

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, N., Alimuddin, A.H., 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak *A. anisophyllus* terhadap larva *Artemia salina*, *Jurnal Kimia Khatulistiwa* Vol 5(1):58-64
- Ali, H. A., Chowdhury, A. K. A., Rahman, A. K. M., Borkowski, T., Nahar, L., dan Sarker, S. D., 2008, Pachypodol, a Flavonol from the Leaves of *Calycopteris floribunda*, Inhibits the Growth of CaCo 2 Colon Cancer Cell Line *in vitro*, *Phytotherapy Research*, **22** : 1684-1687.
- Alves, H. S., Rocha, W. R. V., Braz-Filho, R., dan Chaves, M. C., 2017, Isolation of Monoterpene Dihydrochalcones from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae), *Molecules*, **22**(6): 874.
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., 1990, A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens, *Phytochemical Analysis*, **6**: 107-111.
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., dan Suffness, M., 1991, A Blind Comparison of Simple Bench-Top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens, *Phytochem Analysis*, **2**: 107-111.
- Anonim, 2013, *Piperaceae* (online) (<http://www.Theplantlist.org/1.1/browse/A/Piperaceae/>), diakses pada tanggal 24 april 2020).
- Arbain, D., Nofrizal, Syafni, N., Ismed, F., Yousuf, S., Choudhary, M. I., 2018, Bicyclo[3.2.1]octanoid Neolignans from Indonesian Red Betle Leaves (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), *Phytochemistry Letters*, **24**: 163–166.
- Arita, M., Philipov, S., dan Galabov, A. S., 2015, Phosphatidylinositol 4-kinase III beta is the target of oxoglucine and pachypodol (Ro 09-0179) for their anti-poliovirus activities, and is located at upstream of the target step of brefeldin A, *Microbiol Immunol*, **59**: 338–347.
- Astuti, I. P. dan Munawaroh, E., 2011, Karakteristik Morfologi Daun Sirih Merah: *Piper Crocatum* Ruitz & Pay dan *Piper Porphyrophyllum* N.E.Br. Koleksi Kebun Raya Bogor, *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*, **7A**: 83-85.
- Bai, M. M., Shi, W., Tian, J. M., Lei, M., Kim, J. H., Sun, Y. N., Kim, Y. H., Gao, J. M., 2015, Soluble epoxide hydrolase inhibitory and anti-

inflammatory components from the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver (Duzhong), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**(8): 2198–2205.

Banerji, A. dan Ray, R., 1981, Aurantiamides: A New Class Of Modified Dipeptides From *Piper Aurantiacum*, *Phytochemistry*, **20**(9): 2217-2220.

Banerji, A., dan Das, C., 1989, Two amides from piper *Brachystachyum*, *Phytochemistry*, **28**(11): 3039–3042.

Banerji, A., Sarkar, M., Datta, R., Sengupta, P., dan Abraham, K., 2002, Amides from *Piper brachystachyum* and *Piper retrofractum*, *Phytochemistry*, **59**(8): 897–901.

BBC Indonesia. 2017. *Filipina stop vaksinasi demam berdarah lantaran beresiko bagi kesehatan, bagaimana di Indonesia?* (online) (<https://www.bbc.com/indonesia/majalah-42326845>, diakses pada tanggal 30 september 2019).

Boll, P. M., Prasad, A. K., Tyagi, O. D., Wengel, J., Olsen, C. E., Kumar, N., Bisht, K. S., dan Parmar, V. S., 1996, Neolignans, cyclohexanes and alkaloids from *Piper wightii*, *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, **115**(1): 9–12.

Chiang, L.C., Ng, L.T., Cheng, P.W., Chiang, W., and Lin, C.C., 2005, Antiviral Activities of Extracts and Selected Pure Constituents of *Ocimum Basilicum*, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **32**(10): 811-816.

Colegate, Steven M., and Molyneux, Russel J., 2007, *Bioactive Natural Products: Detection Isolation and Structure Determination*, CRC Press Taylor and Francis Group: United State of America.

Ee, G. C. L., Lim, S. K., Lim, C. M., dan Dzulkefly, K., 2008, Alkaloids and Carboxylic Acids from *Piper nigrum*, *Asian Journal of Chemistry*, **20**(8): 5931-5940.

Emrizal, Fernando, A., Yuliandari, R., Rullah, K., Indrayani, N. R., Susanty, A., Yerti, R., Ahmad, F., Sirat, H. M., dan Arbain, D., 2014, Cytotoxic Activities of Fractions and Two Isolated Compounds from Sirih Merah (Indonesian red betel), *Piper crocatum* Ruiz & Pav., *Procedia Chemistry*, **13**: 79 – 84.

Ernawati, L., 2019, *Daun-Daun dan Buah-Buahan Penumpas Penyakit*, Laksana, Yogyakarta

Facundo, V. A., Azevedo, M. S., Rodrigues, R. V., Nascimento, L. F. do,

- Militao, J. S. L. T., Silva, G. V. J. da, dan Braz-Filho, R., 2012, Chemical constituents from three medicinal plants: *Piper renitens*, *Siparuna guianensis* and *Alternanthera brasiliana*, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **22**(5): 1134–1139.
- Francoeur, A. M. dan Assalian, 1996, A. Microcat: A novel cell proliferation and cytotoxicity assay based on WST-1. *Biochemica*, **3**: 19-25.
- GBIF, 2020, *Classification Piper crocatum* Ruiz & Pav. (Catalogue of Life, 2020) (online) (<https://www.gbif.org/species/7305692>, diakses tanggal 17 Mei 2020).
- Ghosh, K. dan Bhattacharya, T., 2005, Chemical Constituents of *Piper betle* Linn. (*Piperaceae*) Roots, *Molecules*, **10**(7): 798–802.
- Graf A. B., 1992, *Tropica. Color Cyclopedia of Exotic Plants and Trees*. Fourth Edition, Roehrs Company - Publishers East Rutherford NJ. 07073: United State of America.
- Hayashi, S., 2009, *Chemical investigation of Aromatic and Medicinal plants from the New Guinea highlands and North Queensland*, Tesis, Sekolah Farmasi dan Ilmu Molekuler James Cook University of North Queensland.
- Hussein, G., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Kakiuchi, N., dan Shimotohno, K., 2000, Inhibitory Effects of Sudanese Medicinal Plant Extracts on Hepatitis C Virus (HCV) Protease, *Phytotherapy Research*, **14**: 510–516.
- Jiang, Z. Y., Liu, W. F., Zhang, X. M., Luo, J., Ma, Y. B., dan Chen, J. J., 2013, Anti-HBV active constituents from *Piper longum*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **23**(7): 2123–2127.
- Karimi, A., Kamalabadi, M. M., Kopaei, M. R., Amjad, L., Salimzadeh, L., 2016, Determination of Antioxidant Activity, Phenolic Contents And Antiviral Potential of Methanol Extract of *Euphorbia spinidens* Bornm (*Euphorbiaceae*), *Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*, **15**(4): 759-764.
- Kemenkes RI, 2019, *Kasus DBD Terus Bertambah, Anung Imbau Masyarakat Maksimalkan PSN* (online) (<https://www.kemkes.go.id/article/view/19020600004/kasus-dbd-terus-bertambah-anung-imbau-masyarakat-maksimalkan-psn.html>, diakses pada tanggal 30 september 2019).
- Kemenkes RI, 2020, *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019* (online) (<https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-Indonesia-2019.pdf>, diakses pada tanggal 17 September 2020).

- Kuroyanagi, M., Yoshida, K., Yamamoto, A., dan Miwa, M., 2000, Bicyclo [3.2.1] octane and 6-Oxabicyclo [3.2.2] nonane Type Neolignans from *Magnolia denudata*, *Chem. Pharm. Bull.*, **48**(6): 832-837.
- Kim, K. H., Choi, J. W., Choi, S. U., Ha, S. K., Kim, S. Y., Park, H. J., dan Lee, K. R., 2011, The chemical constituents of *Piper kadsura* and their cytotoxic and anti-neuroinflammatory activities, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **26**(2): 254–260.
- LaBarre, D. dan Lowy, R., 2001, Improvements in methods for calculating virus titer estimates from TCID<sub>50</sub> and plaque assays. *J Virol Methods*, **96**: 107-126.
- Lambeth, C., White, L., Johnston R., de Silva A., 2005, Flow cytometry-based assay for titrating *dengue* virus, *J Clin Microbiol*, **43**: 3267-3272.
- Lin, L. C., Shen, C. C., Shen, Y. C., dan Tsai, T. H, 2006, Anti-inflammatory Neolignans from *Piper kadsura*, *Journal of Natural Products*, **69**(5): 842–844.
- Li, H. X., Yang , X. Y., Kim, Y. H., dan Li, W., 2019, Isolation of Two New Compounds and Other Constituents from Leaves of *Piper crocatum* and Study of Their Soluble Epoxide Hydrolase Activities, *Molecules*, **24**(489): 1-8.
- Luyen, B. T. T., Tai, B. H., Thao, N. P., Yang, S. Y., Cuong, N. M., Kwon, Y. I., d , Jang, H. D., Kim, Y. H., 2014, A new phenylpropanoid and an alkylglycoside from *Piper retrofractum* leaves with their antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **24**(17): 4120–4124.
- Manoi, F., 2007, Sirih Merah Sebagai Tanaman Obat Multi Fungsi, *Warta Puslitbangbun*, **13**(2).
- Marques, A. M., Fingolo, C. E., dan Kaplan, M. A. C., 2017, HSCCC separation and enantiomeric distribution of key volatile constituents of *Piper claussonianum* (Miq.) C. DC. (Piperaceae), *Food and Chemical Toxicology*, **109**: 1111–1117.
- Masuda, T., Inazumi, A., Yamada, Y., Padolina, W. G., Kikuzaki, H., dan Nakatani, N, 1991, Antimicrobial phenylpropanoids from *Piper sarmentosum*, *Phytochemistry*, **30**(10): 3227–3228.
- Medina, F., Medina, J. F., Colon, C., Vergne, E., Santiago, G. A., dan Munoz-Jordan, J. L., 2012, *Dengue Virus: Isolation, Propagation, Quantification, and Storage*, *Current Protocols in Microbiology*, 15D.2.1-15D.2.24, John Wiley and Sons, Inc, San Juan, Puerto Rico.

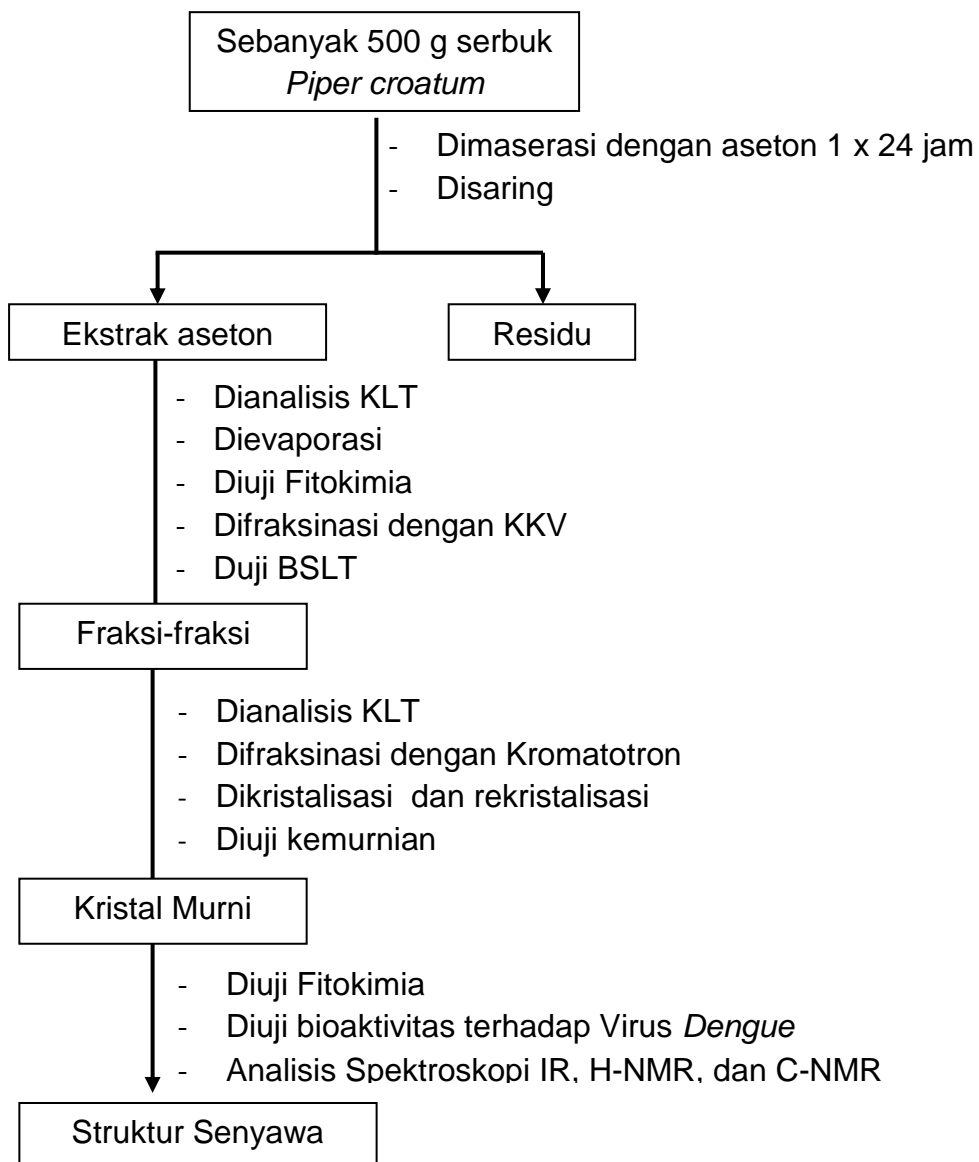


- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobson, L. B., Nichole, D. E., dan McLaughlin, C. L., 1982, Brine Shrimp a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med.*, **45**: 31-34.
- Millati, N., 2016, *Uji Toksisitas dengan Metode BSLT senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter Mikroalga (Chlorella sp.)*, Skripsi tidak diterbitkan, Malang: FMIPA UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Munawaroh, E., Astuti, I. P., dan Sumanto, 2011, Studi Keanekaragaman dan Potensi Suku Piperaceae di Sumatera Barat, *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*, **5A**: 35-40.
- Munawaroh, E. dan Yuzammi, 2017, Keanekaragaman *Piper* (*Piperaceae*) dan Konservasinya di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Provinsi Lampung, *Media Konservasi*, **22**(2): 118-128.
- Orjala, J., Anthony D. Wright a , Topul Rali b & Otto Sticher, 1993, Aduncamide, A Cytotoxic And Antibacterial B-Phenylethylamine-Derived Amide From *Piper Aduncum*, *Natural Product Letters*, **2**(3): 231-236.
- Orjala, J., Wright, A. D., Behrends, H., Folkers, G., Sticher, O., Ruegger, H., dan Rali, T., 1994, Cytotoxic and Antibacterial Dihydrochalcones from *Piper aduncum*, *Journal of Natural Products*, **57**(1): 18–26.
- Paarakh, P. M., Sreeram, D. C., D, S. S., dan Ganapathy, S. P. S., 2015, In vitro cytotoxic and in silico activity of piperine isolated from *Piper nigrum* fruits Linn, *In Silico Pharmacology*, **3**(9): 1-7.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., dan Kriz, G. S., 2001, *Introduction to Spectroscopy*, Third Edition, A Guide for Students of Organic Chemistry, Thomson Learning, Inc, United States of America.
- Rahmawati, A. N. dan Kurniawati, A., 2016, Pertumbuhan Beberapa Jenis Sirih (*Piper spp.*) pada Berbagai Intensitas Naungan, *Bul. Agrohorti*, **4**(3): 288-297.
- Redaksi Agromedia, 2008, *Buku Pintar Tanaman Obat 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*, Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Roy, A.C., Haque, E., Rahman S., dan Al-Mansur, M. A., 2018, Piperine and isoflavan-4-one from the stems of *Piper chaba* Hunter and their In vitro antimicrobial activities, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **7**(1): 2653-2662.
- Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez

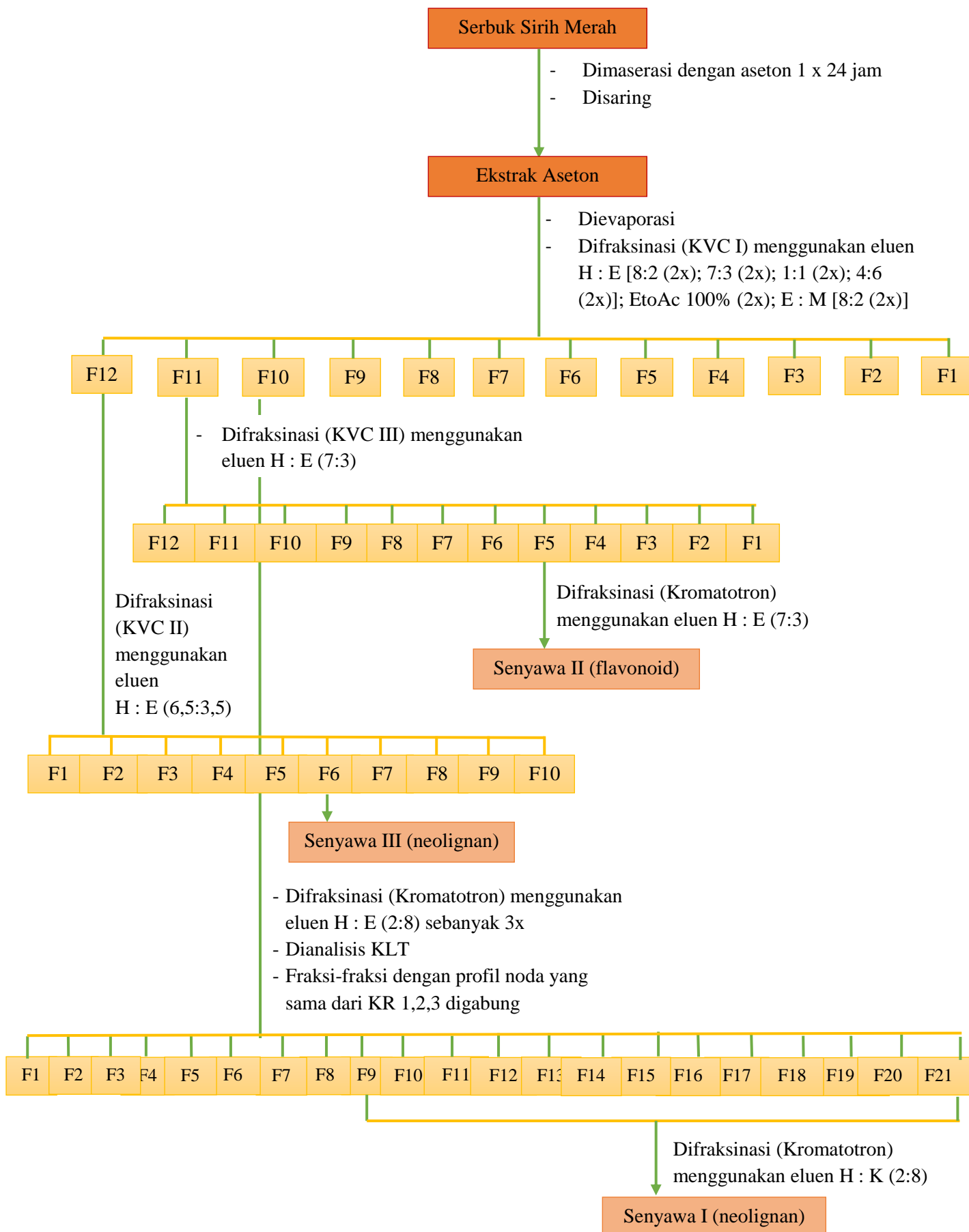
- E., Valussi, M., Tumer T. B., Fidalgo, L. M., Martorell, M., dan Setzer, W. N., 2019, Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications, *Molecules*, **24**, (1364): 1-117.
- Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., dan Yen, K. H., 2015, Chemical constituents from *Piper caninum* and antibacterial activity, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **5**(6): 20-25.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I. dan Kumaunang, M. 2012. Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga Pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*. **12**(2): 127-134.
- Santos, R. A. D., Ramos, C. S., Young, M. C. M., Pinheiro, T. G., Amorim, A. M., Kato, M. J., dan Batista, R., 2013, Antifungal Constituents from the Roots of *Piper dilatatum* Rich, *Journal of Chemistry*, **2013**: 1–5.
- Saputra, A., Andayani, S., Nursyam, H., 2016, Total Quantity of Phenol and Isolation Methanol Tannin Extract of Red Betel Leaf (*Piper crocatum*), *International Journal of PharmTech Research*, **9**(7): 146-153.
- Seeram, N. P., Lewis, P. A., Jacobs, H., McLean, S., Reynolds, W. F., Tay, L. L., dan Yu, M., 1996, 3,4-Epoxy-8,9-dihydropiartine. A New Imide from *Piper verrucosum*, *Journal of Natural Products*, **59**(4): 436–437.
- Sharma, R., Kumari, M., Kumar, N., dan Prabhakar, A., 1999, New piperidinamide dimers from *Piper peepuloides*, *Fitoterapia*, **70**(2): 144–147.
- Shi, Y. N., Yang, L., Zhao, J. H., Shi, Y. M., Qu, Y., Zhu, H. T., Wang, D., Yang, C. R., Li, X. C., Xu, M., dan Zhang, Y. J., 2015, Chemical constituents from *Piper wallichii*, *Natural Product Research*, **29**(14): 1372–1375.
- Sudewo, B., 2005, *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*, Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Sulianti, S., B. dan Chairul, 2002, Perbandingan Komponen Kimia Penyusun Minyak Atsiri Sirih Liar (*Piper ornatum*) yang Berasal dari Sulawesi Selatan dan Pulau Seram dengan Sirih Bias A (*Piper betle*), *Berita Biologi*, **6**(3): 493-499.
- Syah, Y. M., 2016, *Dasar-Dasar Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Data Spektrum <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR*, Laboratorium Spektroskopi Massa dan NMR FMIPA, ITB: Bandung.

- Tsai, I. L., Lee, F., P., Wu, C. C., Duh, C. Y., Ishikawa, T., Chen, J. J., Chen, Y. J., Sekl, H., dan Chen, I. S., 2005, New Cytotoxic Cyclobutanoid Amides, a New Furanoid Lignan and Anti-Platelet Aggregation Constituents from *Piper arborescens*, *Planta Medica*, **7**(6): 535–542.
- Usia, T., Watabe, T., Kadota, S., dan Tezuka, Y., 2005, Potent CYP3A4 Inhibitory Constituents of *Piper cubeba*, *Journal of Natural Products*, **68**(1): 64-68.
- Utami, P. dan Puspaningtyas, 2013, *The Miracle of Herbs Daun, Umbi, Buah, dan Batang Tanaman Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*, Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Villagomez, J., 2017, In Vitro Antiviral Activity of Black Tea Polyphenols on Sindbis Virus in Vero Cells", *Theses, Dissertations and Culminating Projects*, <http://digitalcommons.monthclair.edu/etc/19>.
- VOA Indonesia, 2019, *Keamanan Vaksin Dengue Buatan Sanofi Dipertanyakan* (online) (<https://www.voaindonesia.com/a/keamanan-vaksin-dengue-buatan-sanofi-dipertanyakan/4149643.html> diakses pada tanggal 30 september 2019).
- Wei, K., Li, W., Koike, K., Pei, Y., Chen, Y., dan Nikaido, T., 2004, Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignments of two phytosterols from roots of *Piper nigrum*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, **42**(3): 355–359.
- World Health Organization, 2019<sup>a</sup>, *Dengue Situation Update Number 576, Update on the Dengue situation in the Western Pacific Region* (online) (<https://www.who.int/docs/defaultsource/wprodocuments/emergency/surveillance/dengue/dengue20190829.pdf>, diakses pada tanggal 30 september 2019).
- World Health Organization, 2019<sup>b</sup>, *Dengue and severe dengue* (online) (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>, diakses pada tanggal 30 September 2019).
- Wu, D., Nair, M. G., dan DeWitt, D. L., 2002, Novel Compounds from *Piper methysticum* Forst (Kava Kava) Roots and Their Effect on Cyclooxygenase Enzyme, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(4): 701–705.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak aseton Sirih Merah *Piper croatum*

**Lampiran 1a.** Bagan Kerja Isolasi Metabolit Sekunder dari Ekstrak aseton Sirih Merah *Piper croatum*



## Lampiran 2. Skema Kerja Uji Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

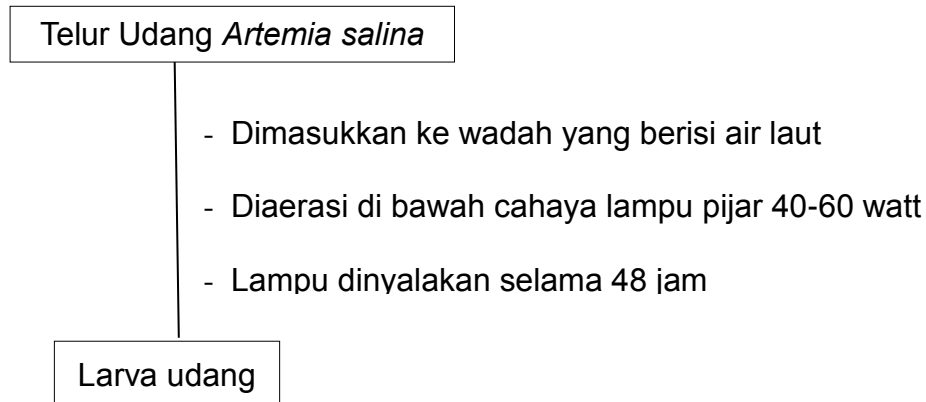
### A. Penyiapan Larutan Sampel (1000 ppm)

1. Sampel (senyawa murni) ditimbang 1 mg, dilarutkan dalam 100  $\mu\text{L}$  DMSO sambil diaduk.
2. Diencerkan dengan 150  $\mu\text{L}$  akuades sehingga volume total menjadi 250  $\mu\text{L}$ . Selanjutnya 200  $\mu\text{L}$ . Larutan ini diencerkan sampai 600  $\mu\text{L}$ , volume total menjadi 800  $\mu\text{L}$  dan konsentrasi menjadi :

$$\frac{200 \mu\text{L} / 250 \mu\text{L} \times 1 \text{ mg}}{800 \mu\text{L}} = 0,8 \text{ mg} / 800 \mu\text{L} = 1 \mu\text{g} / \mu\text{L}$$

Catatan: Larutan kontrol dibuat sama dengan prosedur di atas tanpa menggunakan sampel.

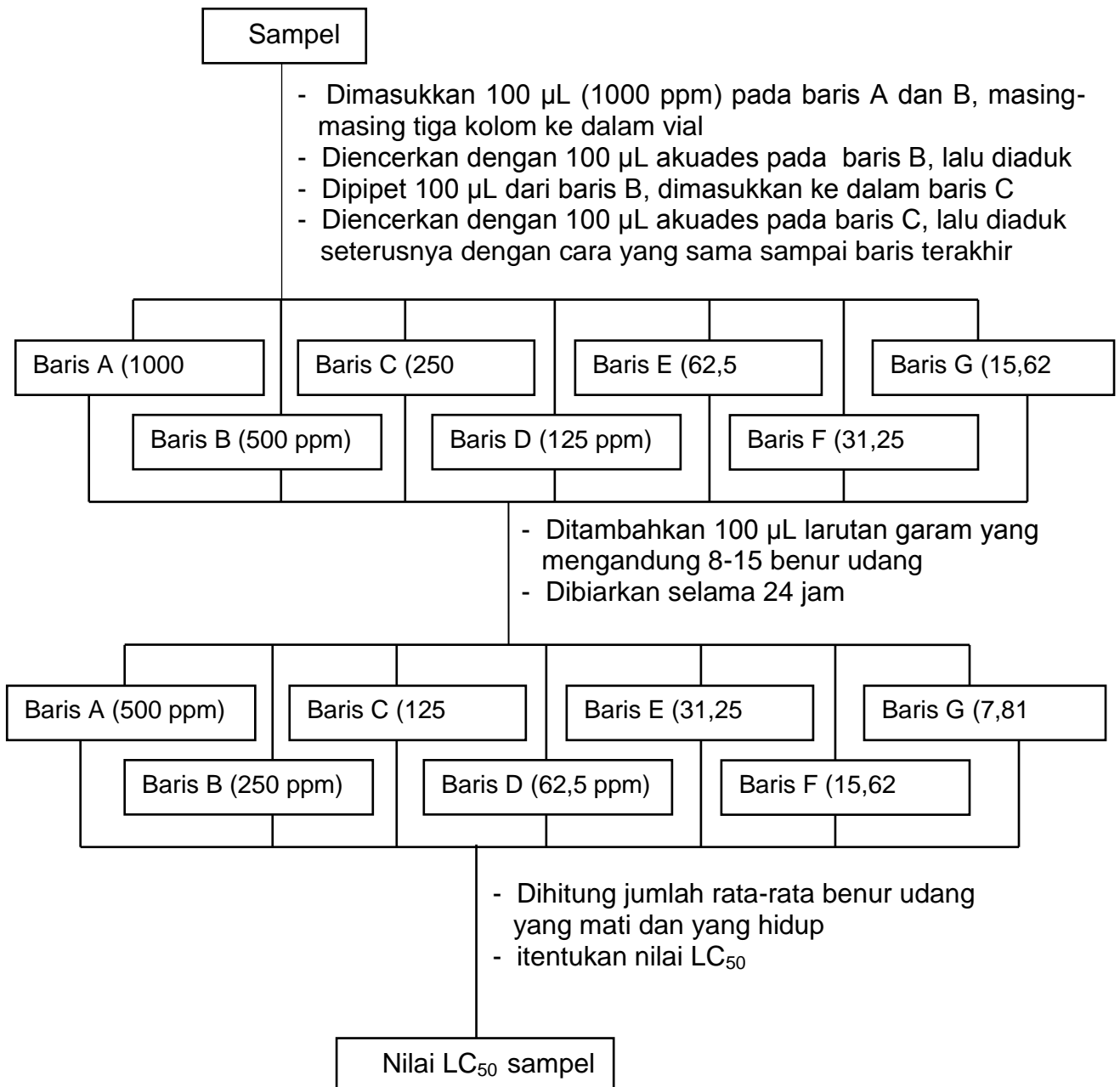
### B. Penyemaian Benur Udang



### C. Prosedur Uji Metode Mayer

1. Disiapkan vial untuk masing-masing sampel uji dan kontrol.
2. Ke dalam baris I dan II masing-masing tiga kolom dimasukkan 100  $\mu\text{L}$  larutan sampel pada plat uji dan 100  $\mu\text{L}$  larutan kontrol pada plat kontrol.

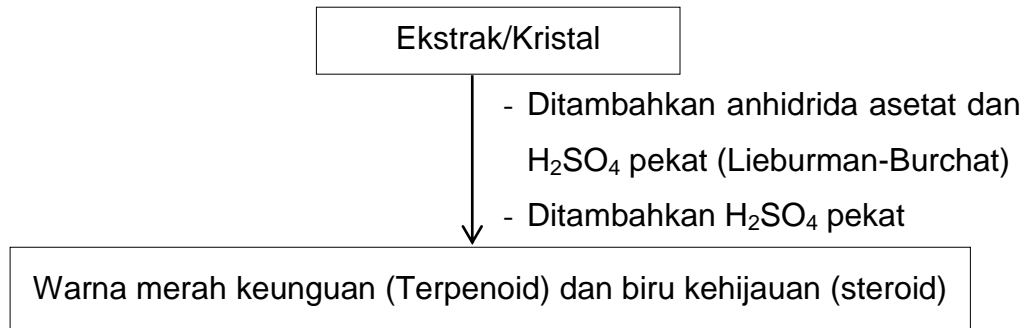
3. Larutan pada baris II diencerkan dengan 100  $\mu$ L akuades dan diaduk, kemudian dipipet kembali 100  $\mu$ L dimasukkan ke dalam baris III diencerkan kembali dengan 100  $\mu$ L akuades sambil diaduk dan seterusnya dengan cara yang sama sampai baris terakhir.
4. Selanjutnya, ke dalam larutan sampel pada vial uji dan larutan kontrol pada vial kontrol ditambahkan 100  $\mu$ L larutan garam yang mengandung 8-15 benur udang, kemudian dibiarkan selama 24 jam sehingga konsentrasi larutan untuk masing-masing baris sebagai berikut, baris I = 500 ppm, baris II = 50 % baris I, baris III = 50 % baris II dan seterusnya.
5. Setelah itu, dihitung jumlah rata-rata benur udang yang mati dan yang hidup untuk setiap baris dari sampel dan ditentukan nilai  $LC_{50}$ .

D. Bagan Kerja Uji Bioaktivitas Pada *A. salina* dengan Metode Meyer

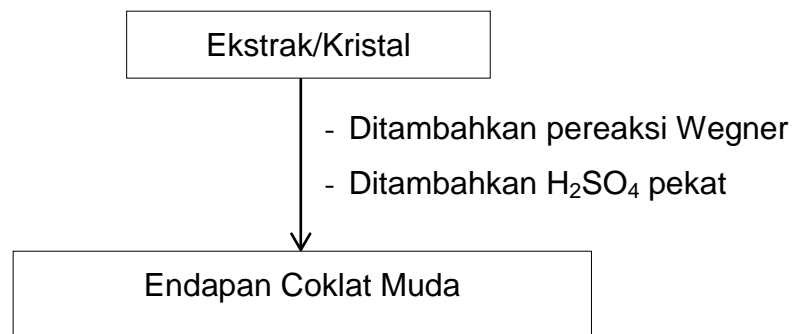


**Lampiran 3. Bagan Uji Fitokimia**

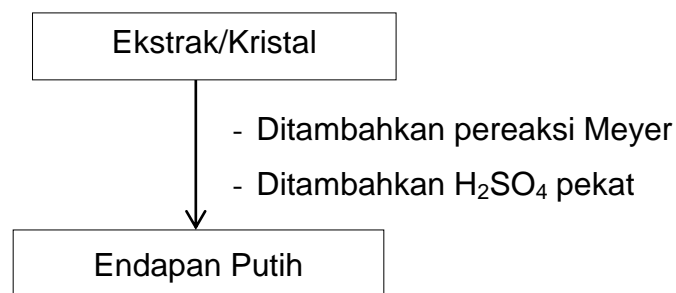
## 1) Uji Terpenoid dan Steroid



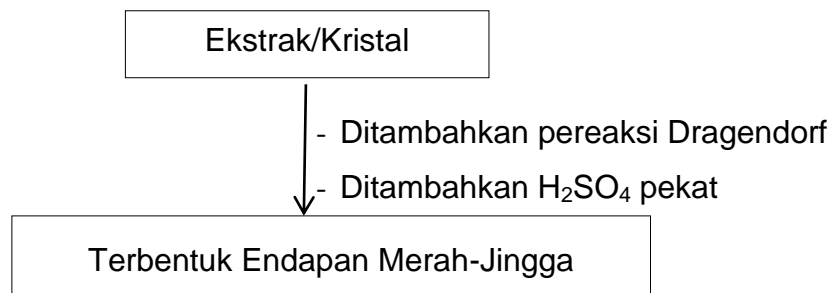
## 2) Uji Alkaloid (Wegner)



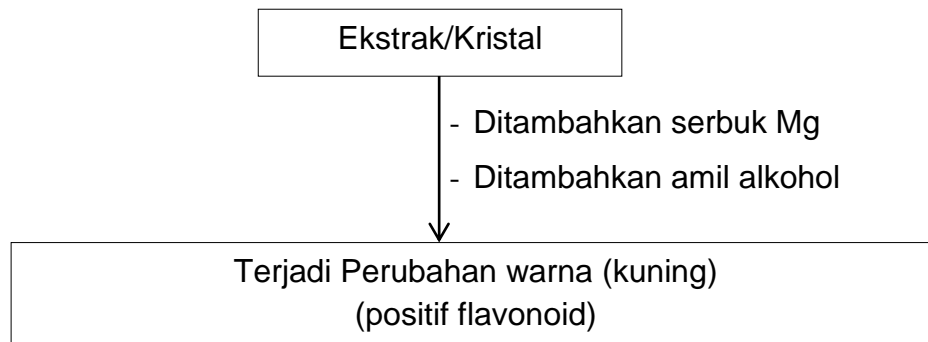
## 3) Uji Alkaloid (Meyer)



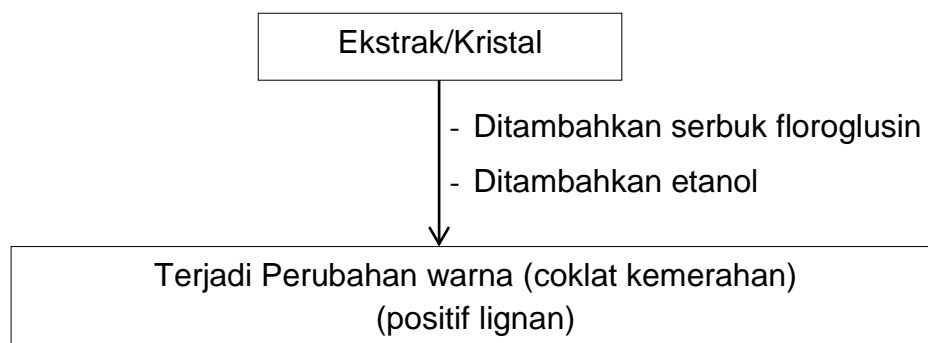
## 4) Uji Alkaloid (Dragendorf)



## 5) Uji Flavonoid



## 6) Uji Lignan



**Lampiran 4.** Perhitungan nilai  $LC_{50}$  ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*

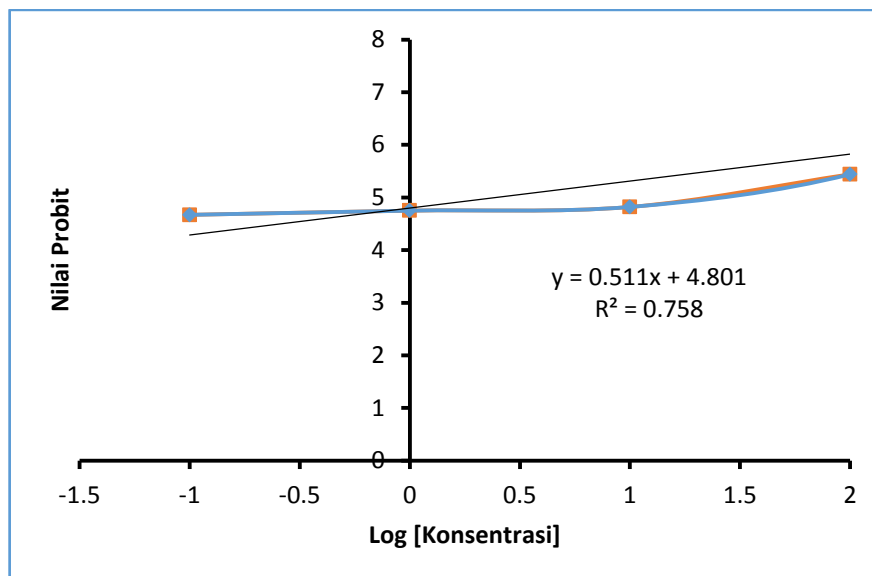
Akumulasi dan persentasi kematian larva *A. salina* dalam ekstrak aseton dapat dilihat pada tabel di bawah.

Konsentrasi Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Jumlah Larva Mati			Jumlah Larva Hidup			Akumulasi		% Kematian
							Hidup	Mati	
0,1	4	4	4	6	6	6	6,00	4,00	37
1	4	5	4	6	5	6	5,67	4,33	40
10	4	5	5	6	5	5	5,33	4,67	43
100	6	7	8	4	3	2	3,00	7,00	67
1000	10	10	10	0	0	0	0	10,0	97

Dari tabel persentasi kematian di atas, dapat diperoleh nilai probit sebagai berikut.

Log Konsentrasi Sampel (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
-1.00	37	4.67
0.00	40	4.75
1.00	43	4.82
2.00	67	5.44
3.00	97	6.88

Selanjutnya, berdasarkan tabel hubungan antara konsentrasi sampel, % kematian, dan nilai probit di atas, diperoleh hubungan nilai probit dan log [konsentrasi] untuk ekstrak aseton sirih merah *P. crocatum*.



Untuk mencari nilai  $LC_{50}$  (x), nilai probit adalah 5 (y) yang dimasukkan ke dalam persamaan,  $y = 0,511 x + 4,801$  ( $R^2 = 0,7580$ ),

$$y = 0,511 x + 4,801$$

$$(y - 4,801) / 0,511 = x$$

$$(5 - 4,801) / 0,511 = 0,3894$$

$$\text{Jadi, } \log x = 0,3894$$

$$x = \text{antilog } (0,3894)$$

$$x = 2,4520 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} \text{ ekstrak aseton} = 2,4520 \text{ ppm}$$

Uji BSLT menggunakan *A. salina* memperlihatkan nilai toksisitas ( $LC_{50}$ ) ekstrak aseton 2,4520  $\mu\text{g/mL}$  dan dikategorikan sangat toksik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Meyer, dkk. (1982) bahwa ekstrak dikategorikan toksik jika nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  dan ekstrak dikategorikan sangat toksik jika nilai  $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ .

**Lampiran 5.** Perhitungan nilai  $LC_{50}$  senyawa neolignan crocatin A (III) dari ekstrak aseton siri merah *P. crocatum*

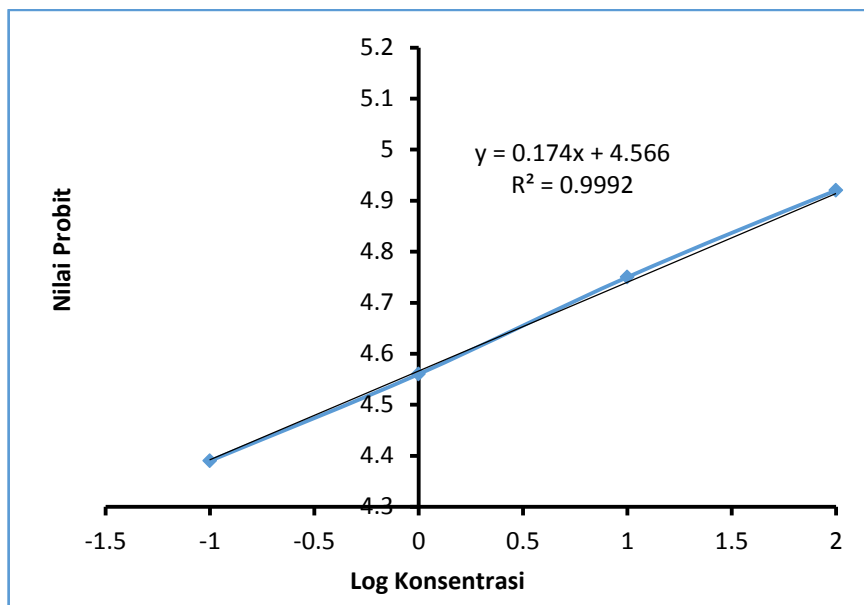
Akumulasi dan persentasi kematian larva *A. salina* dalam senyawa crocatin A (III) dapat dilihat pada tabel di bawah.

Konsentrasi Larutan Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Jumlah Larva Mati			Jumlah Larva Hidup			Akumulasi		% Kematian
							Hidup	Mati	
0,1	3	3	3	7	7	7	7,00	3,00	27
1	3	4	4	7	6	6	6,33	3,67	33
10	5	5	3	5	5	7	5,77	4,33	40
100	5	5	5	5	5	5	5,00	5,00	47
1000	6	5	6	4	5	4	4,33	5,67	53

Dari tabel persentasi kematian di atas, dapat diperoleh nilai probit sebagai berikut.

Log Konsentrasi Sampel (X)	% Kematian	Nilai Probit (Y)
-1.00	27	4.39
0.00	33	4.56
1.00	40	4.75
2.00	47	4.92
3.00	53	5.08

Selanjutnya, berdasarkan tabel hubungan antara konsentrasi sampel, % kematian, dan nilai probit di atas, diperoleh hubungan nilai probit dan log [konsentrasi] untuk senyawa crocatin A (III).



Untuk mencari nilai  $LC_{50}$  (x), nilai probit adalah 5 (y) yang dimasukkan ke dalam persamaan,  $y = 0,174 x + 4,566$  ( $R^2 = 0,9992$ ),

$$y = 0,174 x + 4,566$$

$$(y - 4,566) / 0,174 = x$$

$$(5 - 4,566) / 0,174 = 2,4943$$

$$\text{Jadi, } \log x = 2,4943$$

$$x = \text{antilog}(2,4943)$$

$$x = 312,071 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} \text{ senyawa crocatin A (3)} = 312,071 \text{ ppm}$$

Uji BSLT menggunakan *A. salina* memperlihatkan nilai toksisitas ( $LC_{50}$ ) senyawa crocatin A (III) 312,071  $\mu\text{g/mL}$  dan dikategorikan tidak toksik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Meyer, dkk. (1982) bahwa senyawa murni dikategorikan toksik jika nilai  $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ .

## Lampiran 6. Perhitungan pada Pengujian Antivirus

### 1) Uji Sitotoksik (Perhitungan nilai $CC_{50}$ )

#### 1.1. Menghitung rata rata absorbansi perlakuan

- 6,25  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{2,100 + 0,402 + 1,947}{3} = 1,483000000$
- 12,5  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{1,388 + 1,365 + 1,365}{3} = 1,372666667$
- 25  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{0,571 + 3,013 + 0,613}{3} = 1,399000000$
- 50  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{1,837 + 2,532 + 1,127}{3} = 1,832000000$
- 100  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{2,144 + 1,794 + 2,098}{3} = 2,012000000$
- 200  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\frac{2,973 + 2,926 + 2,882}{3} = 2,927000000$
- Kontrol sel;  $\frac{2,537 + 2,437 + 2,537}{3} = 2,503666667$
- Kontrol Media;  $\frac{0,141 + 0,143 + 0,141}{3} = 0,141666667$

#### 1.2. Menghitung (Abs. Perlakuan) - (Abs. Media)

- 6,25  $\mu\text{g/mL}$ ;  
(1,483000000) - (0,141666667) = 1,341333333
- 12,5  $\mu\text{g/mL}$ ;  
(1,372666667) - (0,141666667) = 1,231000000
- 25  $\mu\text{g/mL}$ ;  
(1,399000000) - (0,141666667) = 1,257333333
- 50  $\mu\text{g/mL}$ ;  
(1,832000000) - (0,141666667) = 1,690333333
- 100  $\mu\text{g/mL}$ ;  
(2,012000000) - (0,141666667) = 1,870333333

- 200 µg/mL;

$$(2,927000000) - (0,141666667) = 2,785333333$$

### 1.3. Menghitung (Abs. Sel) - (Abs. Media)

$$(2,503666667) - (0,141666667) = 2,362$$

### 1.4. Menghitung %Toksistas

$$\%Toksistas = \frac{((\text{Abs. perlakuan}) - (\text{Abs. Media}))}{((\text{Abs. Sel}) - (\text{Abs. Media}))} \times 100$$

- 6,25 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(1,341333333)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 56,78803274 \end{aligned}$$

- 12,5 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(1,231000000)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 52,11685013 \end{aligned}$$

- 25 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(1,257333333)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 53,23172453 \end{aligned}$$

- 50 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(1,690333333)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 71,56364663 \end{aligned}$$

- 100 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(1,870333333)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 79,18430708 \end{aligned}$$



- 200 µg/mL

$$\begin{aligned} \%Toksistas &= \frac{(2,785333333)}{(2,362)} \times 100 \\ &= 117,9226644 \end{aligned}$$

## 2) Uji Antivirus (Perhitungan nilai IC<sub>50</sub>)

### 2.1. Menghitung rata rata Luminescence perlakuan

- 100 µg/mL;  $\frac{(9,64E+04) + (9,35E+04) + (1,12E+05)}{3} = 1,00E + 05$
- 50 µg/mL;  $\frac{(5,76E+06) + (6,27E+06) + (2,55E+06)}{3} = 4,86E + 06$
- 25 µg/mL;  $\frac{(7,14E+06) + (7,06E+06) + (6,52E+06)}{3} = 6,91E + 06$
- 12,5 µg/mL;  $\frac{(7,78E+06) + (6,74E+06) + (6,74E+06)}{3} = 7,08E + 06$
- 6,25 µg/mL;  $\frac{(8,50E+06) + (6,36E+06) + (7,07E+06)}{3} = 7,31E + 06$
- 3,13 µg/mL;  $\frac{(8,81E+06) + (8,12E+06) + (7,49E+06)}{3} = 8,14E + 06$
- 1,76 µg/mL;  $\frac{(8,85E+06) + (9,00E+06) + (7,80E+06)}{3} = 8,55E + 06$
- K. DENV + K. Sel;  $\frac{(8,35E+06) + (8,61E+06) + (6,54E+06)}{3} = 7,83E + 06$
- K. Media;  $\frac{(3,29E+03) + (2,37E+02) + (2,10E+02)}{3} = 2,59E + 03$

### 2.2. Menghitung (L. Treatmen) - (L. K. Media)

- 100 µg/mL;  $(1,00E + 05) - (2,59E + 03) = 9,79E + 04$
- 50 µg/mL;  $(4,86E + 06) - (2,59E + 03) = 4,85E + 06$
- 25 µg/mL;  $(6,91E + 06) - (2,59E + 03) = 6,90E + 06$
- 12,5 µg/mL;  $(7,08E + 06) - (2,59E + 03) = 7,08E + 06$
- 6,25 µg/mL;  $(7,31E + 06) - (2,59E + 03) = 7,31E + 06$

- 3,13 µg/mL;  $(8,14E + 06) - (2,59E + 03) = 8,14E + 06$
- 1,76 µg/mL;  $(8,55E + 06) - (2,59E + 03) = 8,55E + 06$

### 2.3. Menghitung L. (K. DENV + K. Sel) - L. (K. Media)

$$(7,83E + 06) - (2,59E + 03) = 7,83E + 06$$

### 2.4. Menghitung % Viabilitas Sel

$$\% Viabilitas Sel = \frac{((L. Treatment) - (L. K. Media))}{(L. (K. DENV + K. Sel) - (L. K. Media))} \times 100$$

- 100 µg/mL

$$\begin{aligned} \% Viabilitas Sel &= \frac{(9,79E + 04)}{(7,83E + 06)} \times 100 \\ &= 1,2504789 \end{aligned}$$

- 50 µg/mL

$$\begin{aligned} \% Viabilitas Sel &= \frac{(4,85E + 06)}{(7,83E + 06)} \times 100 \\ &= 62,006951 \end{aligned}$$

- 25 µg/mL

$$\begin{aligned} \% Viabilitas Sel &= \frac{(6,90E + 06)}{(7,83E + 06)} \times 100 \\ &= 88,183063 \end{aligned}$$

- 12,5 µg/mL

$$\begin{aligned} \% Viabilitas Sel &= \frac{(7,08E + 06)}{(7,83E + 06)} \times 100 \\ &= 90,474058 \end{aligned}$$

- 6,25 µg/mL

$$\begin{aligned} \% Viabilitas Sel &= \frac{(7,31E + 06)}{(7,83E + 06)} \times 100 \\ &= 93,356965 \end{aligned}$$

- 3,13 µg/mL

$$\begin{aligned}\% \textit{Viabilitas Sel} &= \frac{(8,14\text{E} + 06)}{(7,83\text{E} + 06)} \times 100 \\ &= 103,93898\end{aligned}$$

- 1,76 µg/mL

$$\begin{aligned}\% \textit{Viabilitas Sel} &= \frac{(8,55\text{E} + 06)}{(7,83\text{E} + 06)} \times 100 \\ &= 109,21508\end{aligned}$$

## Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Maserasi sirih merah *P. crocatum* menggunakan pelarut aseton



Evaporasi maserat dari proses maserasi



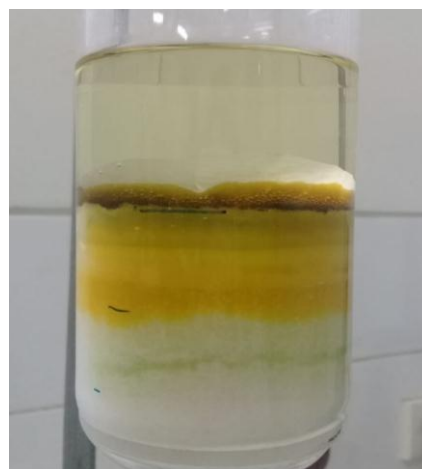
Ekstrak aseton hasil evaporasi



Uji fitokimia ekstrak aseton



Proses Kromatografi Kolom Vakum (KKV) I (12 Fraksi)



Proses KKV dari Fraksi 12 (F12)



Proses KKV dari Fraksi 11  
(F11)



Fraksi-fraksi hasil Kromatografi  
Kolom Vakum (KKV)



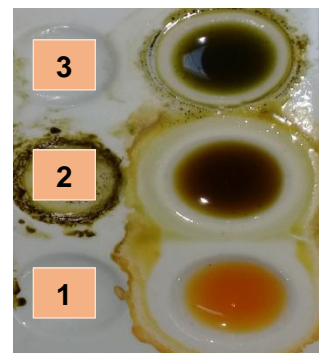
Permurnian dengan  
menggunakan kromatotron



Senyawa murni dari Fraksi 11  
(F11-F5-K1015)

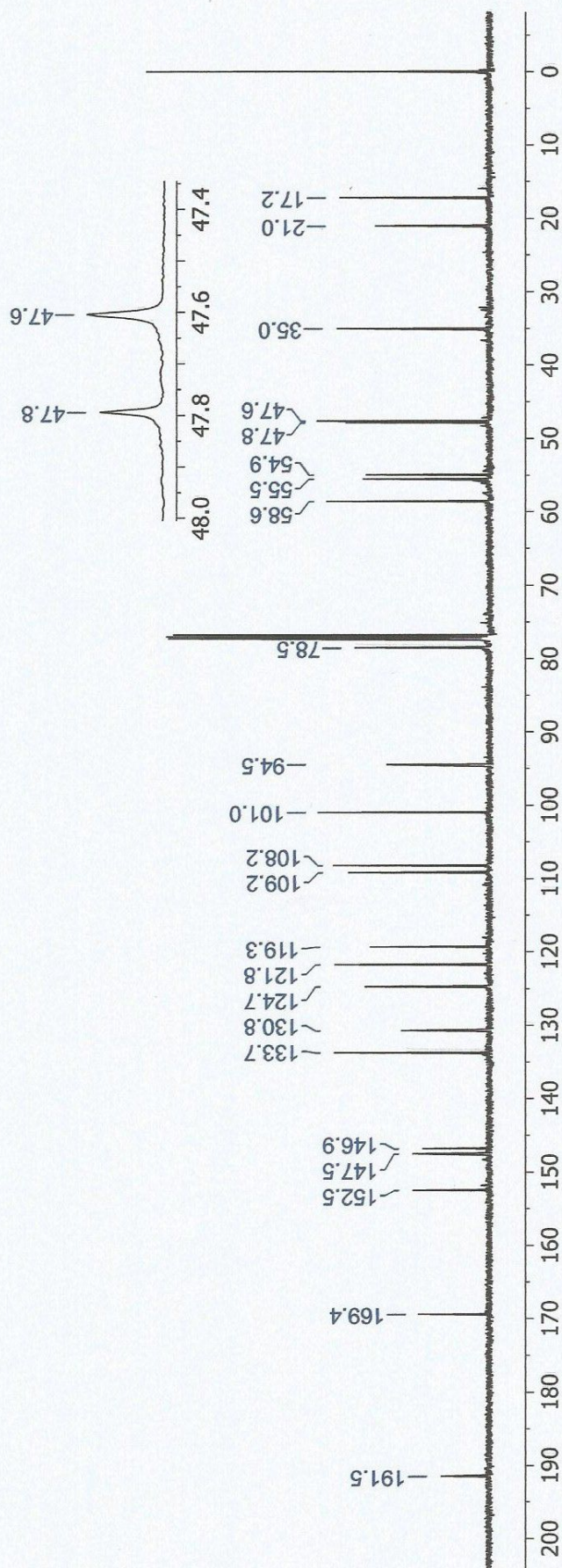


Uji BSLT ekstrak aseton dan senyawa  
neolignan crocetin A (3)

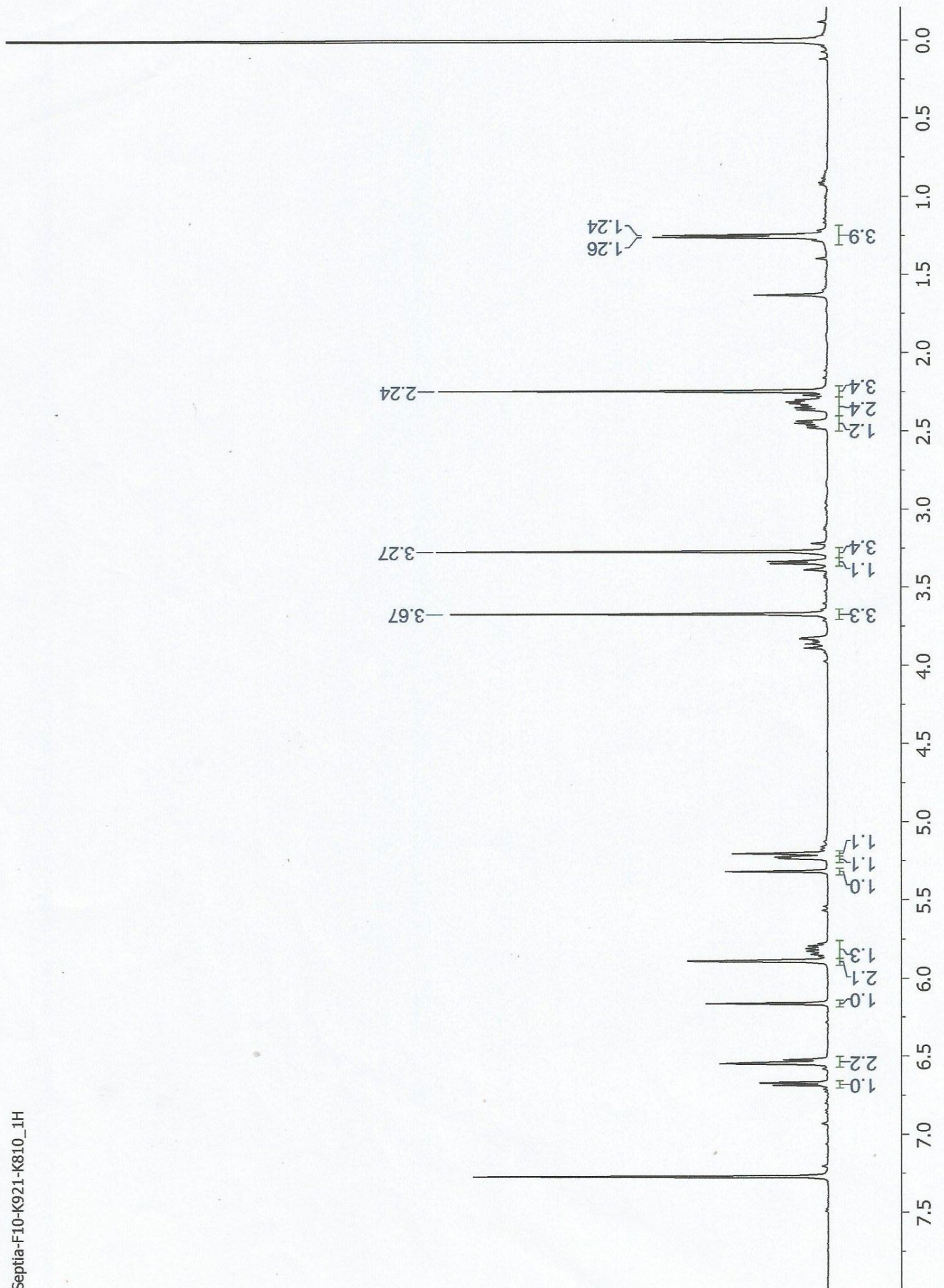


Uji fitokimia golongan lignan  
Ket: (1) larutan floroglusin, (2) (+)  
lignan (ekstrak+lar. floroglusin), (3)  
ekstrak aseton



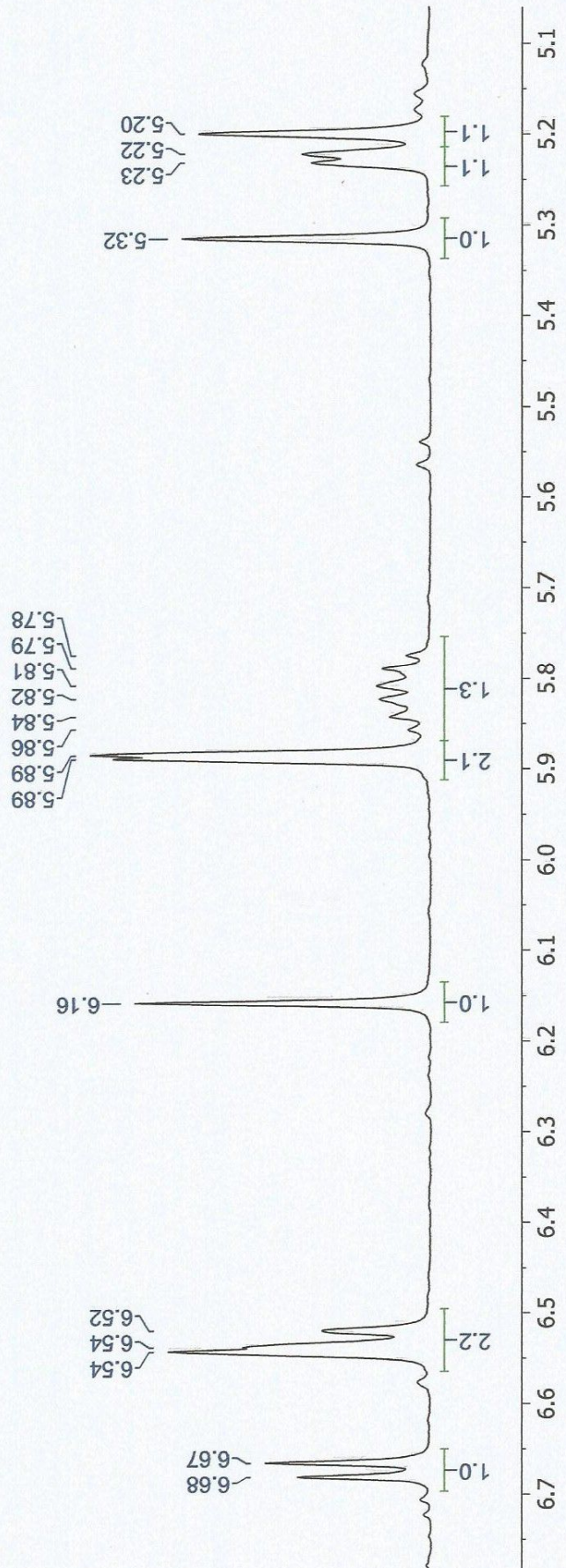
Lampiran 8. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa I



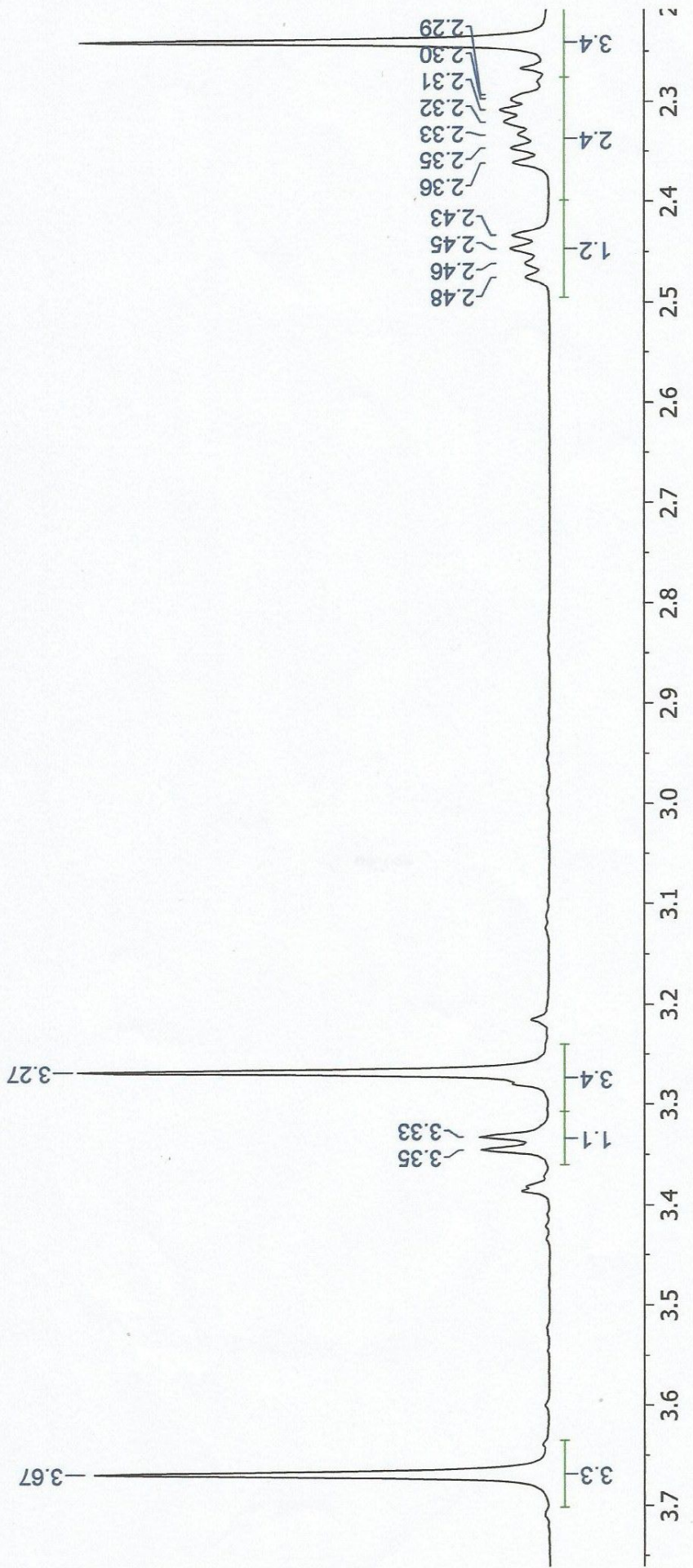
Lampiran 9. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa I



Septia-F10-K921-K810\_1H

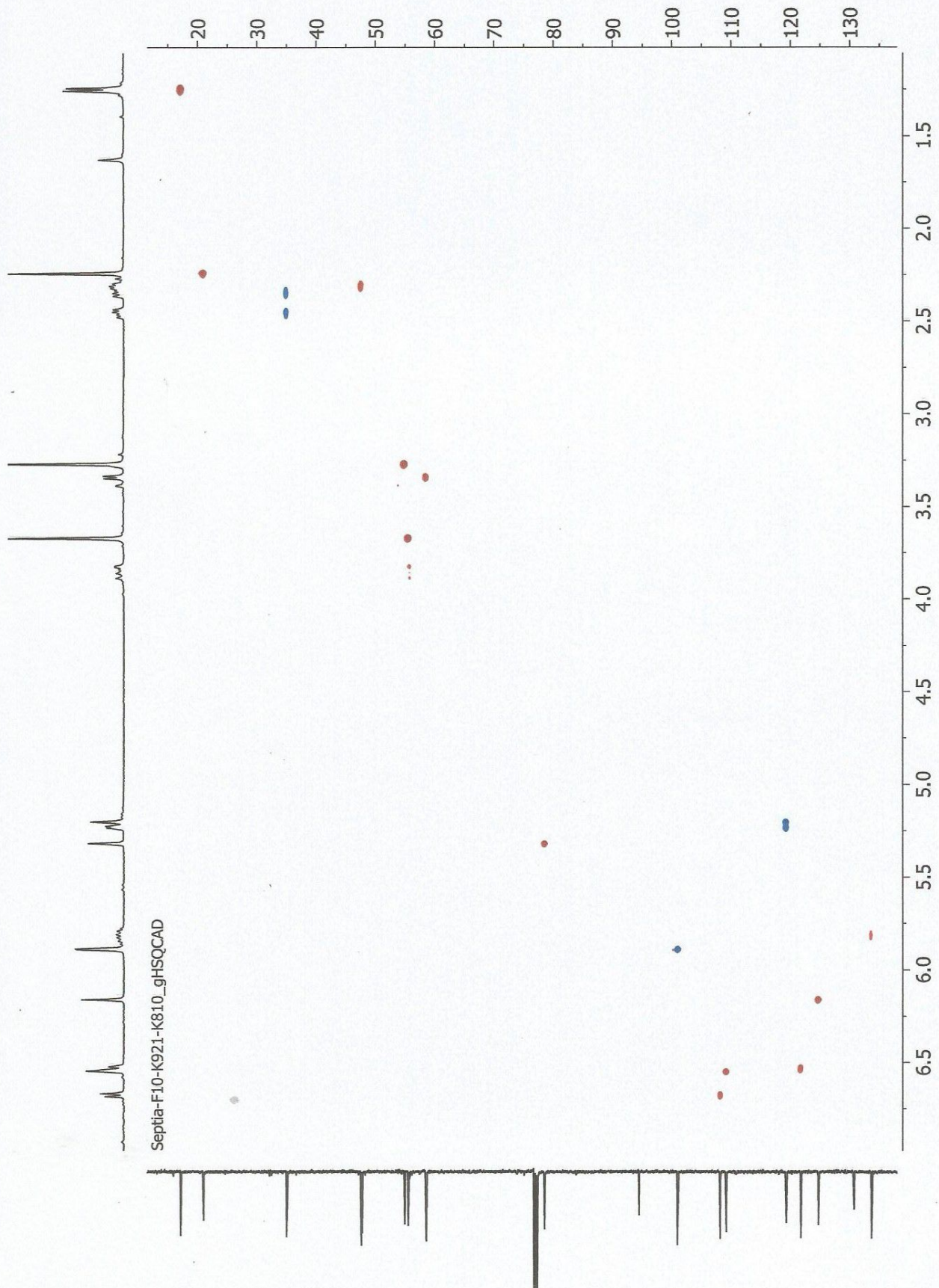




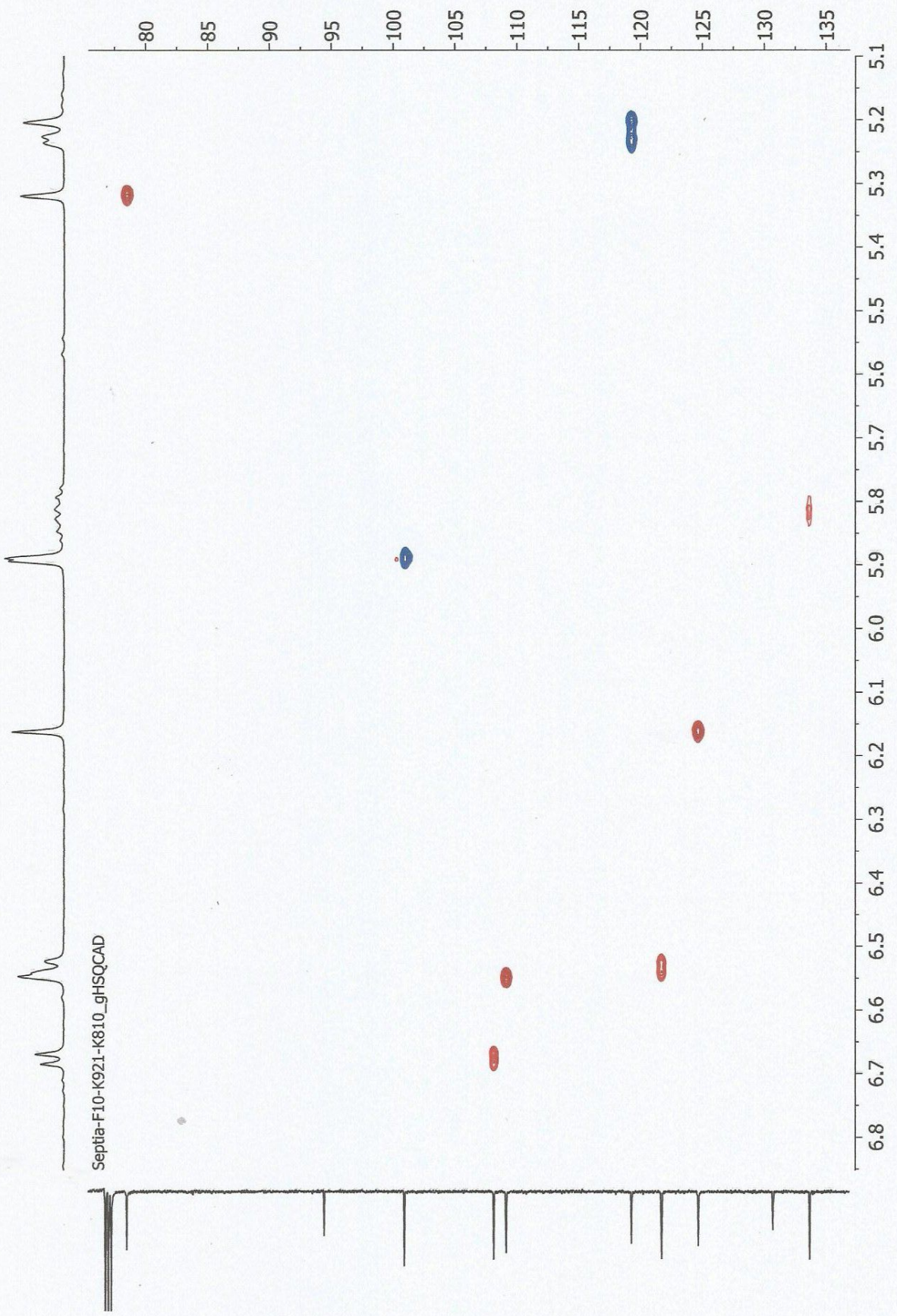




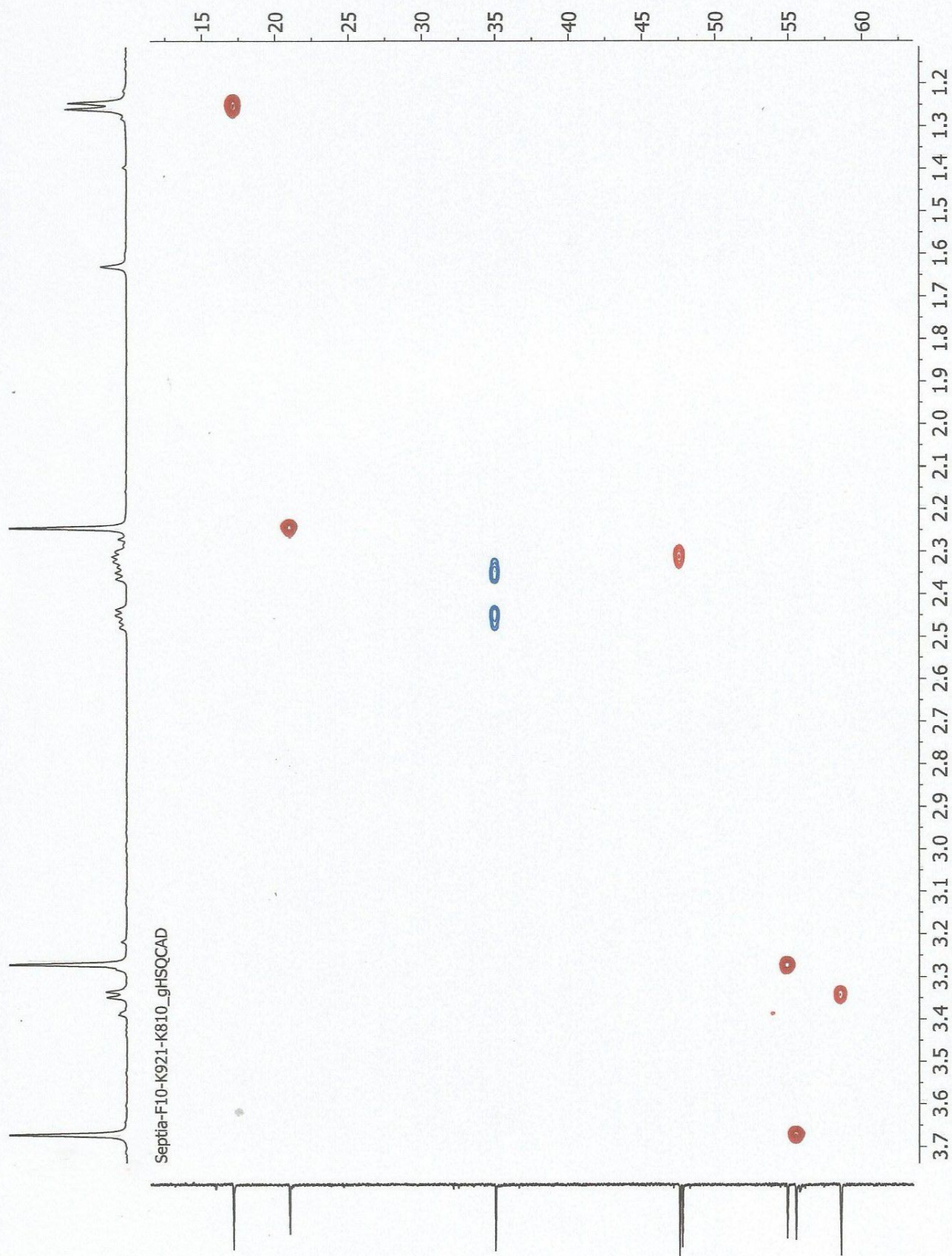
Lampiran 10. Spektrum HSQC Senyawa I





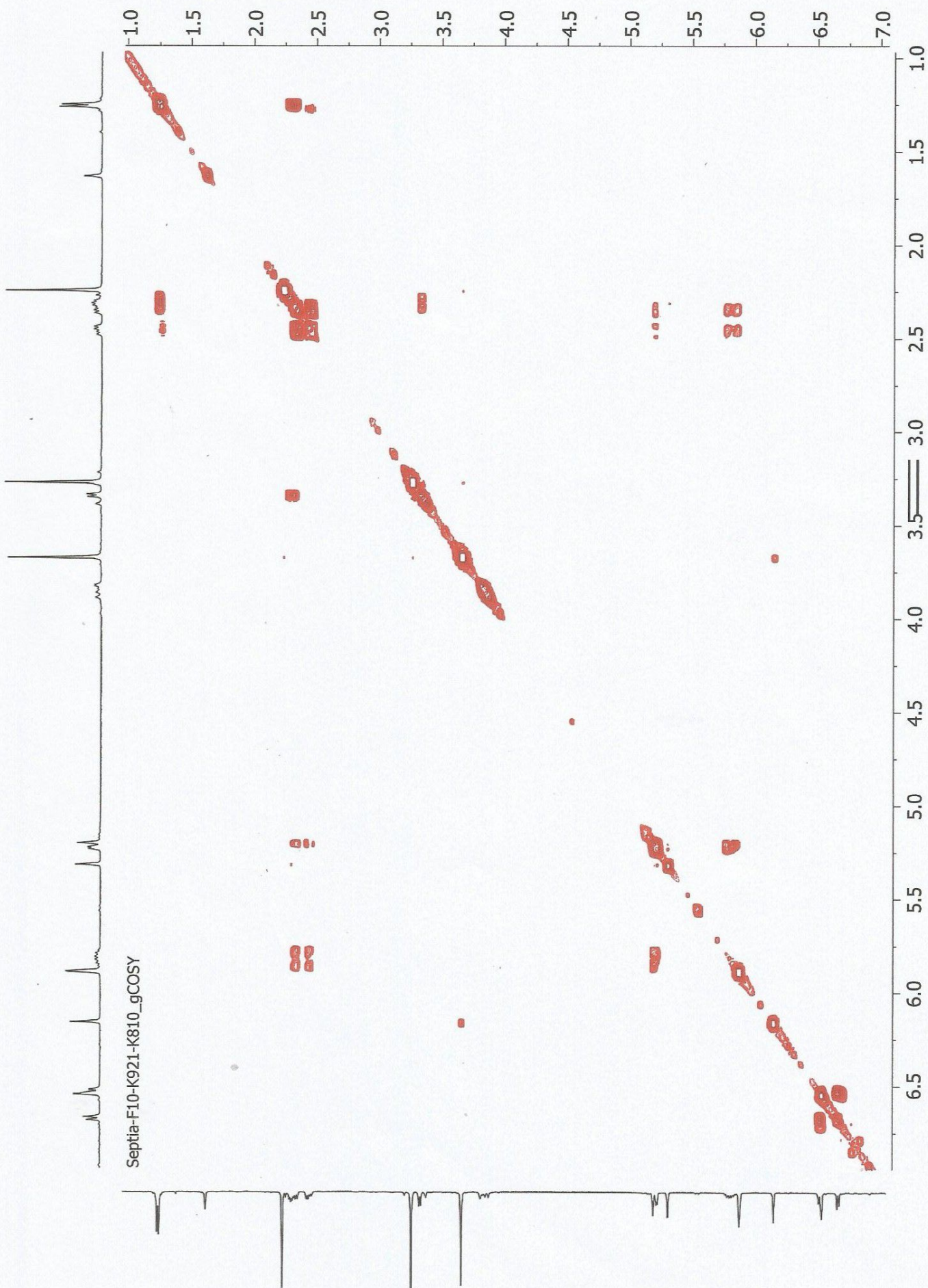




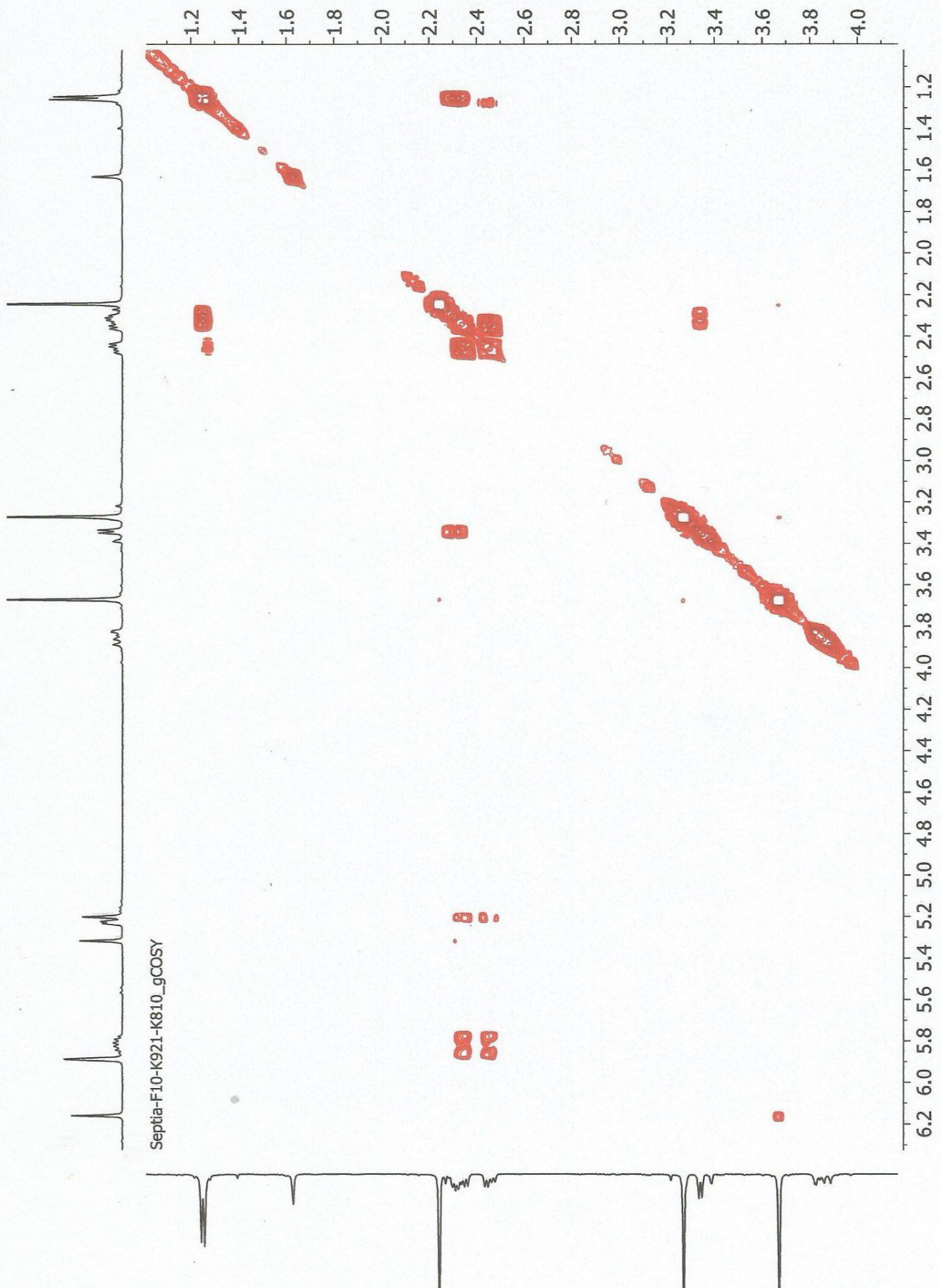




Lampiran 11. Spektrum COSY Senyawa I

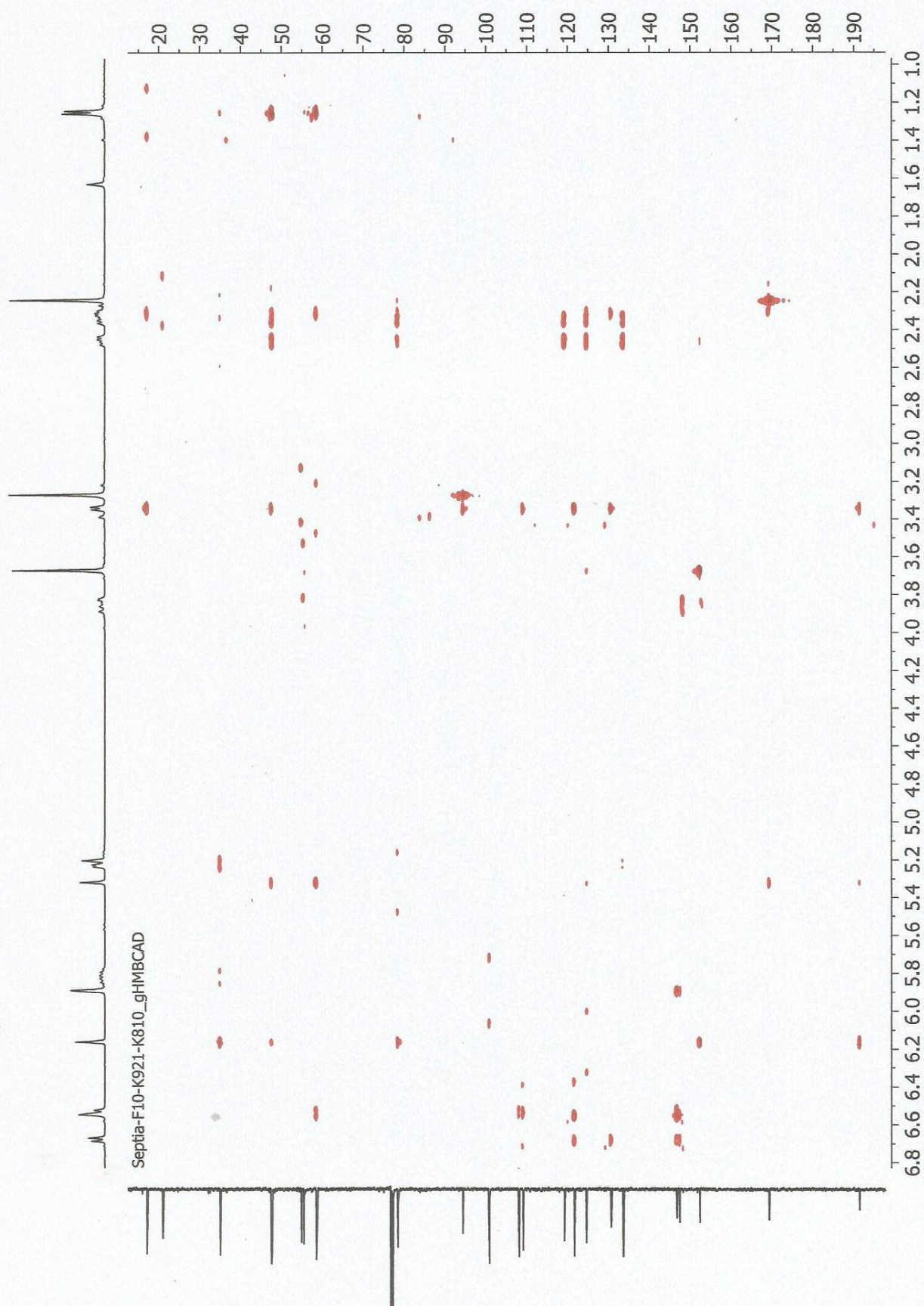




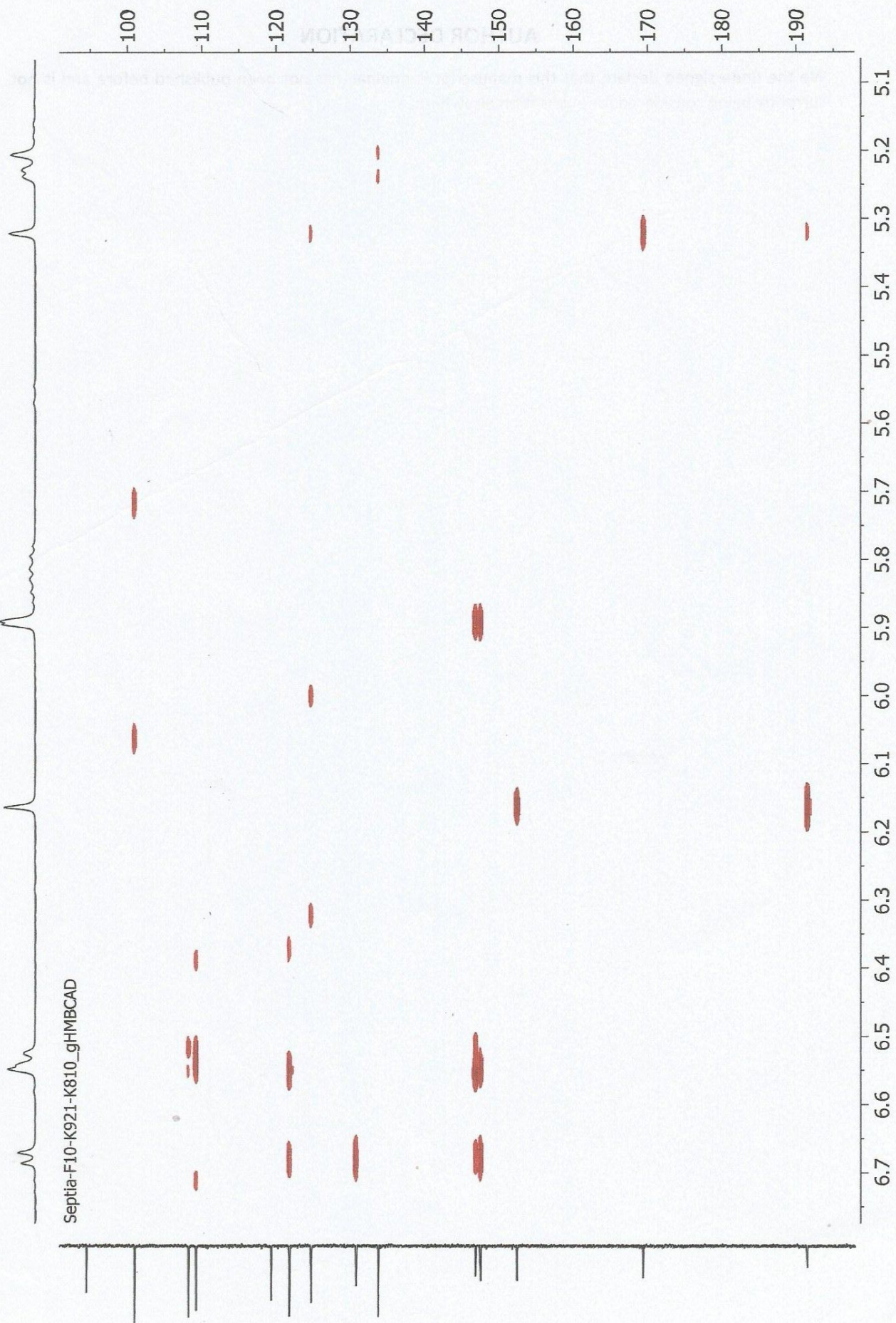




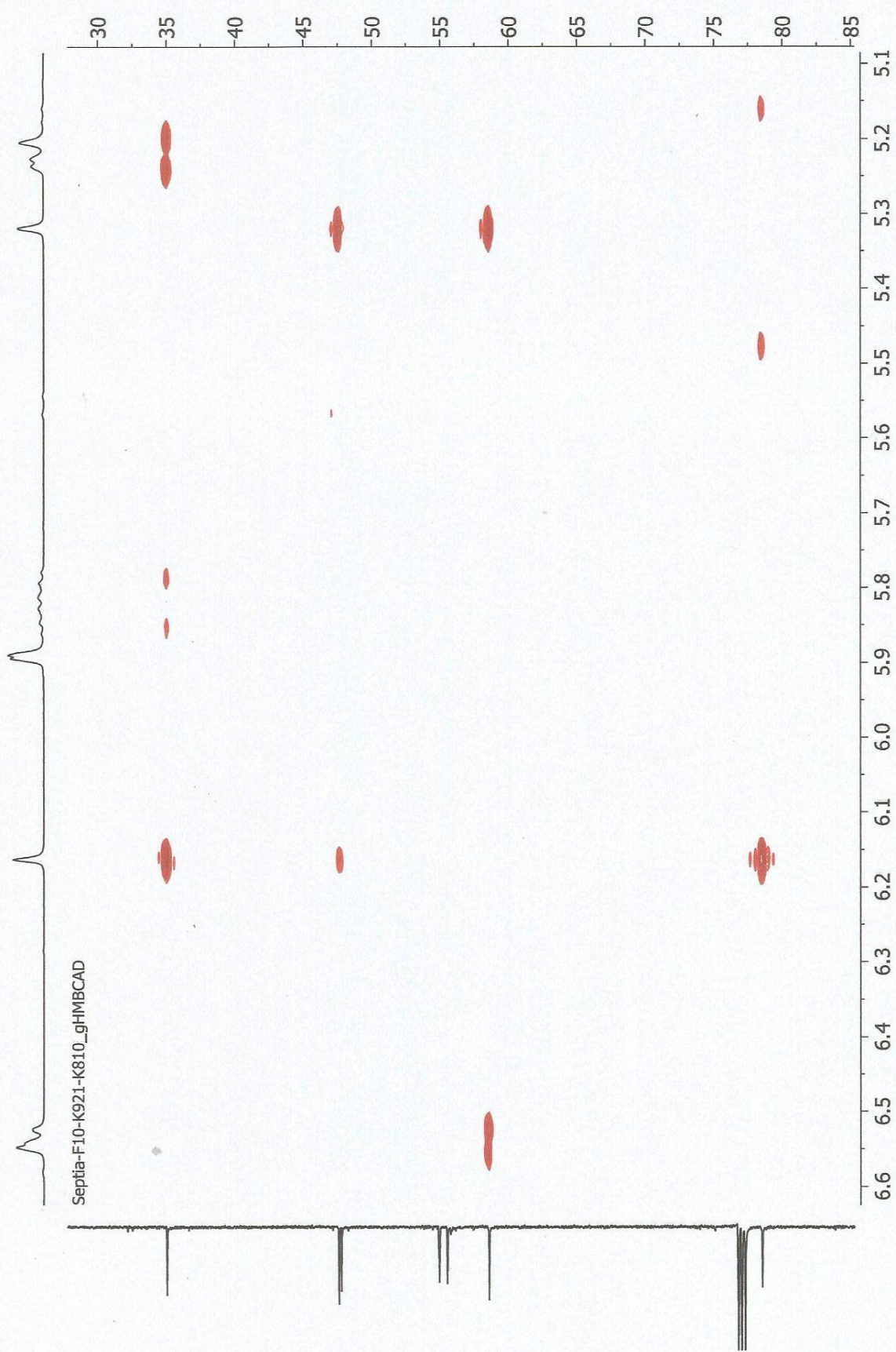
## Lampiran 12. Spektrum HMBC Senyawa I



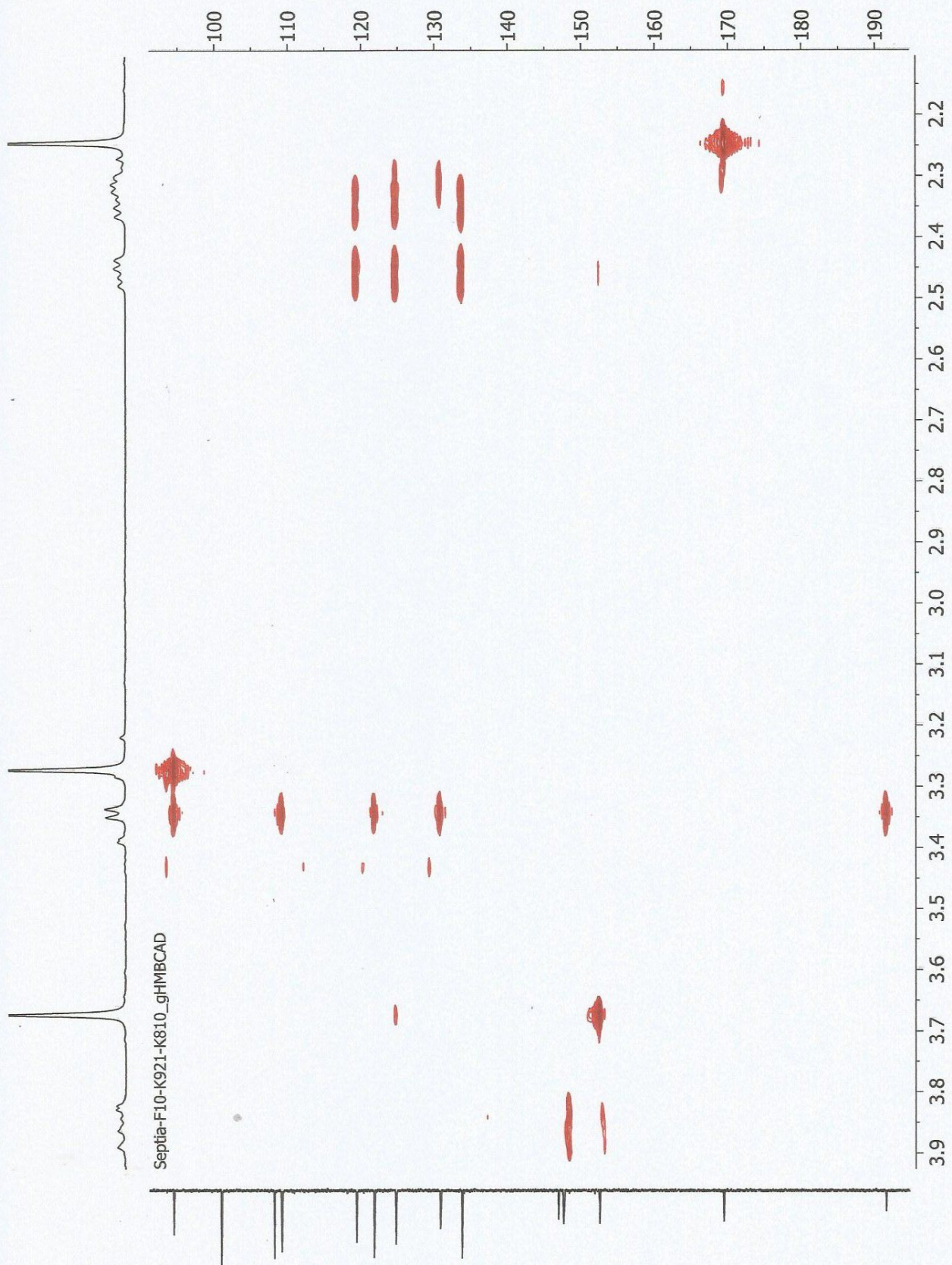




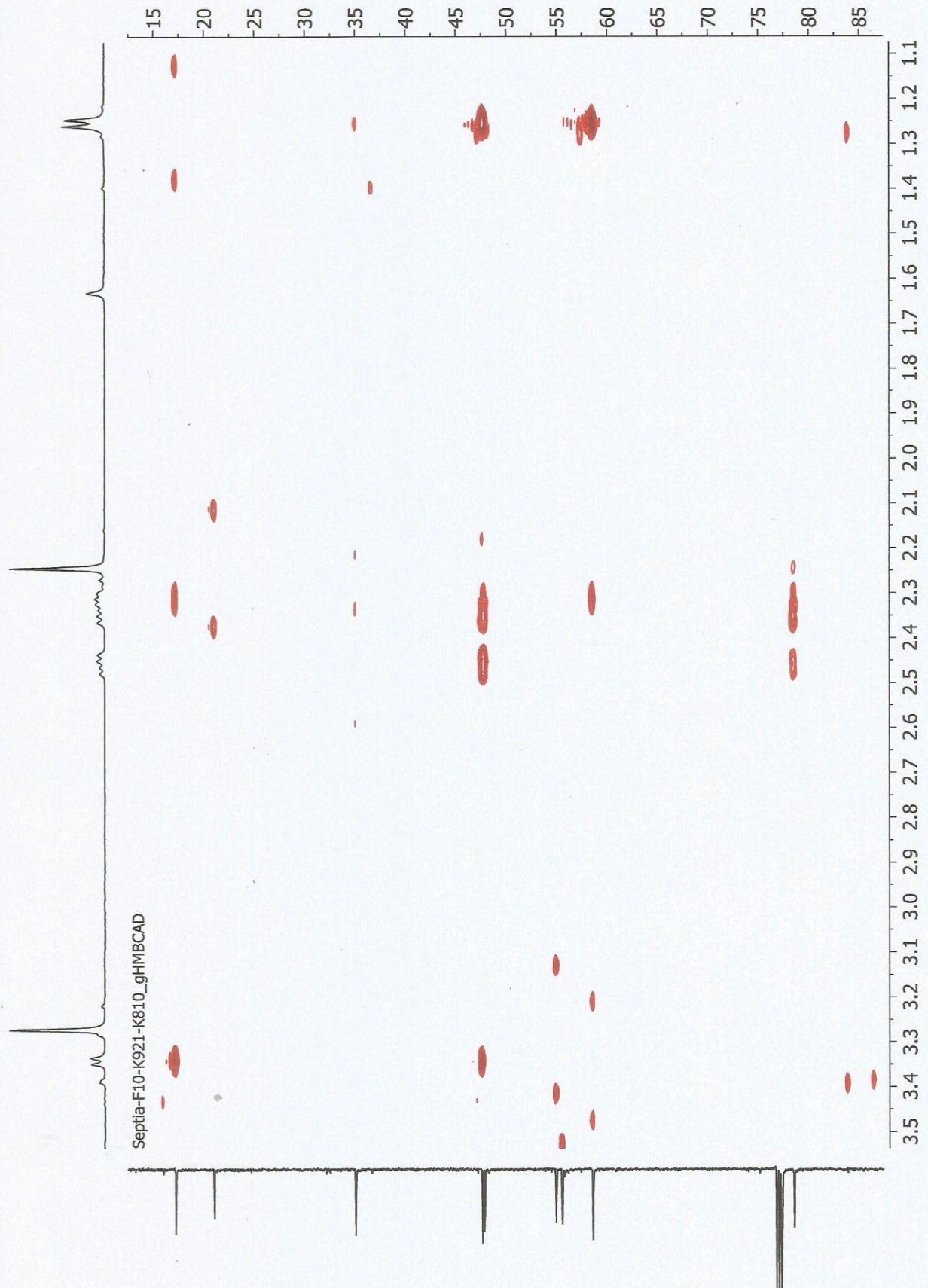




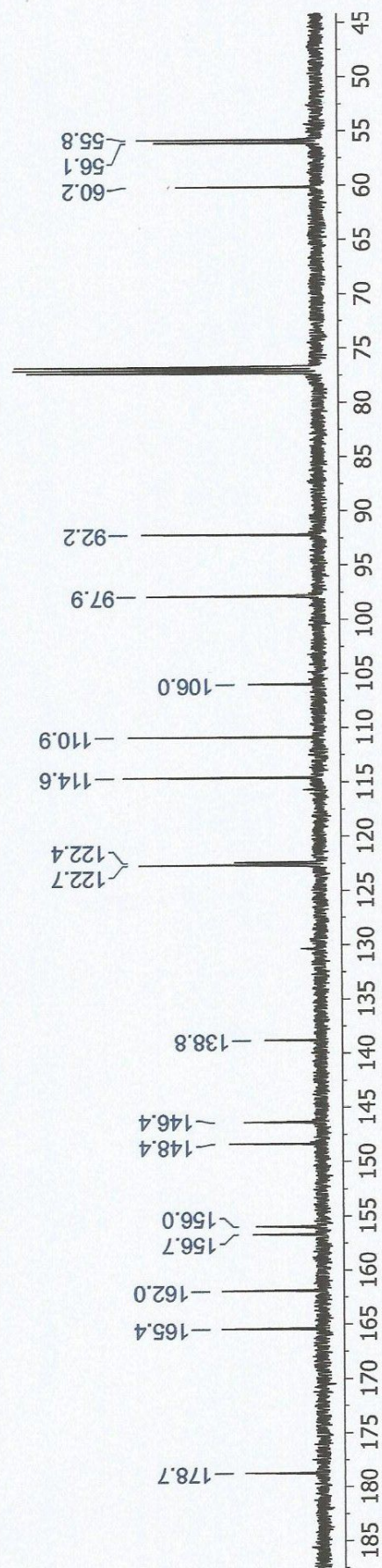










Lampiran 13. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa II



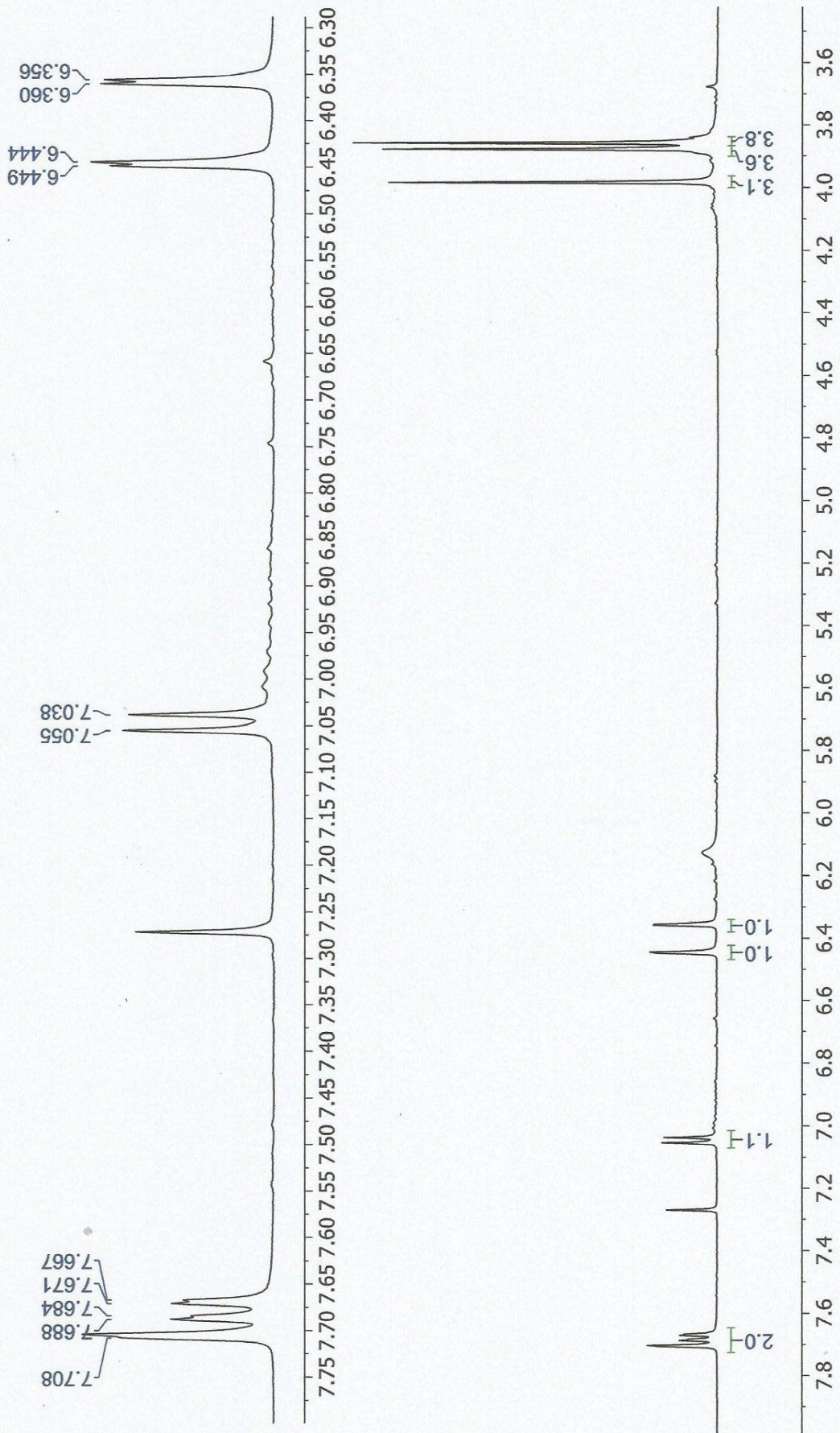
Lampiran 14. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR Senyawa II



Septia-F11-K5-K1015\_1H

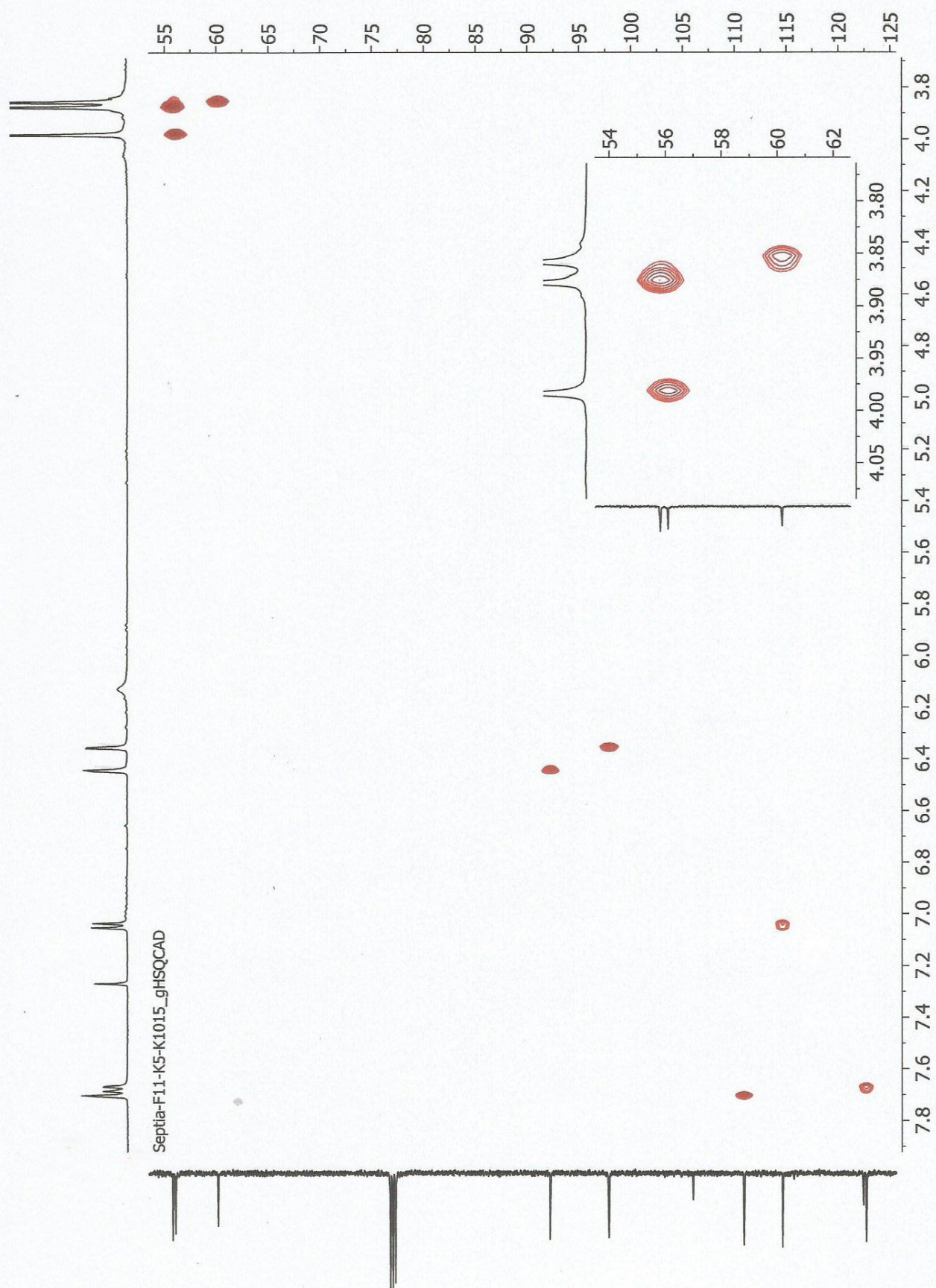


Septia-F11-K5-K1015\_1H



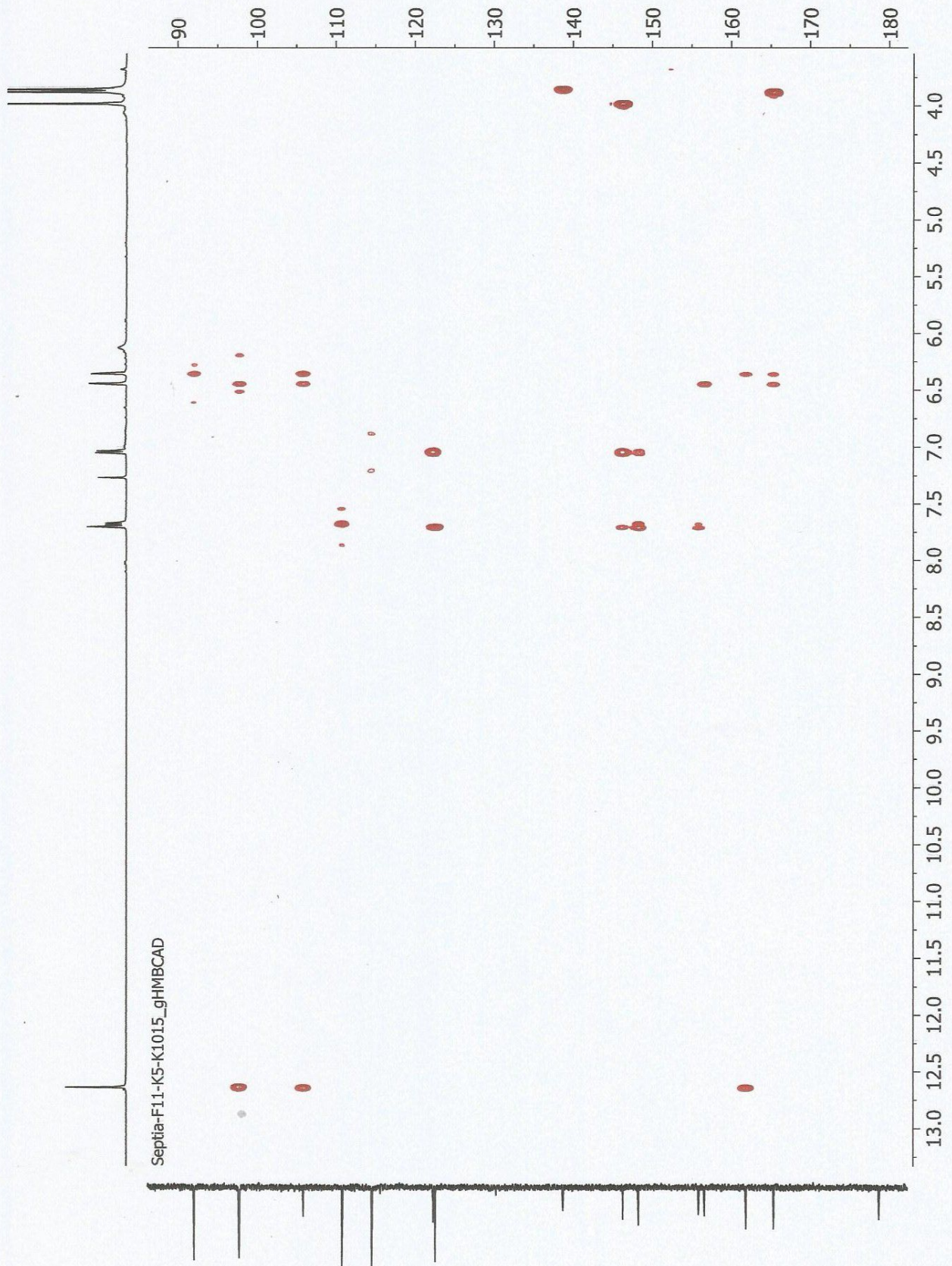


## Lampiran 15. Spektrum HSQC Senyawa II

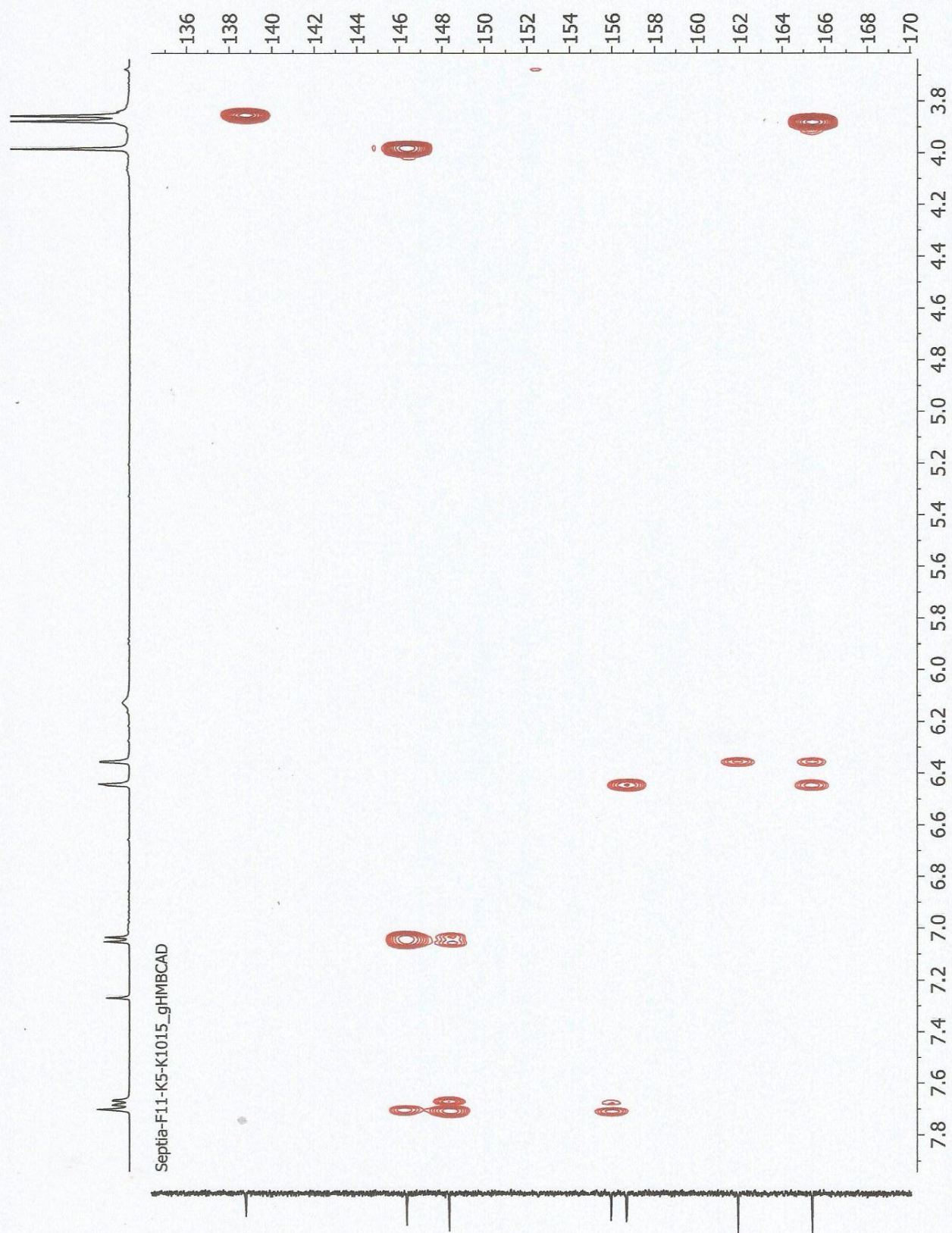




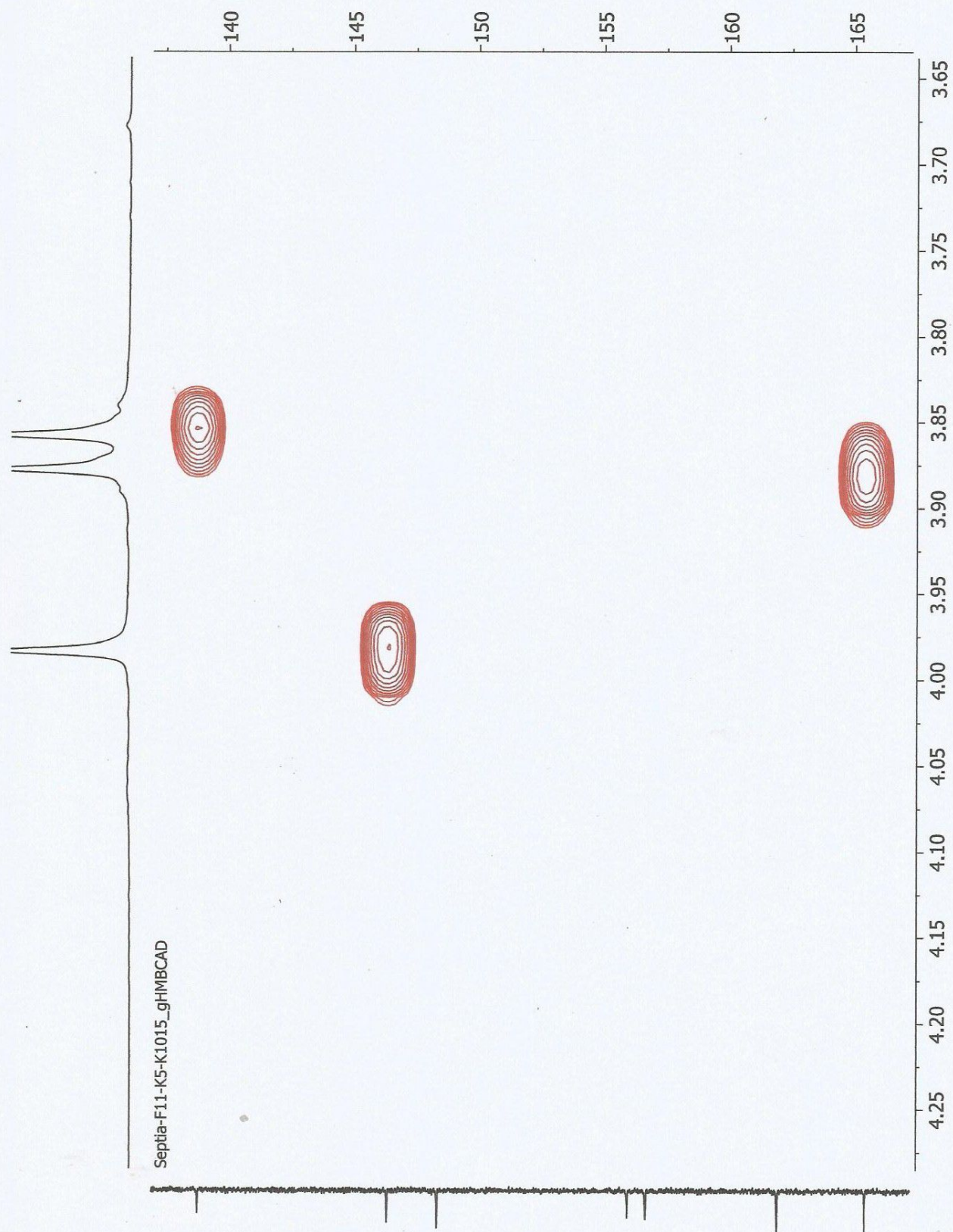
## Lampiran 16. Spektrum HMBC Senyawa II



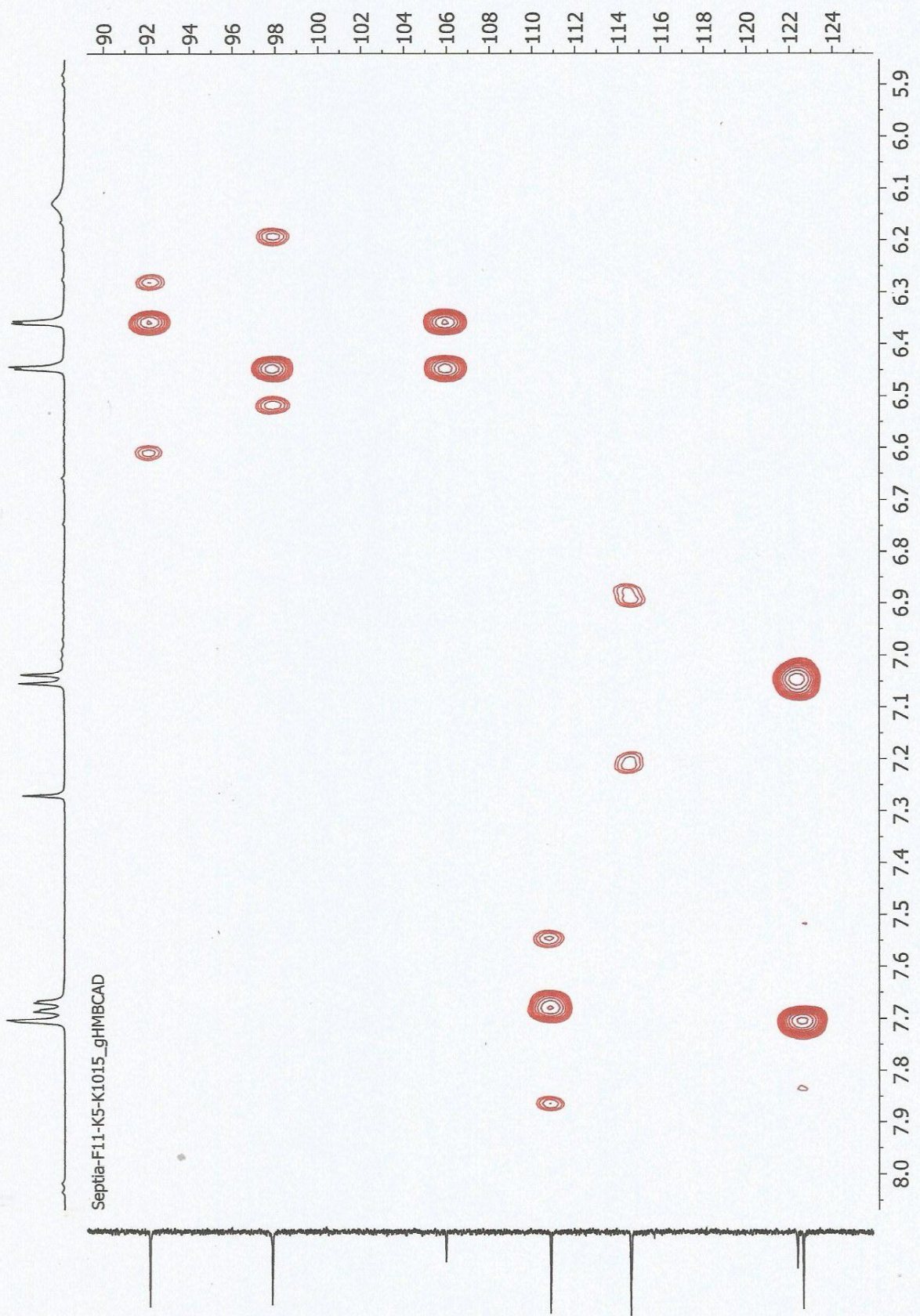




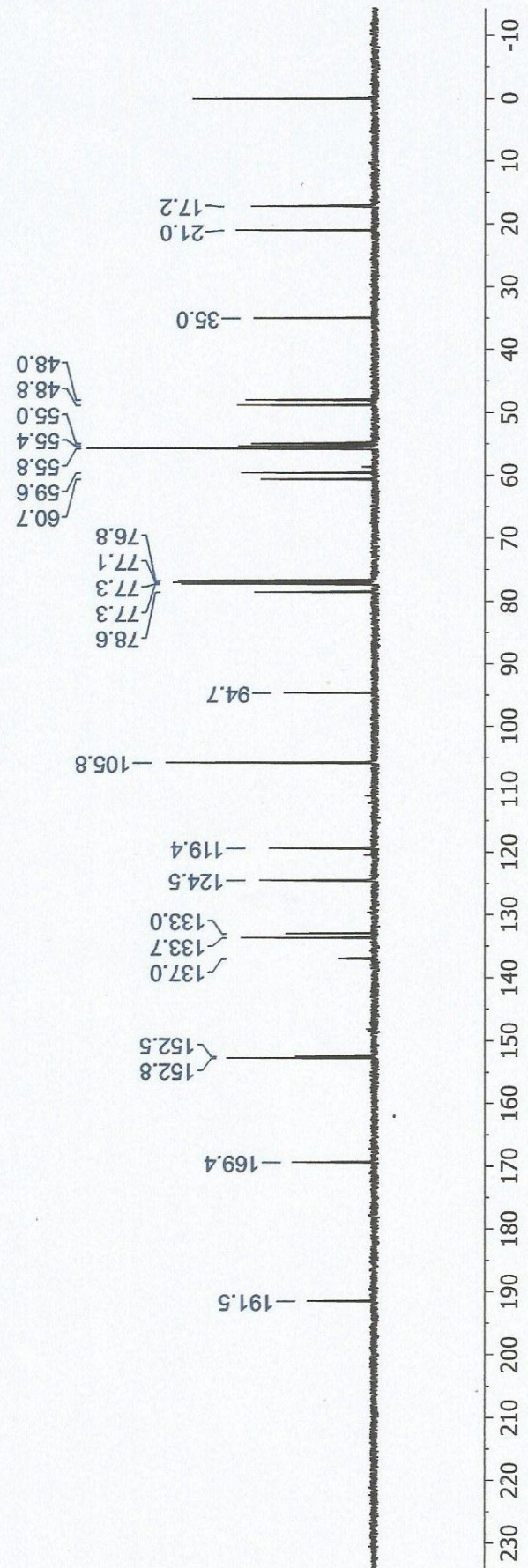








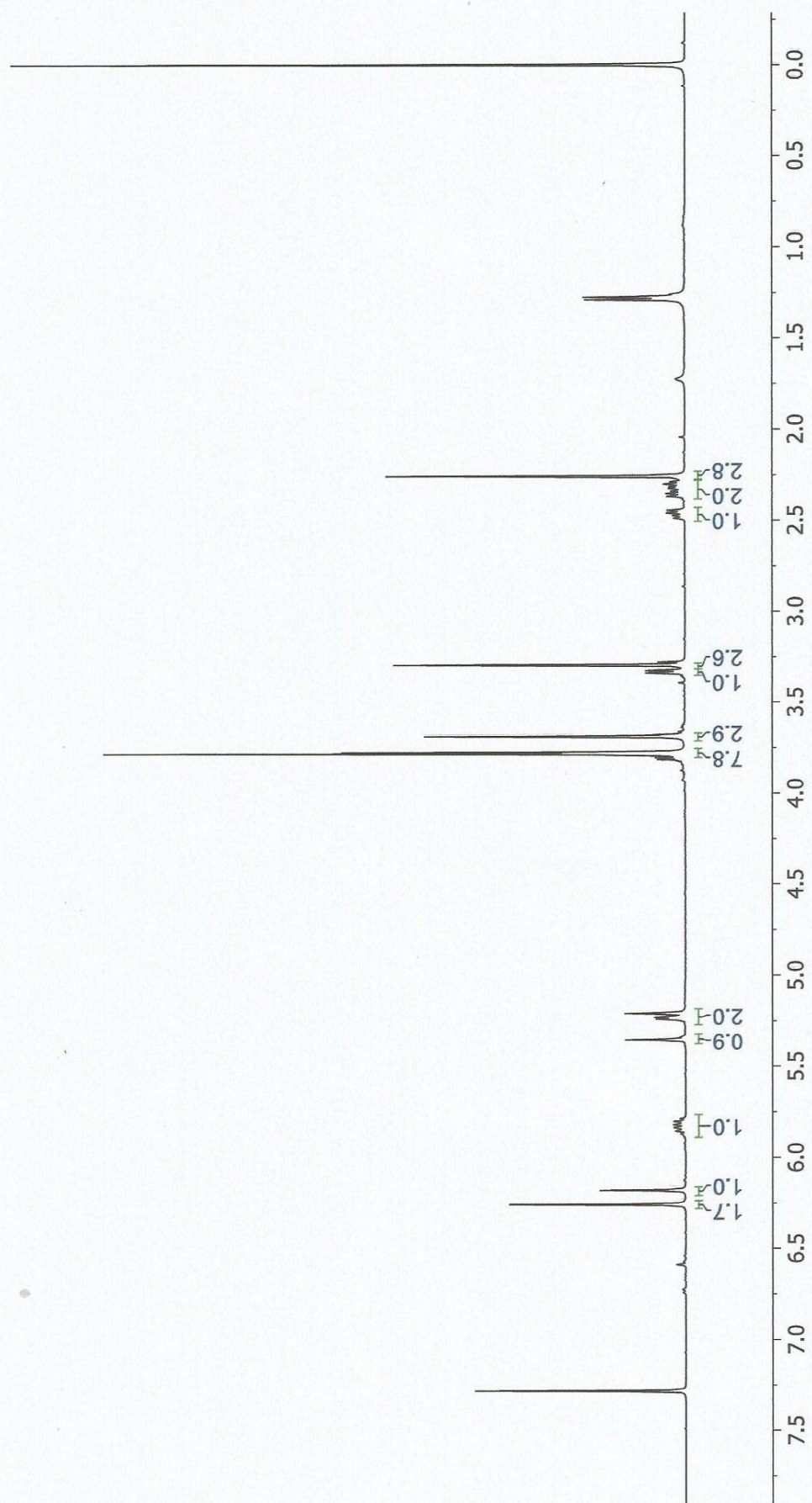


Lampiran 17. Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR Senyawa III



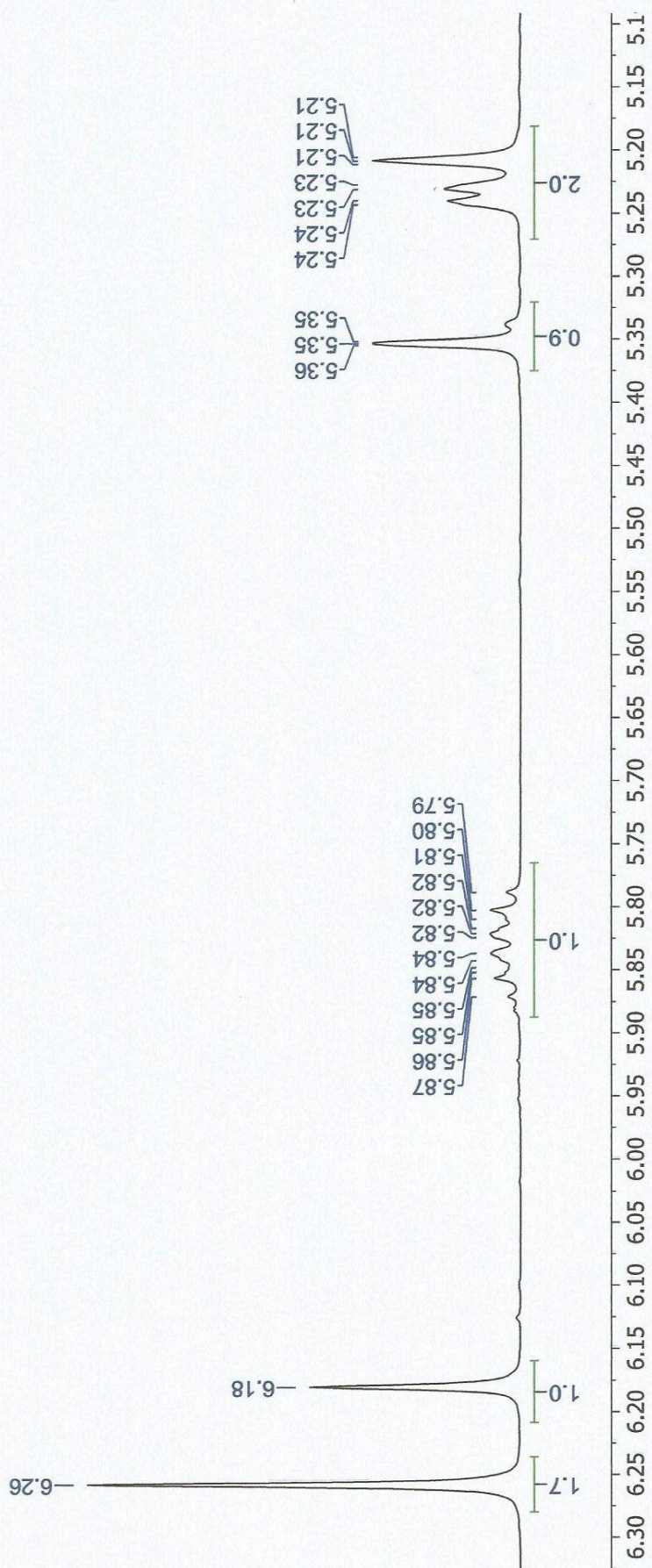
Lampiran 18. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  Senyawa III

Septia-F12-6\_1H



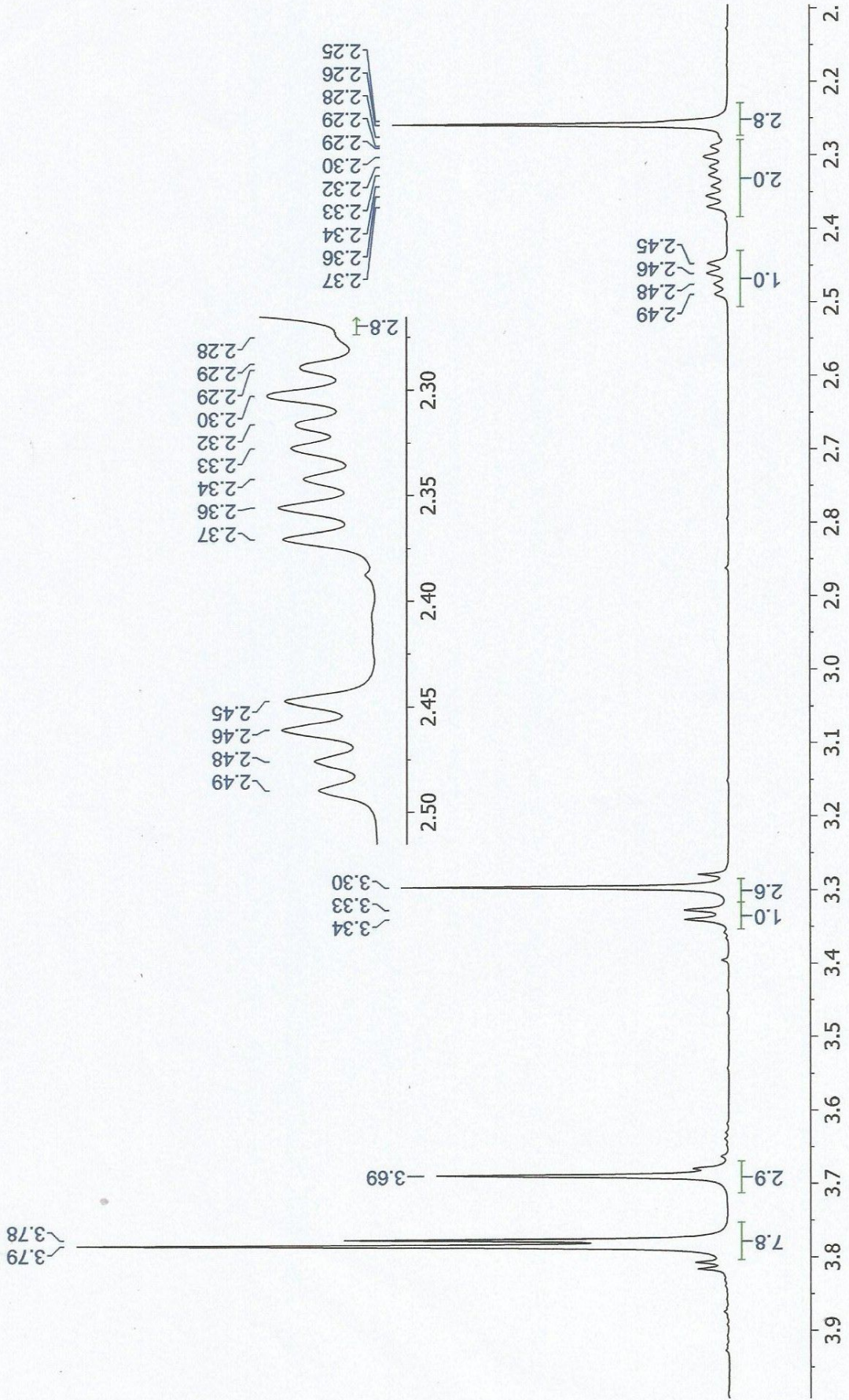


Septia-F12-6\_1H



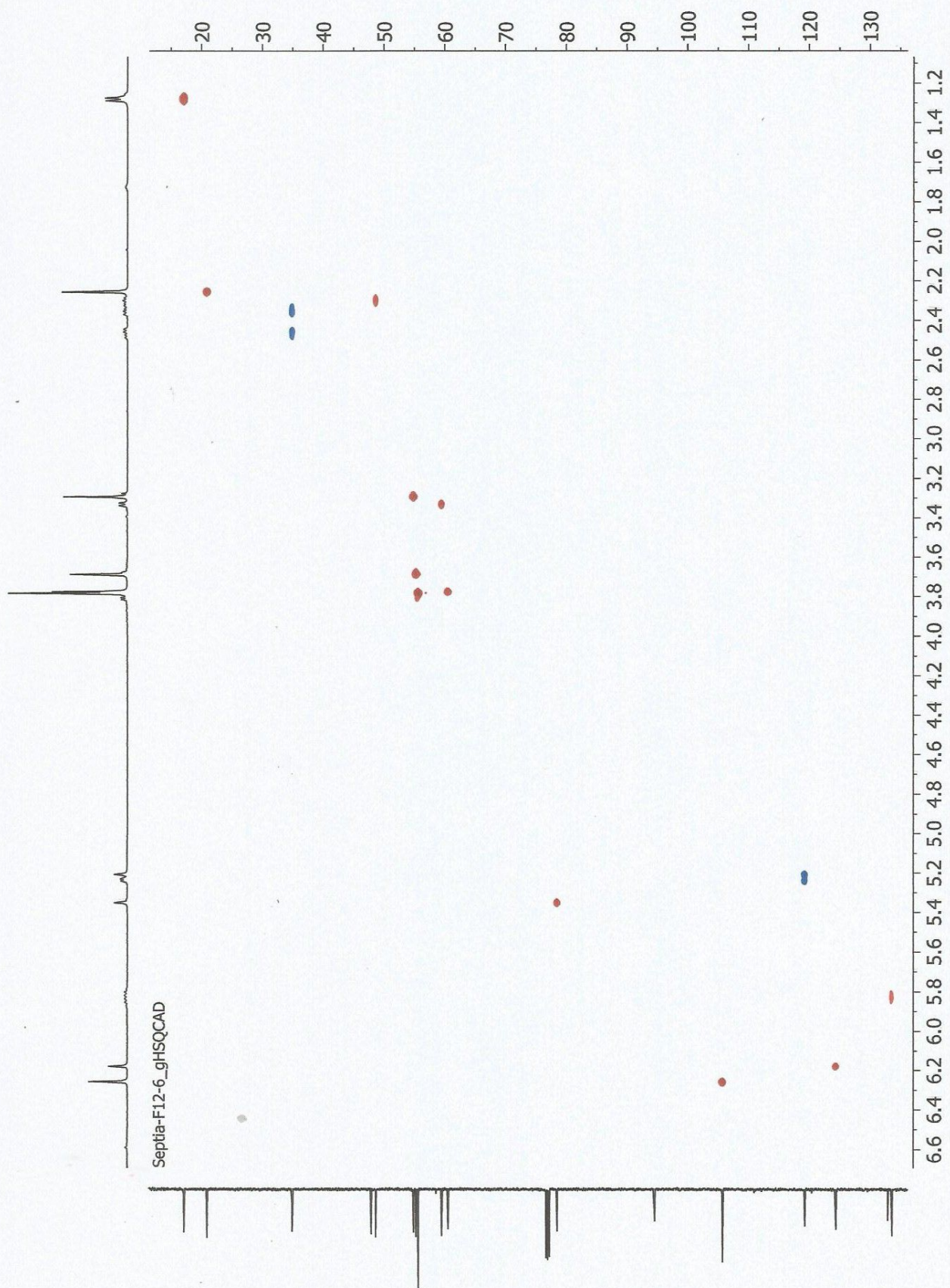


Septia-F12-6\_1H

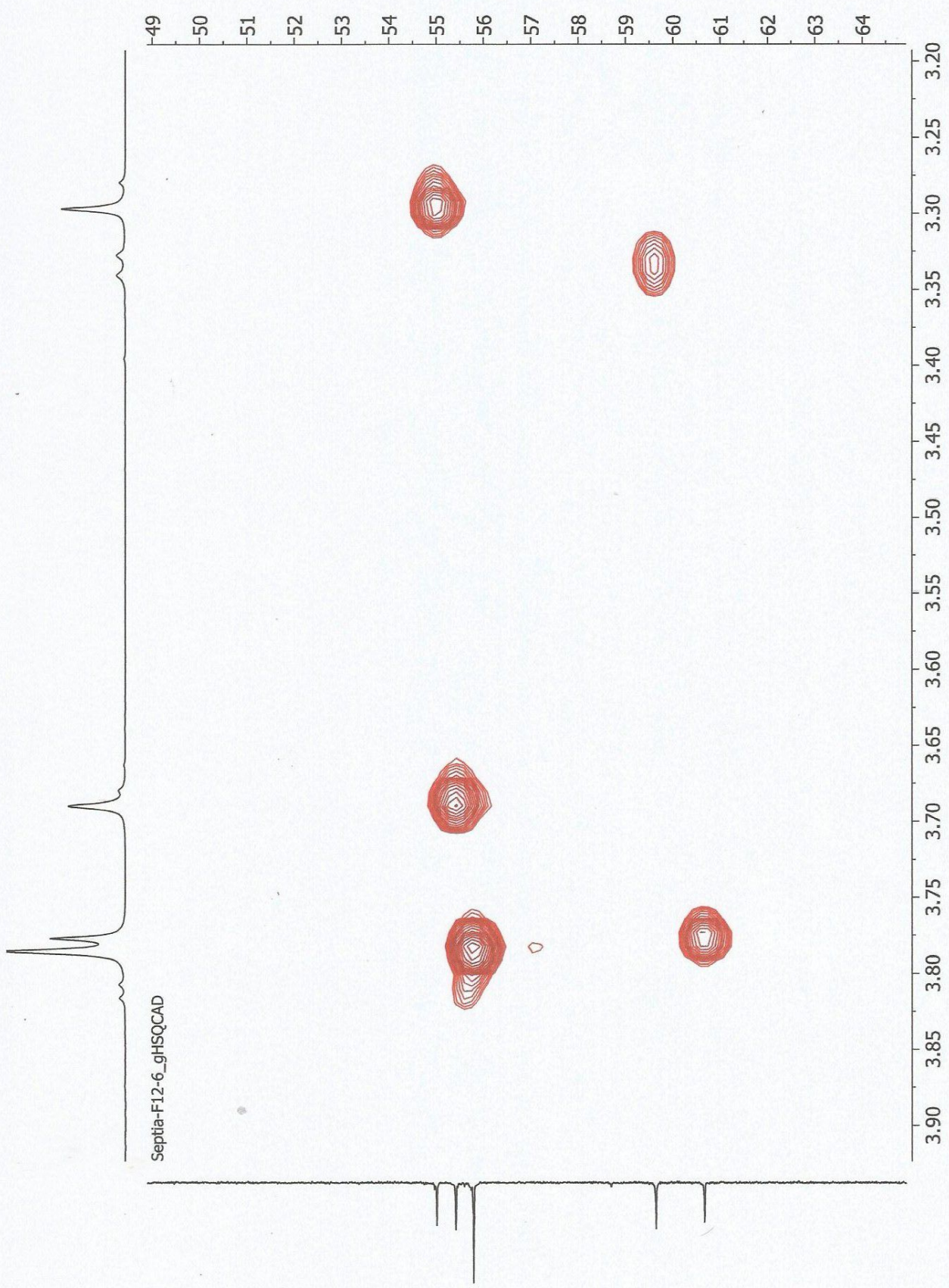




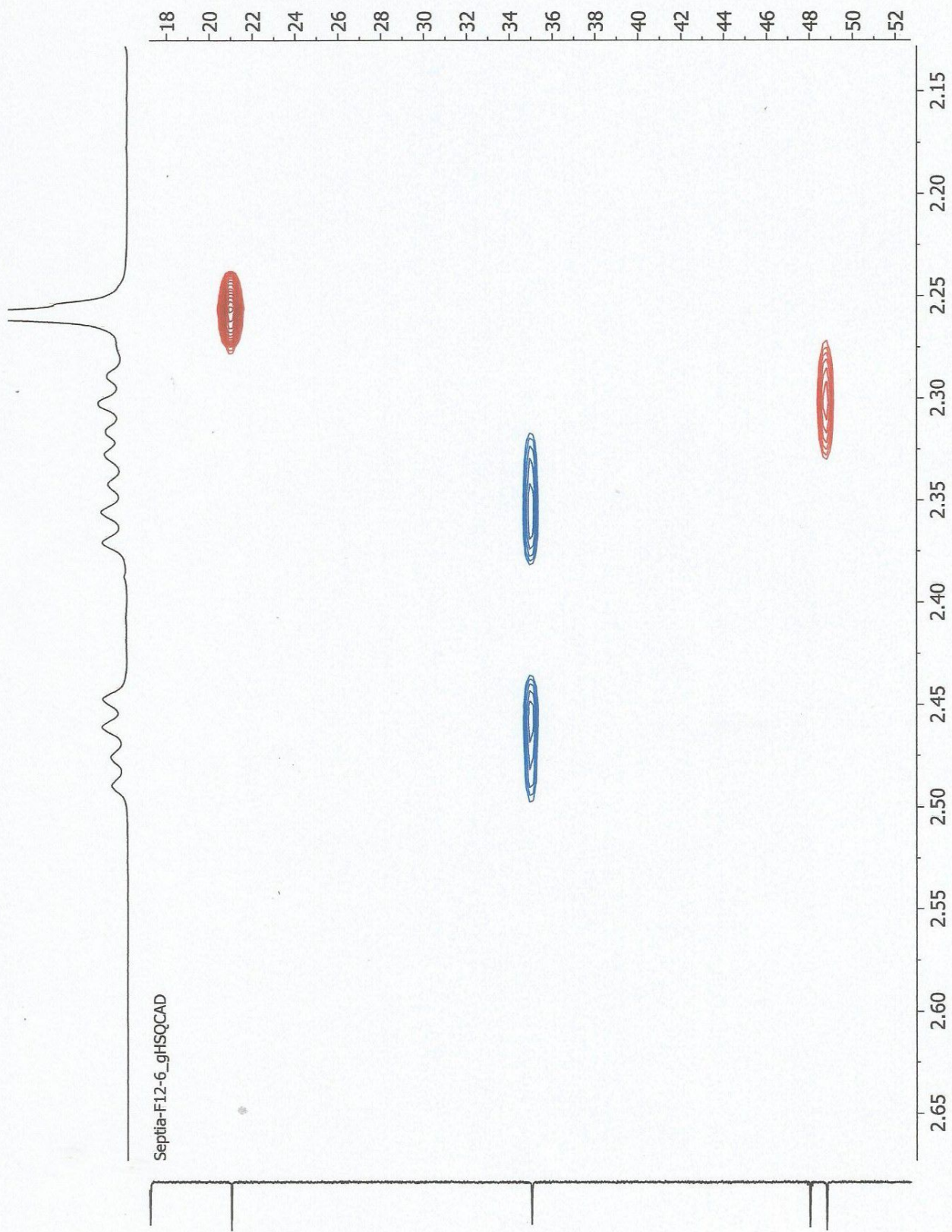
## Lampiran 19. Spektrum HSQC Senyawa III













## Lampiran 20. Spektrum HMBC Senyawa III

