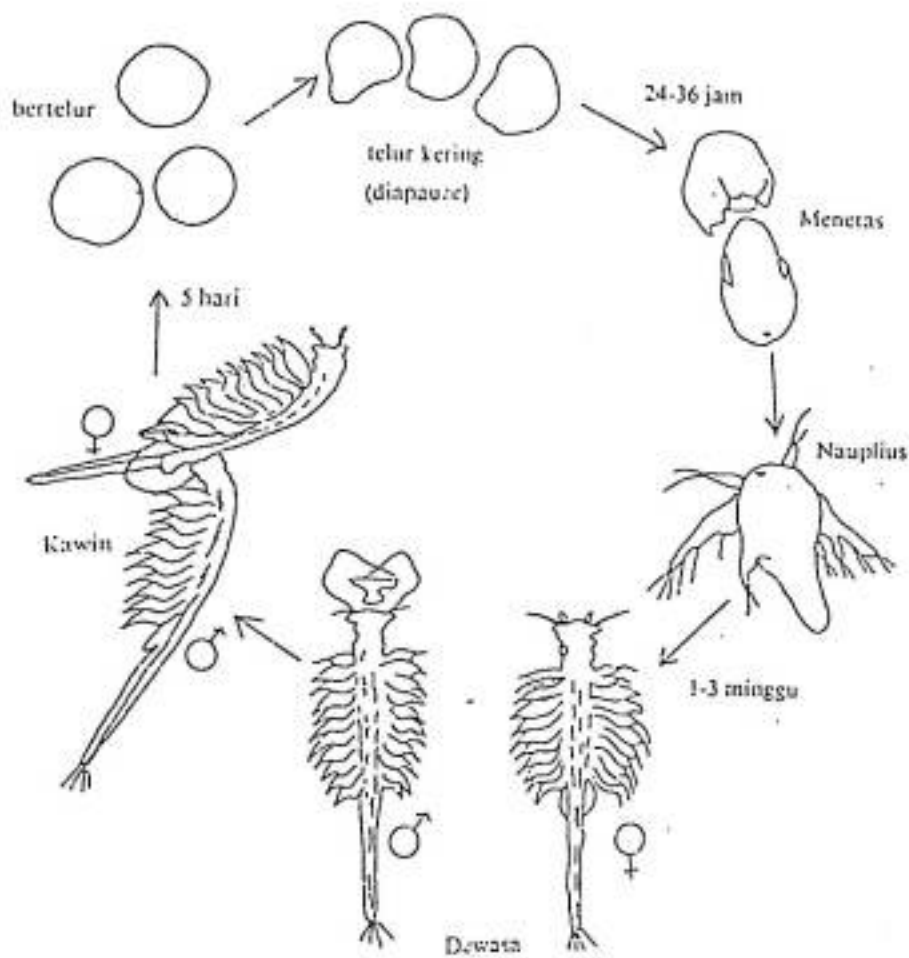
PROSEN TASE	PROBIT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,93	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	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

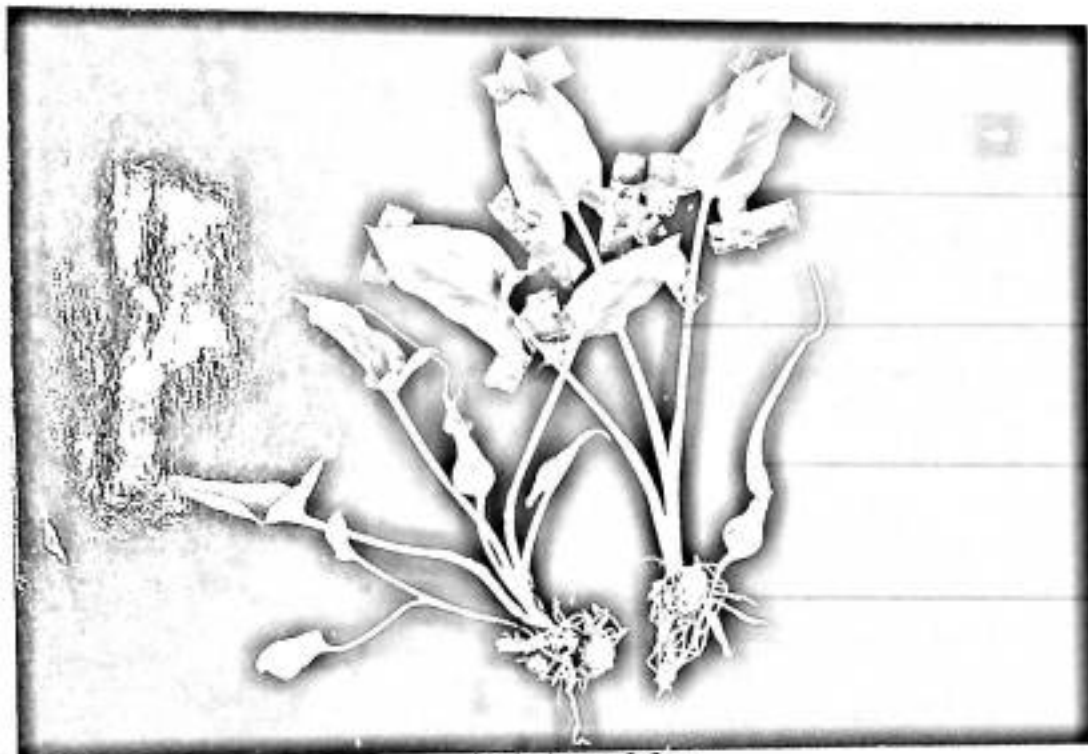
Tabel-4 : Nilai Bobot Perprobit

PROBIT	W									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
1	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,008	0,011
2	0,015	0,019	0,025	0,031	0,040	0,050	0,062	0,076	0,092	0,110
3	0,131	0,154	0,180	0,208	0,238	0,269	0,302	0,336	0,370	0,405
4	0,439	0,471	0,503	0,532	0,558	0,581	0,601	0,616	0,627	0,634
5	0,637	0,634	0,627	0,616	0,601	0,581	0,558	0,532	0,503	0,471
6	0,439	0,405	0,370	0,336	0,302	0,269	0,238	0,208	0,180	0,154
7	0,131	0,110	0,092	0,076	0,062	0,050	0,040	0,030	0,025	0,019
8	0,015	0,011	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001

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



Gambar 4 : Siklus Hidup *Artemia salina* Leach
 Sumber, Ahmad Mudjiman "Udang Renik Air Asin", Bhatara Karya Jakarta



Skala 1 cm : 3,5 cm

- Keterangan :
1. Daun
 2. Batang
 3. Bunga
 4. Umbi

Gambar 5 : Foto Tanaman Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* Decne)