

**UJI TOKSISITAS FRAKSI ETIL ASETAT KULIT KAYU BAWANG
HUTAN (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) TERHADAP MORTALITAS
LARVA UDANG *Artemia salina* Leach**

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



ASTRIANA PERTIWI

3425070190

PROGRAM STUDI BIOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2011

ABSTRAK

ASTRIANA PERTIWI. **Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Kulit Kayu Bawang Hutan (*Scorodocarpus borrensis* Becc.) Terhadap Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* Leach.** Skripsi. Jakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Jakarta. 2011.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh senyawa toksik dari fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach. Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai manfaat dan kahasiat dari kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borrensis* Becc.) terutama dalam bidang kesehatan dan dapat dijadikan sebagai dasar penelitian selanjutnya yang relevan. Penelitian ini berlangsung selama 3 bulan dari Februari – April 2011. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 3 perlakuan (konsentrasi 10 bpj, 100 bpj dan 1000 bpj) dan kontrol, baik perlakuan dan kontrol dibuat 5 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan, fraksi 3 hasil kromatografi kolom satu dan fraksi 5 hasil kromatografi kolom dua, memberikan efek toksisitas paling tinggi dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 35,35 bpj dan 28,11 bpj yang artinya bahwa zat yang terdapat pada fraksi 3 hasil kromatografi kolom satu dan fraksi 5 hasil kromatografi kolom dua dapat membunuh 50% dari populasi larva udang *Artemia salina* Leach. masing-masing pada konsentrasi 35,35 bpj dan 28,11 bpj.

Kata kunci : *Artemia salina* Leach., Fraksi etil asetat, LC_{50} , Toksisitas, *Scorodocarpus borrensis* Becc.

ABSTRACT

ASTRIANA PERTIWI. **Toxicity Assay of Ethyl Acetate Fraction in Kulim Tree Bark (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) on Mortality of *Artemia salina* Leach Larvae.** Undergraduate thesis. Jakarta: Mathematics and Science Faculty. State University of Jakarta. 2011.

This research aimed to assess the effect of toxic compound of ethyl acetate fraction in kulim tree bark on mortality of *Artemia salina* Leach larvae. This research is expected to be useful to publish the information about the benefits of kulim tree bark (*Scorodocarpus borrensis* Becc.) especially in medicine and this research could offer preliminary data for further relevant research. The research had lasted for three months (February-April 2011). Method used was experiment with fully randomized design. There were three different concentrations (10 ppm, 100 ppm and 1000 ppm) as the treatments and control. All treatment groups and control group had five replications each. The result showed that the highest toxicity level was shown by fraction three chromatography column one and fraction five chromatography column two with LC value 35.35 ppm and 28.11 ppm, respectively, which means that both concentrations could kill 50% of *Artemia salina* Leach larvae population.

Keywords: *Artemia salina* Leach., Ethyl acetat fraction, LC₅₀, toxicity, *Scorodocarpus borneensis* Becc.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat serta hidayah-Nya yang telah memberikan kekuatan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Kulit Kayu Bawang Hutan (*Scorodocarpus bornnensis* Becc.) Terhadap Mortalitas *Artemia salina* Leach.” Ini disusun untuk melengkapi syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari dalam menyelesaikan skripsi ini banyak pihak yang telah membantu memberikan bimbingan, bantuan, dukungan dan doa. Terima kasih penulis ucapkan kepada Papa dan Mama, Aa Adi, Dian dan Ajeng atas segala kasih sayang, doa, dukungan moral dan materialnya. Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dra. Supriyatin, M.Si sebagai Dosen Pembimbing I dan Ketua Program Studi Biologi yang telah banyak memberikan bimbingan, serta motivasi kepada penulis selama menempuh studi hingga penyelesaian skripsi ini.
2. Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc., APU selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan dukungan selama kegiatan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

3. Dr. Christiani M.Si selaku Dosen Penguji I yang telah banyak memberika saran serta nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Hanum Isfaeni, S.Pd., M.Si selaku Dosen Penguji II dan sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan serta masukan yang telah diberikan kepada penulis.
5. Seluruh staf Laboratorium Biofarmaka, Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI, Cibinong dan teman-teman di Universitas Pancasila yang telah memberikan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
6. Teman-Teman Biologi 2007 (khususnya Diaz Sari Pusparini dan Dessy Widyanita), teman-teman Biologi 2009 (tika, mae, wulan, erlandy dan mita) dan Muhammad Irvansyah atas semangat serta kebersamaannya. Keluarga Besar KSP *Macaca* UNJ atas segala kehangatan yang telah diberikan dan seluruh pihak yang belum disebutkan yang turut membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa sebagai manusia pasti memiliki kekurangan dan keterbatasan. Untuk itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun ke arah penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Jakarta, Juni 2011

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------------|
| ABSTRAK | i |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | v |
| DAFTAR GAMBAR | viii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang Masalah | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| D. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR DAN PERUMUSAN HIPOTESIS | |
| A. Kajian Pustaka | 4 |
| 1. Toksisitas | 4 |
| 2. Fraksi etil asetat | 5 |
| 3. Bawang Hutan (Scorodocarpus borneensis Becc.) | 9 |
| 4. Artemia salina Leach. | 11 |
| B. Kerangka Berpikir | 14 |
| C. Perumusan Hipotesis | 15 |

| | |
|--|-----------|
| 7. Hasil Analisis Fitokimia Fraksi yang Paling Aktif | 37 |
| B. Pembahasan | 38 |
| BAB V KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN | |
| A. Kesimpulan | 47 |
| B. Implikasi..... | 47 |
| C. Saran | 48 |
| DAFTAR PUSTAKA | 49 |
| LAMPIRAN | |
| SURAT KETERANGAN PENELITIAN | |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|----------------|
| Gambar 1. <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 10 |
| Gambar 2. Tahap penetasan <i>Artemia salina</i> Leach. | 13 |
| Gambar 3. Kromatografi lapis tipis hasil fraksinasi fase etil Asetat | 27 |
| Gambar 4. Grafik perhitungan LC50 hasil kromatografi kolom I | 29 |
| Gambar 5. Kromatografi lapis tipis hasil fraksinasi fraksi SbEA-3 | 32 |
| Gambar 6. Grafik perhitungan LC50 hasil kromatografi kolom II | 34 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|----------------|
| Tabel 1. Desain penelitian | 17 |
| Tabel 2. Hasil uji toksisitas fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 25 |
| Tabel 3. Hasil uji Anova satu arah fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 25 |
| Tabel 4. Hasil uji LSD fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 26 |
| Tabel 5. Hasil uji toksisitas fraksi hasil kromatografi kolom I | 28 |
| Tabel 6. Hasil uji Anova satu arah fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. kromatografi kolom I | 30 |
| Tabel 7. Hasil uji LSD fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. kromatografi kolom I | 31 |
| Tabel 8. Hasil uji Anova satu arah fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. kromatografi kolom II | 33 |
| Tabel 9. Hasil uji Anova satu arah fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. kromatografi kolom II | 35 |
| Tabel 10. Hasil uji LSD fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. kromatografi kolom II | 36 |
| Tabel 11. Hasil analisis fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 37 |
| Tabel 12. Hasil analisis fitokimia fraksi SbEA-3 dan fraksi SbEA-3.5 | 38 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|----------------|
| Lampiran 1. Gambar alat dan bahan penelitian | 53 |
| Lampiran 2. Skema kerja pembuatan ekstrak <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc | 55 |
| Lampiran 3. Skema kerja uji toksisitas dengan metode BSLT | 56 |
| Lampiran 4. Tabel hasil fraksinasi fase etil asetat dengan kromatografi kolom | 57 |
| Lampiran 5. Tabel hasil fraksinasi fraksi aktif SbEA-3 | 58 |
| Lampiran 6. Perhitungan LC ₅₀ fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 59 |
| Lampiran 7. Perhitungan LC ₅₀ fraksi etil asetat kromatografi kolom I | 60 |
| Lampiran 8. Perhitungan LC ₅₀ fraksi etil asetat kromatografi kolom II | 70 |
| Lampiran 9. Hasil uji anova fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 76 |
| Lampiran 10. Hasil uji anova fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. hasil kromatografi kolom I | 77 |
| Lampiran 11. Hasil uji anova fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. hasil kromatografi kolom II | 81 |
| Lampiran 12. Hasil uji LSD fase etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. | 84 |
| Lampiran 13. Hasil uji LSD fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. hasil kromatografi kolom I | 85 |
| Lampiran 14. Hasil uji LSD fraksi etil asetat <i>Scorodocarpus borneensis</i> Becc. hasil kromatografi kolom II | 89 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia adalah salah satu negara yang mempunyai kekayaan sumber daya alam hayati yang tinggi, dimana kekayaan tersebut sering dimanfaatkan oleh manusia, baik dari jenis fauna, flora maupun mikroorganismenya. Tumbuhan yang beraneka ragam merupakan salah satu ciri khas yang dimiliki oleh hutan tropis di Indonesia dan tumbuhan-tumbuhan tersebut memiliki banyak manfaat, diantaranya sering digunakan sebagai obat tradisional. Secara umum, penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional memiliki manfaat yang lebih baik apabila dibandingkan dengan penggunaan obat sintetis. Menurut Sugianti (2005), keuntungan penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional antara lain relatif lebih aman, mudah diperoleh, tidak menimbulkan resistensi, dan relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitarnya.

Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan adalah Bawang Hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.). Bawang Hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di hutan tropis Sumatera dan Kalimantan. Bagian dari tumbuhan ini banyak dimanfaatkan sebagai bumbu masak karena bau dan fungsinya mirip dengan bawang putih. Selain itu, sering digunakan sebagai obat tradisional, seperti sebagai obat antidiare. Buah dari

tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antifungi. Menurut Abe dan Yamauchi dalam daun bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) yang didapat dari hutan Sumatera mengandung beberapa jenis senyawa megastigma dan flavonoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kartika (1999), menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit kayu bawang hutan mengandung karbohidrat, saponin, steroid, flavonoid dan senyawa yang mengandung unsur sulfur. Senyawa-senyawa tersebut telah diketahui memiliki banyak khasiat dalam kesehatan maupun pengobatan.

Tumbuhan bawang hutan oleh penduduk Kalimantan dipercaya memiliki khasiat sebagai obat diare, obat cacing dan obat kanker. Khasiat tumbuhan ini sebagai obat kanker sangat penting untuk diteliti, mengingat obat kanker sintesis yang beredar dipasaran saat ini relatif mahal dan mempunyai efek samping yang besar. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rinawati (2010), menunjukkan bahwa fase etil asetat kulit kayu bawang hutan bersifat toksik atau aktif, akan tetapi dari penelitian tersebut belum diketahui berapa banyak fraksi yang dihasilkan dari fase etil asetat kulit kayu bawang hutan dan apakah fraksi-fraksi tersebut bersifat toksik atau tidak. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji toksisitas fraksi-fraksi yang dihasilkan dari fase etil asetat dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dengan hewan ujinya adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Penggunaan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai indikator toksisitas yang berpotensi sebagai

obat anti kanker dapat dilihat dari masa perkembangan larva yang disebut sebagai fase nauplius. Pada saat fase nauplius itu, *Artemia salina* Leach aktif membelah secara mitosis, sehingga fase tersebut identik dengan fase pembelahan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. Oleh karena itu, hasil uji toksisitas dengan metode BSLT memiliki korelasi dengan potensinya sebagai senyawa antikanker (Meyer, 1982).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dalam penelitian ini dapat dirumuskan masalah sebagai berikut “Apakah fraksi etil asetat dari kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) bersifat toksik terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach?”

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh senyawa toksik dari fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai manfaat dan khasiat dari kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) terutama dalam bidang kesehatan.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR DAN PERUMUSAN HIPOTESIS

A. Kajian Pustaka

1. Toksisitas

Dalam pengertian secara umum, toksisitas dapat didefinisikan sebagai kemampuan suatu bahan untuk memberikan efek racun terhadap suatu organisme hidup (Wisaksono, 2002) sedangkan menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) toksisitas adalah kemampuan suatu zat atau bahan yang mengakibatkan ketidaknyamanan, kesakitan atau kematian pada manusia atau binatang. Studi mengenai toksisitas suatu bahan kimia dapat dilakukan dengan mempelajari efek-efek dari:

- a. Pemaparan bahan kimia terhadap binatang percobaan,
- b. Pemaparan bahan kimia organisme tingkat rendah seperti bakteri dan kultur sel-sel dari mamalia di laboratorium, dan
- c. Pemaparan bahan kimia terhadap manusia.

Pengujian toksisitas suatu senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. BSLT merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan ketoksikan dari suatu fraksi dan sering digunakan untuk memantau adanya aktifitas farmakologi (terutama antikanker) dari suatu fraksi

tumbuhan. Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker (Meyer, 1982).

Parameter yang digunakan pada metode ini adalah kematian larva udang tersebut. Menurut Meyer (1982), toksisitas suatu senyawa dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} , yaitu senyawa yang memberikan tingkat mortalitas sebesar 50%. Kriteria ketoksikan untuk harga LC_{50} dibedakan menjadi:

- a. Toksik ($LC_{50} \leq 1000$ bpj)
- b. Tidak toksik ($LC_{50} \geq 1000$ bpj)

2. Fraksi Etil Asetat

Fraksi etil asetat merupakan bentuk sederhana dari ekstrak etil asetat, yang didapat melalui proses fraksinasi atau pemurnian dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Ekstrak itu sendiri, merupakan sediaan yang diperoleh dari bahan alami baik dari jaringan hewan maupun tumbuhan dengan menarik senyawa kimia yang aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian memekatkannya hingga tahap tertentu (Harbone, 1996). Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ragam ekstraksi tergantung pada jenis dan kandungan senyawa yang diisolasi (Gritter, 1991).

Menurut Harborne (1987) ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai macam metode. Metode-metode yang umum digunakan, antara lain:

a. Refluks

Refluks adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan.

b. Sokslet

Sokslet adalah proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru. Biasanya menggunakan seperangkat alat khusus sehingga terjadi ekstraksi yang kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengaduk kontinyu) pada suhu yang relatif lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu 40–50 °C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, dengan suhu 96-98 °C selama ± 15-20 menit).

e. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan.

f. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses perkolasi terdiri atas, pengembangan bahan, tahap maserasi antara dan tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak).

Untuk mendapatkan suatu senyawa murni dari suatu ekstrak atau yang sering disebut dengan suatu fraksi maka harus dilakukan sebuah mekanisme fraksinasi atau pemurnian dengan menggunakan kromatografi. Kromatografi berasal dari bahasa Yunani “kromatos” yang berarti warna dan “graphos” yang berarti menulis, jadi kromatografi adalah proses pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi difererensiasi dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Ada beberapa jenis kromatografi, yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada kromatografi lapis tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata, umumnya digunakan lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorbs partisi tergantung dari jenis zat penyangga dan jenis pelarut yang digunakan.

Cara kerja yang digunakan dalam KLT, yaitu melarutkan campuran yang telah dipisahkan dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan ditotolkan berupa bercak dengan pipa kapiler di dekat tepi lempeng yang sudah ditandai dengan pensil bercak, kemudian lempeng dimasukkan ke dalam bejana yang berisi fase gerak dan ditutup rapat. Fase gerak dibiarkan merambat sampai batas rambat, lempeng diangkat dan dikeringkan.

Selama perjalanan dari titik penotolan sampai batas rambat terjadi pemisahan dari campuran zat yang disebabkan oleh perbedaan sifat zat-zat tersebut. Pemisahan dianggap berhasil apabila zat terpisah satu sama lain sepanjang lapis bahan penyerap. Letak bercak dapat ditetapkan dengan pengamatan langsung jika senyawa tampak pada cahaya biasa, cahaya Ultraviolet (UV) gelombang pendek (254 nm), atau gelombang panjang (366 nm). Jika senyawa tidak tampak maka harus disemprot dengan pereaksi penampak bercak dan dipanaskan di dalam oven atau *hot plate* pada suhu yang sesuai kemudian diamati pada cahaya biasa atau cahaya UV.

Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam proses pemisahan, antara lain:

1) Fase Diam

Fase diam dikenal juga sebagai penjerap. Fase diam yang paling banyak digunakan adalah silika gel. Silika gel menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada cara pembuatannya sehingga silika gel yang dibuat oleh perusahaan G Merck menurut spesifikasi Stahl telah diterima sebagai bahan standar karena silika gel tersebut memiliki derajat keaktifan yang tinggi terhadap fase gerak yang digunakan (Stahl, 1995).

2) Fase Gerak

Fase gerak adalah medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa bahan pelarut. Pelarut yang digunakan sebagai fase gerak

harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (Harborne, 1987).

b. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan kromatografi cair yang menggunakan kolom untuk memisahkan komponen senyawa menjadi fraksi-fraksi (Lampiran 1). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan pada bagian atas kolom penjerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam atau plastik, pelarut (fase gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa pelarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah, dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari alas kolom. Kecepatan bergerak zat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti daya absorpsi zat penjerap, ukuran partikel dan luas permukaan, sifat dan polaritas pelarut, tekanan yang digunakan, dan suhu dari sistem kromatografi (Sudjaji, 1988).

3. Bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.)

Bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) termasuk ke dalam suku Olacaceae, dengan sinonim *Ximenia borneensis* Baillon. Daun bawang hutan selalu berwarna hijau sepanjang tahun, memiliki tinggi sekitar 40-60 meter dan semua bagian bawang hutan memiliki aroma seperti bawang putih.

Permukaan kulit kayu bawang hutan memiliki retakan yang tidak terlalu dalam dan mengelupas menyerupai bentuk persegi dengan warna coklat keabuan hingga merah gelap kecoklatan. Kulit kayu sebelah dalam berserat, berwarna merah keunguan, dengan bintik-bintik jingga disebelah dalam.



Gambar 1. Tumbuhan Bawang Hutan
Sumber: http://kulimkia.com/kulim_pics/kulim_tree7.JPG

Bawang hutan tersebar di hutan hujan tropis dengan ketinggian 600-900 dpl, terutama di Semenanjung Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatra dan Borneo. Menurut Rudi (1999), di dalam ekstrak daun bawang hutan terdapat flavonoid dan buahnya sendiri mengandung senyawa megastigma yang nama kimianya adalah metal tiometil (metal sulfonil) metal disulfide sedangkan pada ekstrak kulit kayu bawang hutan mengandung karbohidrat, saponin, steroid, flavonoid dan senyawa bioaktif

yang mengandung sulfur. Disamping itu, kulit kayu bawang hutan memiliki khasiat sebagai sudorik, antimikrobal, diuretik dan emetik (Chua, 1998).

4. *Artemia salina* Leach

Artemia merupakan pakan alami yang sering digunakan sebagai pakan larva organisme budidaya. Sistem klasifikasi *Artemia* menurut Barnes (1963) adalah sebagai berikut:

Filum : Arthropoda
Kelas : Crustacea
Sub kelas : Branchiopoda
Bangsa : Anostraca
Suku : Artemidae
Marga : *Artemia*
Jenis : *Artemia salina* Leach

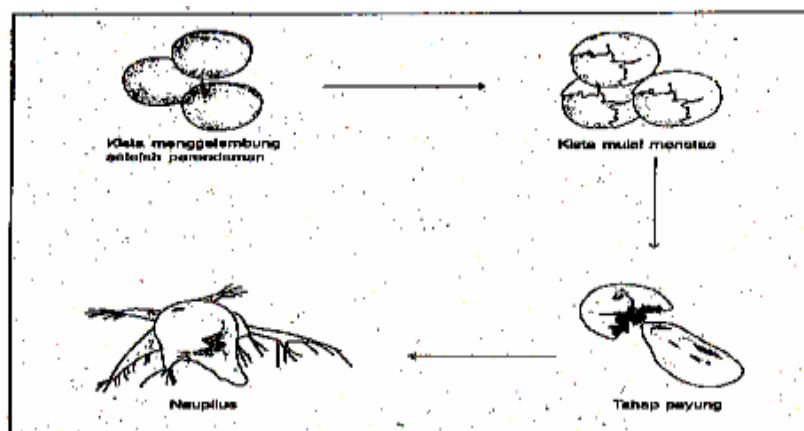
Artemia banyak ditemukan di danau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi sehingga disebut juga dengan *brine shrimp*. Untuk pertumbuhan biomassa *Artemia* yang baik membutuhkan kadar garam antara 30-50 permil pada kisaran suhu 25 – 30 °C (Isnansityo, 1995) dengan pH air yang netral atau sedikit basa berkisar antara 7,5 – 8,5 (Mudjiman, 1989). *Artemia* juga termasuk hewan *euroksibion* yaitu hewan yang mempunyai kisaran toleransi yang luas akan kandungan oksigen bahkan pada kandungan oksigen 1 mg/l masih dapat bertahan hidup. Sebaliknya, pada kandungan oksigen terlarut yang tinggi sampai kejenuhan 150% *Artemia* masih mampu bertahan hidup, sedangkan

kandungan oksigen yang baik untuk pertumbuhan *Artemia* adalah diatas 3 mg/L. Selain itu, *Artemia* juga masih bertahan hidup pada kandungan ammonia yang tinggi hingga 90 mg/l (Isnansyio, 1995).

Menurut cara reproduksinya *Artemia* dibagi menjadi dua, yaitu *Artemia* yang bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenetik. Reproduksi secara biseksual terjadi dengan pembuahan dan partenogenetik terjadi tanpa pembuahan. Perkembangbiakan secara biseksual maupun partenogenetik dapat terjadi secara ovovivipar dan ovipar tergantung kondisi lingkungan terutama salinitas. Pada ovovivipar yang dihasilkan induk adalah anak yang disebut nauplius dan biasa terjadi pada kondisi lingkungan yang cukup baik. Sedangkan dengan cara ovipar yang dihasilkan induk adalah berupa telur yang bercangkang tebal yang disebut siste dan biasa terjadi bila kondisi lingkungan memburuk (Isnansyio, 1995).

Artemia bersifat pemakan segala atau omnivora. *Artemia* dalam mengambil makanan bersifat penyaring tidak selektif (*non-selective filter feeder*), sehingga apa saja yang dapat masuk mulut *Artemia* menjadi makanannya (Isnansyio, 1995). *Artemia* dapat memakan makanan dengan ukuran makanannya sampai 50 mikron. Di perairan alam, yang menjadi makanan *Artemia* antara lain detritus bahan organik (sisa-sisa jasad hidup), ganggang-ganggang renik (ganggang hijau, ganggang biru, dan ganggang merah), diatome, bakteri dan cendawan (ragi laut) (Mudjiman, 1989).

Artemia yang baru menetas disebut juga dengan nauplius. Nauplius berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang 400 mikron dan lebar 170 mikron (Isnansetyo, 1995) sedangkan *Artemia* dewasa hampir menyerupai udang kecil dengan ukuran 10 – 20 mm (Harefa, 2003). Telur *Artemia* akan menetas setelah diaerasi selama 20 jam, nauplius tersebut mempunyai bagian tubuh berwarna kuning kecoklatan, sepasang mata berwarna merah terletak disekitar kepala, dan 3 pasang apendiks, antenna I (berfungsi sebagai sensor), antenna II (sebagai alat gerak dan penyaring makanan). Nauplius *Artemia* yang baru menetas akan memasuki fase instar I. Pada fase ini nauplius *Artemia* aktif membelah secara mitosis dan pada fase tersebut sistem pencernaan nauplius *Artemia* belum berkembang sempurna sehingga makanan masih berasal dari kuning telur. Setelah 8 jam nauplius akan berkembang menjadi fase instar II dan pada fase ini nauplius sudah dapat menyaring makan yang berukuran 1- 50 mikron (Strotup dan Lesley, 2003).



Gambar 2. Tahap penetasan *Artemia salina* Leach (Isnansetyo, 1995)

Nauplius *Artemia* memiliki kandungan gizi yang tinggi. Menurut Garcia-Otega (1998) dalam Strottup dan Lesley (2003) hasil proksimat naupli *Artemia* mengandung 56,2% protein, 17,0% lemak, 3,6% karbohidrat, 0% serat kasar dan 7,6% abu. Kandungan protein yang tinggi menyebabkan *Artemia* digunakan sebagai pakan alami yang sulit digantikan dengan pakan yang lain.

B. Kerangka Berpikir

Bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional, seperti obat diare, obat cacing dan obat kanker. Disamping itu, dapat juga dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antifungi. Khasiat tumbuhan ini sebagai obat kanker sangatlah penting, meskipun usaha pengobatan kanker secara intensif telah dilakukan, namun hingga kini belum ditemukan obat yang dapat mengatasi penyakit tersebut secara memuaskan. Hal ini disebabkan karena rendahnya selektifitas obat-obat antikanker yang digunakan atau patogenasi antikanker tersebut yang belum jelas. Oleh karena itu, dilakukan penelitian terhadap obat-obatan tradisional dalam hal ini bawang hutan mengingat bawang hutan ini dipercaya oleh masyarakat dapat dimanfaatkan sebagai obat kanker.

Skrining awal untuk menguji bahan-bahan yang diduga dapat dimanfaatkan sebagai antikanker adalah dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini sering digunakan sebagai

skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan, karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya.

C. Perumusan Hipotesis

Perumusan hipotesis penelitian ini adalah fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) bersifat toksik terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tujuan Operasional

Tujuan operasional penelitian ini adalah:

Menguji daya toksisitas fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) terhadap larva udang *Artemia salina* dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Letality Test* (BSLT) dengan cara menghitung banyaknya jumlah larva udang yang mati.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioproses IV (Bahan Alami), Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI yang berlokasi di Jalan Raya Bogor Km 46 Cibinong 16911 Bogor, Jawa Barat. Penelitian berlangsung selama 3 bulan dari Februari – April 2011.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali yang didasarkan pada rumus:

$$\begin{array}{rcl} t(n-1) & > & 15 \\ 4(n-1) & > & 15 \\ n & > & 4,75 \end{array}$$

Variabel bebas adalah konsentrasi fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) sedangkan variabel terikat adalah mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach.

Tabel 1. Desain penelitian yang akan digunakan dalam penelitian

| | | | |
|---------|---------|---------|---------|
| L2K2IV | L1K1III | L2K2II | L4K4IV |
| L2K2III | L3K3IV | L5K5I | L4K4III |
| L1K1IV | L1K1I | L4K4II | L3K3II |
| L5K5IV | L5K5II | L3K3III | L2K2I |
| L1K1II | L4K4I | L5K5III | L3K3I |

D. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian, antara lain alat-alat gelas, refluks, timbangan analitik, spatula, pinset, sanikator, bejana kromatografi (Chamber), silika gel GF₂₅₄, statif, tabung vial, alat penyemprot bercak, buret 50 mL, penangas air, rotavapor, pipa kapiler penotol KLT, pompa vakum (A-35), aerator dan pendingin.

Bahan-bahan yang digunakan, adalah ekstrak metanol kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) fraksi etil asetat hasil, celite 545, aquadest, metanol pro analisis, etil asetat, *n*-heksan, metanol, serum (IV) sulfat, natrium klorida, telur *Artemia salina* Leach, kapas, dan Sea sand B.

2. Cara Kerja

a. Ekstraksi dan Partisi

Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang ± 2 kg serbuk simplisia kulit kayu bawang hutan, kemudian dimaserasi dengan

menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan vacuum rotavapor sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol yang telah didapatkan kemudian dipartisi dengan menggunakan etil asetat : air (1:1), sehingga diperoleh fase etil asetat kental.

b. Uji toksisitas fase etil asetat dengan metode BSLT

1). Persiapan Larva udang *Artemia salina* Leach

Pembuatan air laut sintetik dengan cara melarutkan NaCl sebanyak 38 gram dalam 1 liter aquades yang dimasukkan ke dalam wadah kecil (akuarium) yang telah dibagi menjadi dua ruangan dengan menggunakan sekat. Kemudian mengambil sejumlah tertentu telur udang *Artemia salina* Leach., masukkan ke dalam salah satu ruang, kemudian bagian ruang tersebut ditutup. Sisi yang lain dibiarkan terbuka dan aerasi serta beri lampu 15-20 watt untuk menarik larva udang yang telah menetas melalui lubang sekat, sehingga larva udang terpisah dari bagian telur atau kulit telur. Setelah 48 jam, larva udang yang disebut nauplius siap digunakan untuk penelitian.

2). Pembuatan larutan induk

Membuat larutan induk dengan menimbang sebanyak ± 60 mg sampel, kemudian dimasukkan ke dalam botol dan dilarutkan dengan 30 mL air laut, sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 2000 bpj.

3). Pembuatan larutan uji

Pipet larutan induk sebanyak 3 mL dan ditambahkan air laut hingga 30 mL untuk membuat larutan dengan konsentrasi 200 bpj dan pipet sebanyak 3 mL dari larutan dengan konsentrasi 200 bpj serta tambahkan air laut hingga 30 mL untuk membuat larutan dengan konsentrasi 20 bpj. Setiap konsentrasi yang telah dibuat, dipipet sebanyak 5 mL dan ditambahkan air laut hingga 10 mL untuk membuat larutan dengan konsentrasi 1000 bpj, 100 bpj dan 10 bpj. Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 5 kali pengulangan.

4). Uji toksisitas

Larutan uji dengan berbagai konsentrasi yang telah dibuat, dimasukkan ke dalam vial kemudian masukkan 10 ekor larva udang dan aduk perlahan sampai homogen. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam, dengan cara menghitung jumlah larva udang yang mati dalam tiap-tiap konsentrasi, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kontrol. Larutan kontrol terdiri atas 10 mL air laut yang ditambahkan 10 ekor larva udang. Bila dalam larutan kontrol terdapat larva udang yang mati, maka jumlah larva udang yang mati pada tiap-tiap konsentrasi larutan uji dikurangi dengan jumlah larva udang yang mati pada larutan kontrol.

5). Perhitungan LC₅₀

Nilai LC₅₀ yaitu konsentrasi zat uji yang menyebabkan mortalitas sebanyak 50% dari total populasi larva udang. Fase etil asetat dengan nilai LC₅₀ ≤ 1000 bpj, maka dikatakan aktif dan memiliki potensi untuk

diteliti lebih lanjut. Untuk mengetahui besarnya nilai LC_{50} , maka digunakan analisis probit dengan menggunakan program statistika SPSS versi 17.

c. Fraksinasi fase etil asetat dengan kromatografi kolom

Fase etil asetat difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dan fase gerak *n*-heksan : etil asetat dengan perbandingan 50 : 1 ~ 1 : 1. Fraksinasi ini bertujuan untuk mengelompokkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam fase etil asetat berdasarkan kepolarannya. Langkah-langkah kromatografi kolom, yaitu dengan cara memasang buret yang telah dibersihkan secara tegak lurus pada statif, kemudian dibilas dengan fase gerak (eluen) yang akan digunakan, lalu dikeringkan. Dasar kolom diberi kapas dan pasir kuarsa (*sea sand B*), selanjutnya diisi dengan silika gel 60.

Sebanyak 20,41 g fase etil asetat yang telah dikeringkan digerus dengan celite 545 sampai homogen, kemudian dimasukkan perlahan ke dalam kolom. Cairan eluasi yang digunakan dituang sedikit demi sedikit ke dalam kolom. Eluat-eluat yang diperoleh ditampung dengan tabung vial dan diuapkan. Eluat berhenti ditampung sampai bercak kromatografi tidak muncul lagi pada analisis KLT. Fraksi yang telah dianalisis dengan KLT apabila memiliki pola bercak yang sama maka fraksi tersebut digabung sehingga diperoleh fraksi yang lebih sederhana.

d. Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom I

Uji toksisitas dilakukan kembali pada fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom I. Cara kerja dari uji toksisitas ini sama dengan tahap sebelumnya, yaitu pada point b dan skema kerja lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

e. Fraksinasi Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom I

Tahap fraksinasi pada fraksi etil asetat sama seperti pada tahap fraksinasi fase etil asetat, yaitu pada point c.

f. Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom II

Tahap uji toksisitas pada fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom II sama seperti pada tahap sebelumnya, yaitu pada point b maupun point d.

g. Analisis fitokimia fraksi yang paling aktif

1). Pengujian flavonoid

Sebanyak 1 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang ditambahkan 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit. Setelah dididihkan ditambahkan 0,5 gram Mg dan 10 tetes HCl lalu kocok perlahan. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga atau ungu (Harborne, 1996).

2). Pengujian steroid atau triterpenoid

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform kemudian larutan ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 3 tetes asam sulfat pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Uji positif pada steroid ditandai dengan terbentuknya hijau atau biru sedangkan uji positif pada triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau ungu (Harborne, 1996).

E. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini adalah dengan menghitung banyaknya larva udang yang mati dari masing-masing konsentrasi. Setelah mendapatkan data banyaknya larva udang yang mati, kemudian dihitung besarnya LC_{50} dari masing-masing konsentrasi tersebut dengan menggunakan analisis probit. Fraksi yang paling aktif kemudian dianalisis kandungan senyawa metabolit sekundernya dengan menggunakan analisis fitokimia.

F. Hipotesis Statistik

$$H_0 : \mu A = \mu B = \mu C = \mu D$$

$$H_1 : \mu A \neq \mu B \neq \mu C \neq \mu D$$

Keterangan:

H_0 = di antara perlakuan tidak ada perbedaan

H_1 = di antara perlakuan ada perbedaan

μA = rata-rata jumlah larva udang yang mati pada kontrol

μ_B = rata-rata jumlah larva udang yang mati pada konsentrasi 10 bpj

μ_C = rata-rata jumlah larva udang yang mati pada konsentrasi 100 bpj

μ_D = rata-rata jumlah larva udang yang mati pada konsentrasi 1000 bpj

G. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah pada $\alpha = 5\%$ dan $\alpha = 1\%$. Apabila hasil ANOVA signifikan maka diuji dengan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significant Difference*) pada program SPSS versi 17.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Ekstraksi dan partisi

Sebanyak 2 kg serbuk simplisia kulit kayu bawang hutan dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol, pada suhu kamar selama 1x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotavapor. Hasil ekstraksi didapatkan 300 ml ekstrak kental metanol yang berwarna hitam kecoklatan.

Ekstrak kental metanol yang telah didapatkan kemudian dipartisi dengan menggunakan etil asetat : air (1:1). Proses partisi dengan menggunakan etil asetat : air bertujuan untuk memisahkan senyawa kimia berdasarkan kepolarannya (nonpolar - polar), sehingga senyawa yang bersifat polar tersebut nantinya akan masuk ke dalam fase air sedangkan senyawa nonpolar sampai semipolar sendiri masuk ke dalam fase etil asetat. Fase etil asetat yang terbentuk dipisahkan dengan menggunakan corong pisah kemudian dipekatkan dengan *vacum rotavapor* sehingga diperoleh fase etil asetat kental sebanyak 22,63 gram yang berwarna coklat kehitaman.

2. Uji Toksisitas Fase Etil Asetat dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil Uji toksisitas fase etil asetat kulit kayu bawang hutan dengan metode BSLT dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji toksisitas fase etil asetat kulit kayu bawang hutan dengan metode BSLT

| Sampel | Konsentrasi (bpj) | Jumlah larva udang yang mati | | | | | Rata-rata | LC ₅₀ (bpj) |
|--------|-------------------|------------------------------|----|-----|----|----|-----------|------------------------|
| | | Replikasi | | | | | | |
| | | I | II | III | IV | V | | |
| SbEA | 10 | 6 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4,6 | 32,60 |
| | 100 | 10 | 9 | 10 | 9 | 10 | 9,6 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Berdasarkan hasil perhitungan analisis probit dengan menggunakan SPSS versi 17, maka nilai LC₅₀ dari fase etil asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA) adalah 32,60 bpj (Lampiran 6). Suatu ekstrak dikatakan aktif atau toksik apabila nilai LC₅₀ ≤ 1000 bpj (Mayer, 1982). Oleh Karena itu, fase etil asetat kulit kayu bawang hutan dikatakan aktif, maka dilakukan fraksinasi (pemurnian) terhadap fase tersebut.

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan secara nyata atau tidak antara masing-masing konsentrasi dengan kontrol, maka dilakukanlah uji hipotesis dengan menggunakan anova satu arah. Hasil perhitungan anova dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji anova satu arah fase etil asetat kulit kayu bawang hutan

| Sumber Variasi | DF | SS | MS | F | | |
|----------------|----|--------|--------|--------|----------|----------|
| | | | | Hitung | Tabel 5% | Tabel 1% |
| Perlakuan | 3 | 334,55 | 111,51 | 405,52 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 4,40 | 0,27 | | | |
| Total | 19 | 338,95 | | | | |

Keterangan **: menunjukkan sangat signifikan

Berdasarkan Uji *Analysis of Variance* (ANOVA), dapat diketahui bahwa nilai F_{hitung} 405,52 > F_{tabel}, baik pada α 5% maupun pada α 1%

maka tolak H_0 pada α 5% dan 1% artinya terdapat pengaruh yang sangat signifikan antara berbagai konsentrasi terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan hasil yang sangat signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Uji LSD bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian konsentrasi masing-masing fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan berpengaruh secara signifikan terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Tabel 4. Hasil uji *Least Significant Difference* (LSD) fase etil asetat kulit kayu bawang hutan

| Konsentrasi Fraksi (bpj) | Rata-rata (Mean) \pm SD |
|--------------------------|-------------------------------|
| 0 | 0,00 ^C \pm 0,00 |
| 10 | 4,60 ^B \pm 0,89 |
| 100 | 9,60 ^A \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |

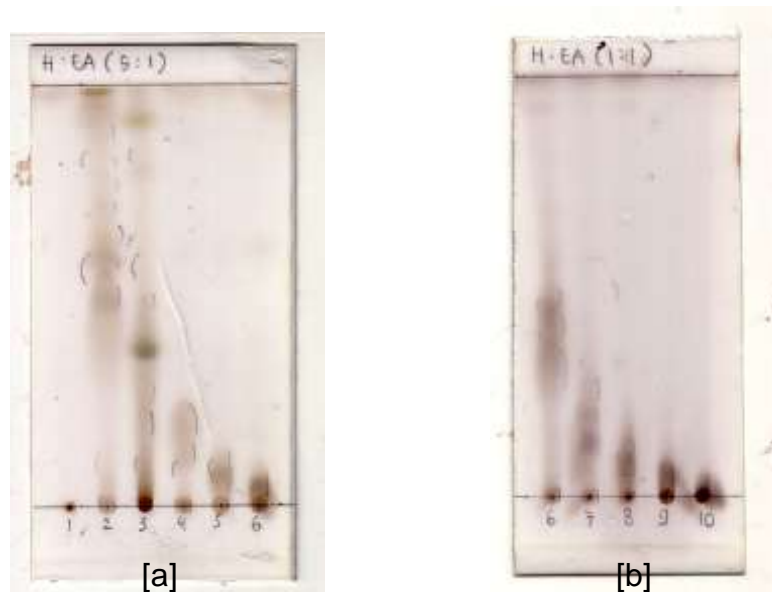
Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Berdasarkan hasil Uji *Least Significant Difference* (LSD) dapat dilihat bahwa konsentrasi 10 bpj, 100 bpj dan 1000 bpj secara umum menunjukkan perbedaan yang signifikan, kecuali antara konsentrasi 100 bpj dengan konsentrasi 1000 bpj tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

3. Fraksinasi Fase Etil Asetat Dengan Kromatografi Kolom

Sebanyak 20,41 g fase etil asetat kulit kayu bawang hutan difraksinasi dengan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 mesh (0,0063 mm – 0,200 mm) dengan fase gerak *n*-heksan-etil asetat secara gradient dari 50:1 sampai 1:1. Hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom diperoleh 123 fraksi, kemudian setiap fraksi

diuapkan dan dianalisis dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola bercak yang sama digabung sehingga diperoleh 10 fraksi. Hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom dapat dilihat pada Lampiran 4 dan kromatografi lapis tipisnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram lapis tipis hasil fraksinasi fase etil asetat dengan kromatografi kolom

Keterangan :

Fase gerak : [a] Fraksi 1-6 = *n*-heksan-etil asetat (5:1)
 [b] Fraksi 6-10 = *n*-heksan-etil asetat (1:1)

Fase diam : Silika gel GF₂₅₄

Pereaksi semprot : Serum sulfat 1%

Jarak rambat : 5,5 cm

Setelah disemprot, lempeng dipanaskan di atas *hot plate* sampai timbul bercak.

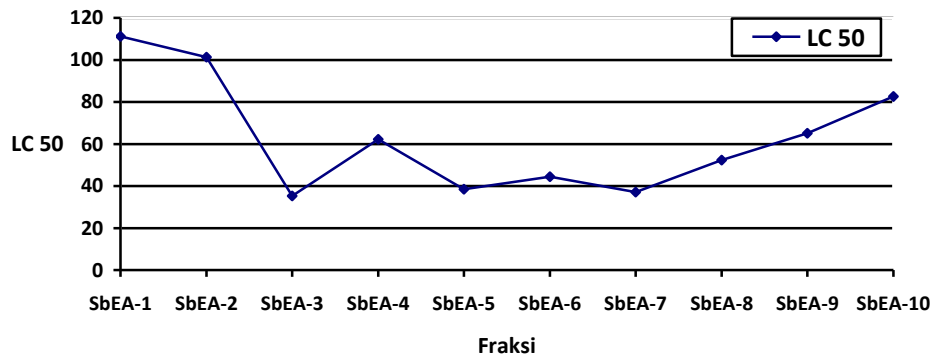
4. Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom I dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap fraksi hasil kromatografi kolom I (10 fraksi) ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji toksisitas fraksi hasil kromatografi kolom I dengan metode BSLT

| Sampel | Konsentrasi (bpj) | Jumlah larva udang yang mati | | | | | Rata-rata | LC ₅₀ (bpj) |
|---------|-------------------|------------------------------|----|-----|----|----|-----------|------------------------|
| | | Replikasi | | | | | | |
| | | I | II | III | IV | V | | |
| SbEA-1 | 10 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,8 | 111,24 |
| | 100 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4,2 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-2 | 10 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2,4 | 101,26 |
| | 100 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 4,8 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3 | 10 | 6 | 7 | 6 | 7 | 6 | 6,4 | 35,35 |
| | 100 | 8 | 8 | 9 | 8 | 9 | 8,4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-4 | 10 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3,6 | 62,19 |
| | 100 | 8 | 6 | 8 | 8 | 6 | 7,2 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-5 | 10 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4,4 | 38,44 |
| | 100 | 9 | 9 | 10 | 9 | 9 | 9,2 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-6 | 10 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 | 44,44 |
| | 100 | 8 | 8 | 10 | 10 | 8 | 8,8 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-7 | 10 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3,6 | 37,18 |
| | 100 | 9 | 10 | 9 | 10 | 9 | 9,4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-8 | 10 | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3,2 | 52,30 |
| | 100 | 7 | 9 | 8 | 9 | 9 | 8,4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-9 | 10 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2,6 | 65,03 |
| | 100 | 8 | 7 | 8 | 7 | 7 | 7,4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-10 | 10 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0,4 | 82,51 |
| | 100 | 8 | 8 | 5 | 5 | 8 | 6,8 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Berdasarkan Tabel 5, harga LC_{50} dari fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom I, dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 4 berikut.



Gambar 4. Grafik hasil perhitungan LC_{50} dengan menggunakan analisis probit

Berdasarkan hasil perhitungan analisis probit dengan menggunakan SPSS versi 17 (Lampiran 7), maka nilai LC_{50} dari fraksi etil asetat yang di dapat dari hasil kromatografi kolom I adalah seperti yang tertera pada Tabel 5. Nilai LC_{50} yang telah di dapat dituangkan ke dalam bentuk grafik, seperti pada Gambar 4. Sehingga diperoleh bahwa fraksi 3 memiliki nilai LC_{50} sebesar 35,35 bpj. Suatu senyawa dikatakan aktif apabila memiliki nilai $LC_{50} \leq 50$ bpj, maka dari itu di ambillah fraksi 3 (SbEA-3) sebagai fraksi yang paling aktif atau bersifat toksik.

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan secara nyata atau tidak antara masing-masing konsentrasi dengan kontrol, maka dilakukanlah uji hipotesis dengan menggunakan anova satu arah. Hasil perhitungan anova dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji anova satu arah fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan kromatografi kolom I

| Fraksi SbEA-1 | | | | | | |
|----------------|----|--------|--------|---------|----------|----------|
| Sumber Variasi | DF | SS | MS | F | | |
| | | | | Hitung | Tabel 5% | Tabel 1% |
| Perlakuan | 3 | 310,15 | 103,38 | 1033,83 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 1,60 | 0,10 | | | |
| Total | 19 | 311,75 | | | | |
| Fraksi SbEA-2 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 274,20 | 91,40 | 731,20 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,00 | 0,12 | | | |
| Total | 19 | 276,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-3 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 288,80 | 96,26 | 641,78 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 0,15 | | | |
| Total | 19 | 291,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-4 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 283,20 | 94,40 | 251,73 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 6,00 | 0,38 | | | |
| Total | 19 | 289,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-5 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 323,80 | 107,93 | 863,47 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,00 | 0,12 | | | |
| Total | 19 | 325,80 | | | | |
| Fraksi SbEA-6 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 317,40 | 105,80 | 248,94 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 6,80 | 0,42 | | | |
| Total | 19 | 324,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-7 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 345,35 | 115,12 | 767,44 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 1,15 | | | |
| Total | 19 | 347,75 | | | | |
| Fraksi SbEA-8 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 320,80 | 106,93 | 285,16 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 6,00 | 0,38 | | | |
| Total | 19 | 326,80 | | | | |
| Fraksi SbEA-9 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 307,60 | 102,53 | 683,56 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 0,15 | | | |
| Total | 19 | 310,00 | | | | |
| Fraksi SbEA-10 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 362,20 | 120,73 | 160,98 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 12,00 | 0,75 | | | |
| Total | 19 | 374,20 | | | | |

Keterangan ** : menunjukkan sangat signifikan

Berdasarkan Uji *Analysis of Variance* (ANOVA), dapat diketahui bahwa nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$, baik pada α 5% maupun pada α 1% maka tolak H_0 pada α 5% dan 1%.

Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan hasil yang sangat signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

Tabel 7. Hasil Uji *Least Significant Difference* (LSD) Fraksi Etil Asetat Kulit Kayu Bawang Hutan Kromatografi Kolom I

| Fraksi SbEA-1 | |
|--------------------------|---------------------------|
| Konsentrasi Fraksi (bpj) | Rata-rata (Mean) ± SD |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 0,80 ^C ± 0,44 |
| 100 | 4,20 ^B ± 0,44 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-2 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 2,40 ^C ± 0,54 |
| 100 | 4,80 ^B ± 0,44 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-3 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 6,40 ^C ± 0,54 |
| 100 | 8,40 ^B ± 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-4 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 3,60 ^C ± 0,54 |
| 100 | 7,20 ^B ± 1,09 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-5 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 4,40 ^C ± 0,54 |
| 100 | 9,20 ^B ± 0,44 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-6 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 4,00 ^C ± 0,70 |
| 100 | 8,80 ^B ± 1,10 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-7 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 3,60 ^C ± 0,54 |
| 100 | 9,40 ^B ± 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-8 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 3,20 ^C ± 0,84 |
| 100 | 8,40 ^B ± 0,89 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-9 | |
| 0 | 0,00 ^D ± 0,00 |
| 10 | 2,60 ^C ± 0,54 |
| 100 | 7,40 ^B ± 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |
| Fraksi SbEA-10 | |
| 0 | 0,00 ^C ± 0,00 |
| 10 | 0,40 ^C ± 0,54 |
| 100 | 6,80 ^B ± 1,64 |
| 1000 | 10,00 ^A ± 0,00 |

Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

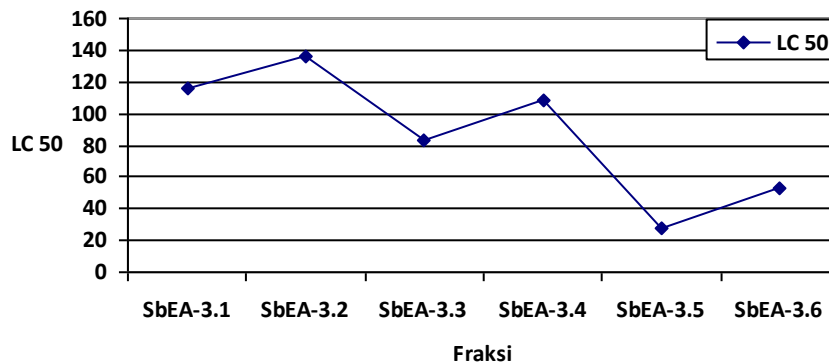
6. Uji Toksisitas Fraksi Hasil Kromatografi Kolom II dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT terhadap fraksi hasil kromatografi kolom II (6 fraksi) ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji toksisitas fraksi hasil kromatografi kolom II dengan metode BSLT

| Sampel | Konsentrasi (bpj) | Jumlah larva udang yang mati | | | | | Rata-rata | LC ₅₀ (bpj) |
|----------|-------------------|------------------------------|----|-----|----|----|-----------|------------------------|
| | | Replikasi | | | | | | |
| | | I | II | III | IV | V | | |
| SbEA-3.1 | 10 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1,2 | 116,417 |
| | 100 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3.2 | 10 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2,6 | 135,816 |
| | 100 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3,6 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3.3 | 10 | 3 | 4 | 2 | 3 | 3 | 3 | 83,596 |
| | 100 | 6 | 6 | 5 | 6 | 5 | 5,6 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3.4 | 10 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,2 | 108,632 |
| | 100 | 4 | 4 | 5 | 5 | 4 | 4,4 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3.5 | 10 | 5 | 6 | 5 | 6 | 6 | 5,6 | 28,11 |
| | 100 | 9 | 10 | 10 | 9 | 10 | 9,6 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| SbEA-3.6 | 10 | 5 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4,6 | 52,835 |
| | 100 | 7 | 8 | 7 | 8 | 8 | 7,6 | |
| | 1000 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | Kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Berdasarkan Tabel 10, harga LC_{50} dari fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom II, dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Grafik perhitungan LC_{50} hasil kromatografi kolom II dengan metode BSLT

Berdasarkan hasil perhitungan analisis probit maka nilai LC_{50} dari fraksi etil asetat hasil fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom II (Lampiran 8) adalah seperti yang tertera pada Tabel 8. Nilai LC_{50} yang telah di dapat dituangkan ke dalam bentuk grafik, seperti pada Gambar 6. Sehingga diperoleh bahwa fraksi 3.5 memiliki nilai LC_{50} sebesar 28,11 bpj. Suatu senyawa dikatakan aktif apabila memiliki nilai $LC_{50} \leq 50$, maka dari itu di ambillah fraksi 3.5 (SbEA-3.5) sebagai fraksi yang paling aktif atau bersifat toksik.

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan secara nyata atau tidak antara masing-masing konsentrasi dengan kontrol, maka dilakukanlah uji hipotesis dengan menggunakan anova satu arah. Hasil perhitungan anova dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji anova satu arah fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan kromatografi kolom II

| Fraksi SbEA-3.1 | | | | | | |
|-----------------|----|--------|--------|---------|----------|----------|
| Sumber Variasi | DF | SS | MS | F | | |
| | | | | Hitung | Tabel 5% | Tabel 1% |
| Perlakuan | 3 | 298,40 | 99,46 | 1989,33 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 0,80 | 0,05 | | | |
| Total | 19 | 299,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-3.2 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 270,55 | 90,18 | 601,22 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 0,15 | | | |
| Total | 19 | 272,95 | | | | |
| Fraksi SbEA-3.3 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 269,35 | 89,78 | 448,92 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 3,20 | 0,20 | | | |
| Total | 19 | 272,55 | | | | |
| Fraksi SbEA-3.4 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 299,80 | 99,93 | 799,47 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,00 | 0,12 | | | |
| Total | 19 | 301,80 | | | | |
| Fraksi SbEA-3.5 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 323,80 | 107,93 | 719,56 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 0,15 | | | |
| Total | 19 | 326,20 | | | | |
| Fraksi SbEA-3.6 | | | | | | |
| Perlakuan | 3 | 278,55 | 92,85 | 619,00 | 3,24** | 5,29** |
| Error | 16 | 2,40 | 0,15 | | | |
| Total | 19 | 280,95 | | | | |

Keterangan **: menunjukkan sangat signifikan

Berdasarkan Uji *Analysis of Variance* (ANOVA), dapat diketahui bahwa nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$, baik pada α 5% maupun pada α 1% maka tolak H_0 pada α 5% dan 1% artinya terdapat pengaruh yang sangat signifikan antara berbagai konsentrasi terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan hasil yang sangat signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Uji LSD bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian konsentrasi masing-masing fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan berpengaruh secara signifikan terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Tabel 10. Hasil uji *Least Significant Difference* (LSD) fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan kromatografi kolom II

| Fraksi SbEA-3.1 | |
|--------------------------|-------------------------------|
| Konsentrasi Fraksi (bpj) | Rata-rata (Mean) \pm SD |
| 0 | 0,00 ^D \pm 0,00 |
| 10 | 1,20 ^C \pm 0,44 |
| 100 | 4,00 ^B \pm 0,00 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |
| Fraksi SbEA-3.2 | |
| 0 | 0,00 ^D \pm 0,00 |
| 10 | 2,60 ^C \pm 0,54 |
| 100 | 3,60 ^B \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |
| Fraksi SbEA-3.3 | |
| 0 | 0,00 ^D \pm 0,00 |
| 10 | 3,00 ^C \pm 0,70 |
| 100 | 5,60 ^B \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |
| Fraksi SbEA-3.4 | |
| 0 | 0,00 ^D \pm 0,00 |
| 10 | 1,20 ^C \pm 0,44 |
| 100 | 4,40 ^B \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |
| Fraksi SbEA-3.5 | |
| 0 | 0,00 ^C \pm 0,00 |
| 10 | 5,60 ^B \pm 0,54 |
| 100 | 9,60 ^A \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |
| Fraksi SbEA-3.6 | |
| 0 | 0,00 ^D \pm 0,00 |
| 10 | 4,60 ^C \pm 0,54 |
| 100 | 7,60 ^B \pm 0,54 |
| 1000 | 10,00 ^A \pm 0,00 |

Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Dari hasil Uji *Least Significant Difference* (LSD) dapat dilihat bahwa konsentrasi 10 bpj, 100 bpj dan 1000 bpj secara umum menunjukkan perbedaan yang signifikan.

7. Hasil Analisis Fitokimia Fraksi yang Paling Aktif

Analisis fitokimia dilakukan di Laboratorium Bioproses IV (Bahan Alami), Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Telah diuji sebelumnya kandungan senyawa hasil metabolit sekunder terhadap serbuk simplisia dan fase etil asetat kulit kayu bawang hutan oleh Rinawati (2010). Hasil analisis fitokimia tersebut dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil analisis fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etil asetat kayu bawang hutan*

| No. | Golongan senyawa metabolit sekunder | Serbuk simplisia | Ekstrak etil asetat |
|-----|-------------------------------------|------------------|---------------------|
| 1 | Alkaloid | - | - |
| 2 | Flavonoid | + | + |
| 3 | Saponin | + | - |
| 4 | Tanin | - | - |
| 5 | Streoid atau triterpenoid | + | + |
| 6 | Kuinon | - | - |
| 7 | Minyak atsiri | - | - |
| 8 | Kumarin | + | + |
| 9 | Sulfida | + | + |

Keterangan :

- = Negatif mengandung senyawa

+ = Positif mengandung senyawa

* = Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rinawati (2010)

Berdasarkan hasil uji kualitatif terhadap fase etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) (Tabel 13), selanjutnya hanya dilakukan analisis fitokimia terhadap senyawa flavonoid dan steroid atau triterpenoid, karena flavonoid dan steroid atau triterpenoid merupakan salah satu senyawa hasil metabolit sekunder yang bersifat toksik. Hasil analisis fitokimia terhadap fraksi yang paling aktif baik hasil kromatografi kolom I maupun hasil kromatografi kolom II, dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil analisis fitokimia fraksi SbEA-3 dan fraksi SbEA-3.5

| No. | Golongan senyawa metabolit sekunder | Fraksi SbEA-3 | Fraksi SbEA-3.5 |
|-----|-------------------------------------|---------------|-----------------|
| 1 | Flavonoid | + | - |
| 2 | Steroid | + | + |

Keterangan :

- = Negatif mengandung senyawa
- + = Positif mengandung senyawa

B. Pembahasan

Prinsip ekstraksi adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut (Khopkar, 1990). Ekstraksi yang digunakan adalah teknik maserasi. Menurut Yustina (2008), teknik maserasi dipilih karena maserasi merupakan cara yang sederhana, murah dan mudah dilakukan, disamping itu keuntungan lain dari penggunaan teknik maserasi ini adalah tidak memerlukan suhu yang tinggi pada saat pengerjaannya, karena dengan penggunaan suhu yang tinggi dapat menyebabkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder. Selain itu, dikhawatirkan senyawa yang terkandung dalam kulit kayu bawang hutan merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Sedangkan kekurangan dari teknik maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

Ekstrak pekat hasil maserasi dipartisi menggunakan pelarut etil asetat-air (1:1). Menurut Bernasconi (1995), partisi adalah suatu teknik pemisahan suatu komponen bahan yang terdiri atas satu atau lebih campuran bahan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pada saat pencampuran ekstrak pekat dengan etil asetat : air terjadi perpindahan massa, yaitu ekstrak meninggalkan pelarut yang pertama (media pembawa) dalam hal ini metanol dan masuk ke dalam pelarut kedua (media ekstraksi) yaitu etil asetat : air. Sebagai syarat ekstraksi ini, bahan ekstraksi dan pelarut tidak saling melarut atau bercampur agar terjadi perpindahan massa yang baik. Penambahan pelarut etil asetat : air adalah 1:1 yang mana ekstrak yang dihasilkan sebanding dengan pelarut etil asetat : air (Bernasconi, 1995).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan pengujian senyawa secara umum yang dapat digunakan untuk mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba dan insektisida nabati (Colegate dan Molyneux, 2007).

Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT dan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan ujinya telah digunakan sejak tahun 1956. Uji toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach memang tidak spesifik untuk antitumor, tetapi kemampuannya untuk mendeteksi 14 dari 24 Euphorbiaceae yang aktif terhadap uji leukemia in vivo mencit dan

mendeteksi 2 dari 6 ekstrak Euphorbiacea yang aktif terhadap uji karsinoma nasofaring. Hal ini memungkinkan uji toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji penapisan senyawa bioaktif tahap awal dari rangkaian uji toksisitas untuk mendapatkan dosis yang aman bagi manusia (Mayer, 1982) sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Anderson, *et al* (1991), menyatakan bahwa 10 senyawa murni yang diperoleh dari *National Cancer Institute* (NCI), menunjukkan adanya korelasi yang baik antara uji hayati terhadap *Artemia salina* terhadap metode P-388. Demikian pula terhadap kultur sel tumor manusia A-549 (sel kanker paru-paru), MCF-7 (sel kanker payudara), dan HT-29 (sel kanker usus besar), uji hayati terhadap *Artemia salina* ini mampu mendeteksi 5 senyawa dari 6 senyawa yang berkhasiat antitumor terhadap anti MCF-7

Untuk mengetahui suatu senyawa toksik atau tidak dapat dilihat melalui harga LC_{50} . Dimana, Lethal Concentration 50 (LC_{50}) merupakan ukuran dari toksisitas media sekitarnya yang akan membunuh setengah dari populasi sampel dari hewan uji yang digunakan, dalam hal ini hewan uji yang digunakan adalah *Artemia salina* Leach. Nilai LC_{50} dinyatakan dalam bagian per juta (bpj) atau part per million (ppm). Suatu zat dikatakan aktif atau toksik apabila zat tersebut memiliki nilai $LC_{50} \leq 1000$ bpj untuk ekstrak dan ≤ 50 bpj untuk suatu senyawa (Mayer, 1982). Untuk mengetahui besarnya harga LC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan *Probit Analysis* (Finney, 1952).

Udang renik air asin (*Brine Shrimp*) atau *Artemia salina* Leach, telurnya banyak tersedia dalam keadaan siap pakai di toko-toko ikan dan memiliki daya tahan hidup selama beberapa tahun dalam keadaan kering. Dalam air laut, telur tersebut akan menetas dalam waktu 24-48 jam menjadi larva dan disebut nauplius yang dapat dipakai dalam penelitian (Mc Laughlin, 1991).

Artemia salina Leach adalah sejenis udang kecil dari kelas Crustaceae. Telur atau kistanya dapat tetap tidur atau tidak aktif selama bertahun-tahun bila tetap dalam keadaan kering. Penggunaan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji dalam penelitian toksisitas ini, karena berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mayer (1982) dan Anderson (1991), membuktikan bahwa terdapat korelasi antara kematian larva udang *Artemia salina* dengan antikanker. Dimana pada saat *Artemia salina* Leach berada dalam fase larva atau sering disebut dengan fase nauplius, larva udang tersebut aktif membelah secara mitosis begitupun pada sel kanker yang aktif membelah pada saat mitosis.

Berdasarkan hasil perhitungan LC_{50} (Lampiran 6), memperlihatkan bahwa fase etil asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA) memiliki harga LC_{50} sebesar 32,60 bpj. Menurut Mayer (1982), suatu senyawa dikatakan toksik apabila harga $LC_{50} \leq 1000$ bpj. Maka berdasarkan hasil yang didapat, dapat dikatakan bahwa fase etil asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA) memiliki daya bunuh 50% ppopulasi larva udang *Artemia salina* pada konsentrasi 32,60 bpj.

Fase etil asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA) yang bersifat toksik, kemudian dilanjutkan dengan proses fraksinasi atau pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom. Fraksinasi atau pemurnian tersebut dilakukan agar senyawa yang terdapat pada fase etil asetat kulit kayu bawang hutan, menjadi lebih spesifik atau lebih sederhana lagi. Hasil yang didapat dari proses fraksinasi adalah 10 fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA-1–SbEA-10). Kesepuluh fraksi tersebut diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode BSLT dan didapat bahwa fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan yang ke-3 (SbEA-3) bersifat toksik dengan harga LC_{50} sebesar 35,35 bpj, artinya bahwa senyawa yang terdapat pada fraksi SbEA-3 dengan konsentrasi 35,35 bpj memiliki daya bunuh 50% dari populasi larva udang *Artemia salina*. Besarnya harga LC_{50} didapatkan dari hasil perhitungan dengan menggunakan *Probit Analysis* (Lampiran 7).

Fraksi SbEA-3 yang telah dikatakan toksik, kemudian dilanjutkan dengan proses fraksinasi atau pemurnian dengan metode kromatografi kolom II. Fraksinasi ini dilakukan dengan tujuan agar senyawa yang terdapat pada fraksi SbEA-3 ini menjadi lebih spesifik atau lebih sederhana lagi. Hasil fraksinasi dari fraksi SbEA-3 diperoleh 6 fraksi etil asetat kulit kayu bawang hasil kromatografi kolom II (SbEA-3.1–SbEA-3.6). Keenam fraksi yang didapat kemudian diuji toksisitasnya dengan menggunakan metode BSLT dan didapat bahwa fraksi SbEA-3.5 bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Berdasarkan perhitungan LC_{50}

(Lampiran 8), besarnya harga LC_{50} fraksi SbEA-3.5 adalah 28,11 bpj yang artinya bahwa pada konsentrasi 28,11 bpj senyawa tersebut memiliki daya bunuh 50% dari populasi larva udang *Artemia salina*.

Hasil akhir dari uji toksisitas tersebut didapatkan fraksi yang paling aktif yaitu fraksi SbEA-3 yang merupakan fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom I dan fraksi SbEA-3.5 yang merupakan fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom II. Untuk mengetahui senyawa aktif apakah yang terdapat di dalam fraksi SbEA-3 dan SbEA-3.5 maka dilakukan analisis fitokimia. Sebelumnya telah dilakukan analisis fitokimia pada serbuk simplisia kulit kayu bawang hutan dan fase etil asetat, sehingga didapatkan bahwa terdapat beberapa senyawa yang terkandung, diantaranya flavonoid, saponin, dan steroid pada serbuk simplisia kulit kayu bawang hutan, sedangkan flavonoid dan steroid pada fase etil asetat kulit kayu bawang hutan. Berdasarkan analisis fitokimia, senyawa hasil metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi SbEA-3 adalah senyawa flavonoid dan steroid sedangkan pada fraksi SbEA-3.5 adalah senyawa steroid.

Flavonoid yang terdapat pada fraksi SbEA-3 bersifat toksik serta dapat menyebabkan mortalitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Flavonoid merupakan antioksidan ampuh yang bekerja sebagai pencegah kanker dan juga memiliki efek antimikroba. Mekanisme flavonoid sebagai antikanker, terdiri atas beberapa teori, antara lain:

1. Flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker (Ogata, 2000; Vizcaino, 2006 dan Ren, 2001). Mekanisme apoptosis sel pada teori ini akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi diawali dengan dilepaskannya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidrosil (Vizcaino, 2006 dan Ren, 2001).
2. Flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang dapat menghibibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti.
3. Flavonoid menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan suatu sel.
4. Flavonoid berfungsi juga untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi (Demeule, 2002).

Selain flavonoid, ternyata masih terdapat senyawa lain hasil metabolit sekunder yaitu senyawa steroid. Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrean, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksan terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Poedjiadi, 1994).

Senyawa steroid terdapat pada manusia, hewan, tumbuhan tingkat tinggi bahkan terdapat pula pada beberapa tumbuhan tingkat rendah seperti jamur (fungi). Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol. Ketika senyawa tersebut terdapat pada tumbuhan maka dapat berperan sebagai pelindung bagi tumbuhan tersebut. Senyawa steroid ini tidak hanya bekerja menolak beberapa serangga tetapi juga dapat menarik beberapa serangga lain (Robinson, 1995).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sukardiman (2004), senyawa steroid pada ekstrak metanol *Marchania planiloba* Steph. mampu membunuh larva udang *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} $247,10 \pm 5,28$ $\mu\text{g/ml}$. Fitosterol yang juga dikenal sebagai sterol tumbuhan seperti stigmasterol, kampesterol, sitosterol, ergotamine (provitamin D) memiliki kemampuan untuk berkompetisi dengan kolesterol dalam penyerapannya di dalam usus. Kompetisi ini mengakibatkan berkurangnya jumlah kolesterol yang dapat diserap oleh tubuh (Ostlund, 2003). Selain itu, sterol juga dapat berperan dalam mencegah terjadinya kanker (De Stefani, 2000).

Mekanisme mortalitas larva berhubungan dengan fungsi senyawa flavonoid dan steroid dalam fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa flavonoid dan steroid adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu,

senyawa ini menghambat kerja dari sistem sel gustatory pada daerah mulut larva sehingga larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya. Akibatnya, larva mati kelaparan (Rita, 2008 dan Nguyen, 1999).

Sesuai penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Mayer (1982), yang menyatakan bahwa apabila suatu ekstrak tumbuhan bersifat toksik menurut harga LC_{50} dengan metode BSLT, maka tumbuhan tersebut dapat dikembangkan sebagai obat antikanker (Mayer, 1982 dan Carballo, 2002), maka kulit kayu bawang hutan dapat dilanjutkan penelitiannya sebagai obat antikanker di masa yang akan datang.

BAB V

KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan yang bersifat toksik adalah fraksi SbEA-3 hasil kromatografi kolom I dengan nilai LC₅₀ sebesar 35,35 bpj dan fraksi SbEA-3.5 hasil kromatografi kolom II dengan nilai LC₅₀ sebesar 28,11 bpj. Hasil analisis fitokimia terhadap fraksi SbEA-3 didapatkan hasil metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid dan steroid sedangkan pada fraksi SbEA-3.5 hanya terdapat senyawa steroid.

B. Implikasi

Implikasi dari hasil penelitian ini adalah fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan diharapkan dapat menjadi obat antikanker alami yang memiliki efek samping yang lebih aman dibandingkan dengan obat antikanker yang sintetik. Selain sebagai antikanker, fraksi etil asetat ini juga dapat dimanfaatkan sebagai antitumor, antimalaria, antimikroba, maupun alternatif insektisida nabati yang efektif dan ramah lingkungan.

C. Saran

Saran dari penelitian ini adalah :

1. Perlu studi lanjut dalam mengidentifikasi dan menentukan struktur senyawa aktif dari fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) tumbuhan sehingga dapat diproduksi dalam skala besar.
2. Perlu penelitian lanjutan terhadap fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) yang aktif agar dapat terbukti apakah fraksi yang aktif atau bersifat toksik tersebut memang benar dapat juga bersifat sebagai antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba maupun insektisida nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M. 2006. Anti WInflammatory Activities of *Nigella Sativa* Linn. Diunduh dari : <http://lailanurhayati.multiply.com/jurnal>. Diakses tanggal 15 April 2011
- Anderson JE, Goetz CM, McLaughlin JL, Suffness M. 1991. *A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreens*. *Phytochem Analysis*; 2 : 107-111
- Anonim. 2008. *Artemia salina*. Diunduh dari: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/account/information/Artemia-Salina.html>. Diakses tanggal 15 April 2011
- Barnes, RD. 1980. *Invertebrate Zoology 4rd ed*. Philadelphia, WB Saunders Company
- Bernasconi, G. 1995. *Teknologi Kimia 2*. Penerjemah: Handojo, L. Jakarta, Prandya paramitha
- Carballo, J., L., Hernandez-Inda, Z., L., Perez, P., dan Garcia-Gravaloz, M., D. 2002. *Comparison Between Two brine Shrimp assays to Detect In Vitro Cytotoxicity In Marine Natural Products*. *BMC Biotechnology*: 1472-6570
- Chua, L.S.L. 1998. *Scorodorphis Becc*. In Sosef, M.S.M., Hong, L.T. & Prawirohatmodjo, S. (Eds.): *Plant Resources of South-East Asia No 5(3)*. Timber Trees: Lesser-known timbers. Bogor, Prosea Foundation
- Colegate, S., M., dan Molyneux, R., J. 2007. *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural determination Second Edition*. Prancis: CRC Press
- Creswell, C., L., Runquist, O., A., dan Cambell, M. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Terjemahan dari *Spectral Analysis Of Organik Compounds*. Diterjemahkan oleh Padmawinata K, Soediro I. Edisi II. Bandung, ITB
- Demeule, M., et al. 2002. *Green tea catechin as novel antitumor and antiangiogenic compounds*. *Curr. Med. Chem-Anti-Cancer Agent*, p. 2:441-463

- De Stefani, Eduardo, et al. 2000. *Plant Sterols and Risk of Stomach Cancer: A Case-Control Study in Uruguay*. Nutrition and Cancer; 37 (2): 140-144
- Finney, D., J., Ed. 1952. *Probit Analysis*. Cambridge, England, Cambridge University Press
- Harbone, J., B. 1996. *Metode Fitokimia*. Bandung, ITB
- Hostettmann, J., B., Hostettmann, M., Marston, A. 1992. *Preparative Chromatography Techniques, Applications in natural Product Isolation*. New York, Springer-Verlag
- Hudson, B.J.F. 1990. *Food Antioxidants*. New York, Elsevier Applied Science
- Insnansetyo A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami Untuk Pembenih Organisme Laut*. Yogyakarta, Kanisius
- Kartika, R. 1999. *Isolasi Senyawa Antibakteri dalam Kulit Kayu Bawang Hutan (Scorodocarpus borneensis Becc.)*. Bogor, Institut Pertanian Bogor
- Khopkar, S., M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta, UI Press
- McLaughlin JL. 1991. *Crown-gall tumours in potato discs and brine shrimp lethality: Two simple bioassays for higher plant screening and fractionation*. In: Hostettmann, K. *Methods in Plant Biochemistry*. London: Academic Press; 6: 1-31
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., dan McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. Plant Medica, p. 45: 31-34
- Mudjiman, A. 1989. *Udang Renik Air Asin Artemia Salina*. Jakarta, Penerbit Bhatara
- Nguyen, H., H., dan Widodo, S. 1999. *Momordica L. In: Medicinal and Poisonous Plant Research of South-East Asia 12*. De Padua, L., S., S., Bunyaphatsana dan R., H., M., J., Lemmens (eds.). Pudoc Scientific Publisher. Wageningen the Netherland: 353-359
- Ogata, S., Miyake, Y., Yamamoto, K., Okumura, K., dan Taguchi, H. 2000. *Apoptosis Induced By The Flavonoid From lemon Fruit (Citrus limon*

BURM. F.) and Its metabolites In HL-60 Cells. Biosci Biotechnol: 64 (5): 1075-1978. Diunduh dari: <http://www.ncbi.nlm>

Ostlund, R., E., Racette, S., B., and Stenson, W., F. 2003. *Inhibition of Cholesterol Absorption by Phytosterol-replete Wheat Germ Compared with Phytosterol-depleted Wheat Germ. Am J Clin Nutr; 77 (6): 1385-1589*

Poedjiadi, A. dan F., M., T., Supriyanti. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta, UI Press

Ren, W., et al. 2001. Tartary Buckwheat Flavonoid Activates Caspase 3 and Induces HI-60 Cell Apoptosis. *Clin Pharmacol; 23 (8): 427*

Rita, W., S., Suirta, I., W., dan Sabikin, A. 2008. *Isolasi&Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (Momordica charantia L.) Vol. 2. Bukit Jimbaran, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana*

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung, ITB

Roth, H., J., Blaschke, G. 1998. *Analisis Farmasi*. Terjemahan dari *Pharmazeutische Analitk*. Diterjemahkan oleh Kisman, S., Ibrahim, S. Yogyakarta, Universitas Gajah Mada Press

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopik*. Terjemahan dari *Drug Analysis by Chromatography*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Soediro, I. Bandung, ITB

Strottrup, JG dan Losley A. McEvoy (editor). 2003. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Garsington Road Oxford, Blackwell Publishing

Sudjaji, H. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta, Kanisius

Sugianti, B. 2005. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Dalam Pengendalian Penyakit Ikan*. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor: 37 hlm.

Sugono, D. 2008. *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Jakarta, Pusat Bahasa Indonesia Pendidikan Nasional

Sutrisno, R., B. 1986. *Reverse Approach*. Edisi I. Jakarta, Universitas Pancasila Fakultas Farmasi

Tridaris, Y. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Toksik dari Fase Etil Asetat Kulit Kayu Bawang Hutan (Scorodocarpus borneensis Becc.)*. Skripsi. Jakarta; Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Vizcaino, F., et al. 2006. The Flavonoid Quercetin-induced Apoptosis and Inhibits JNK Activation In Intimal Vascular Smooth Muscle Cells. *Biochemical and Biophysical research Communications*; 346 (3): 919-1025.

Winholz, M., Budavari, S, Blumethi., R.f., Otterben, E.S. 1983. *The merck index an encyclopedia of chemicals, drugs and biological*. 10thed. Rahway-USA, Merck and CO, Inc.

Wisaksono, S. 2002. *Efek Toksik dan Cara Menentukan Toksisitas Bahan Kimia*. Direktorat pengawasan Nababa, Ditjen POM, Departemen Kesehatan RI Jakarta.

Yen, G., C., Chen, H., Y. 1995. *Antioxidant Activity Of Various Tea Extract In Relation To Their Antimutagenity*. *J. Agric Food Chem*

_____. 1997. *Antioxidant and Prooxidant Effect Of Various Tea Extract*. *J. Agric Food Chem*

Lampiran 1. Gambar alat dan bahan penelitian



Timbangan Analitik



Bejana (chamber) yang berisi fase gerak pada analisis KLT



Tangas Air



Ekstrak etil asetat

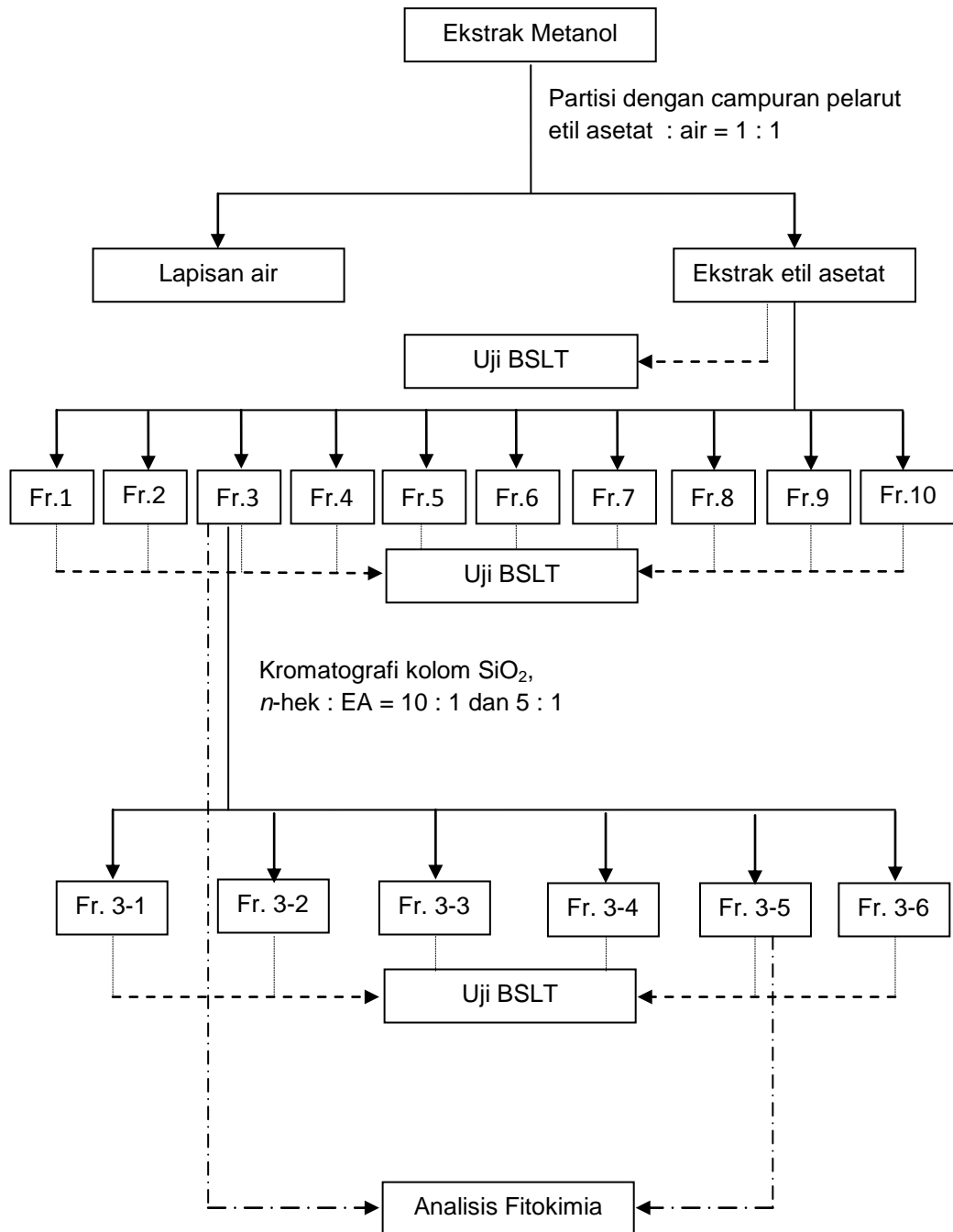


Contoh vial yang berisi fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom II



Buret yang digunakan untuk kromatografi kolom

Lampiran 2. Skema kerja pembuatan ekstrak kulit kayu bawang hutan



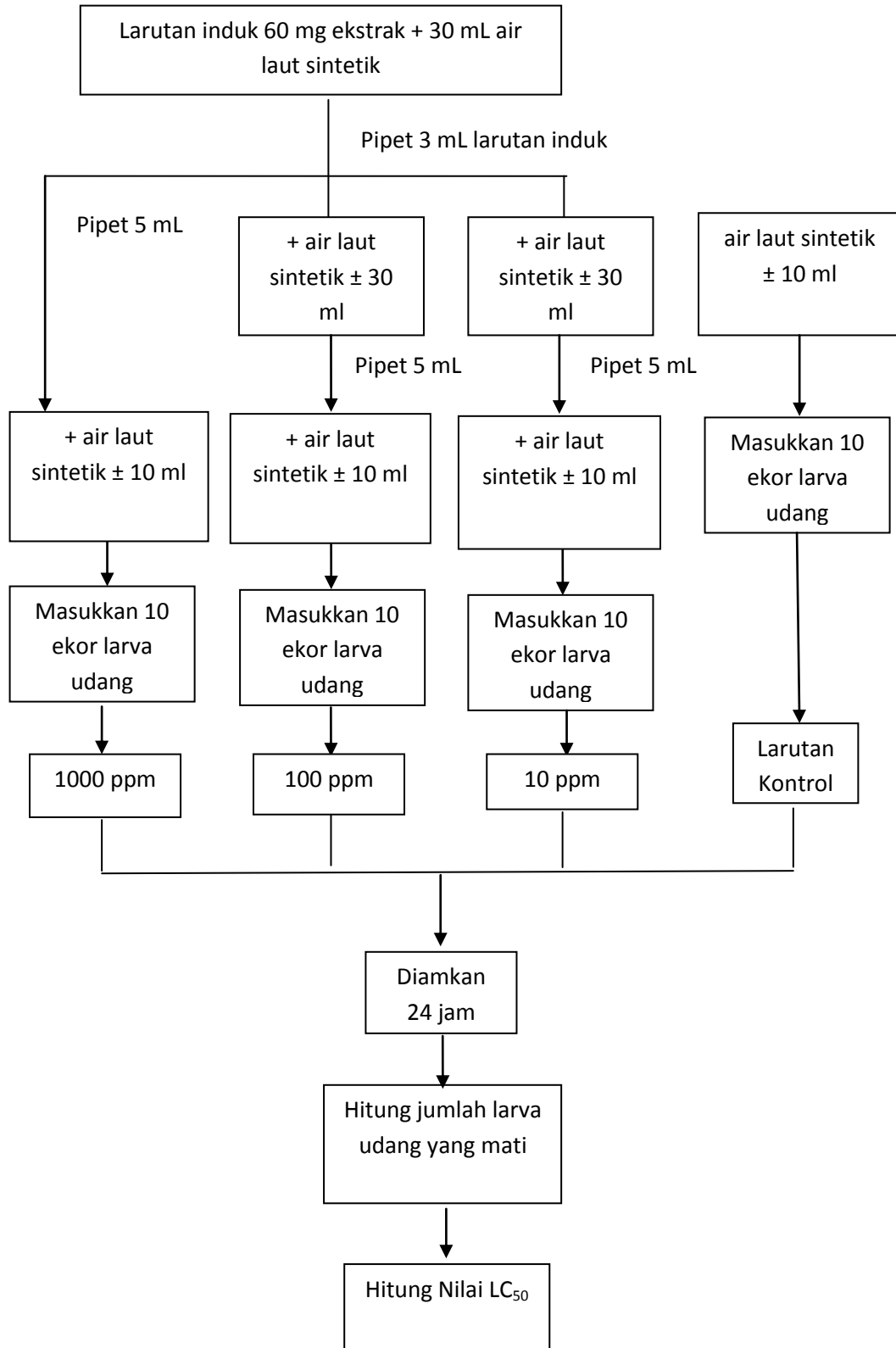
Keterangan :

————— : Hasil kromatografi kolom

- - - - -> : Uji BSLT

-> : Uji analisis fitokimia

Lampiran 3. Skema kerja uji toksisitas dengan metode BSLT



Lampiran 4. Tabel hasil fraksinasi fase etil asetat dengan kromatografi

kolom

| Fraksi | No. Botol | Bobot (g) |
|--------------------|-----------|--------------|
| SbEA-1 | 1 | 0,26 |
| SbEA-2 | 2-5 | 2,73 |
| SbEA-3 | 6-7 | 1,34 |
| SbEA-4 | 8-44 | 0,56 |
| SbEA-5 | 45-66 | 1,38 |
| SbEA-6 | 67-78 | 0,78 |
| SbEA-7 | 79-106 | 3,20 |
| SbEA-8 | 107-117 | 0,78 |
| SbEA-9 | 118 | 0,46 |
| SbEA-10 | 119-123 | 2,69 |
| Bobot total | | 14,18 |

Lampiran 5. Tabel hasil fraksinasi fraksi aktif SbEA-3 dengan kromatografi

kolom

| Fraksi | No. Botol | Bobot (g) |
|--------------------|-----------|--------------|
| SbEA-3.1 | 1 | 7,31 |
| SbEA-3.2 | 2-16 | 0,48 |
| SbEA-3.3 | 17-23 | 0,25 |
| SbEA-3.4 | 24-30 | 4,07 |
| SbEA-3.5 | 31-35 | 0,62 |
| SbEA-3.6 | 36-70 | 0,56 |
| SbEA-3.7 | 71-101 | 1,38 |
| Bobot total | | 14,67 |

Lampiran 6. Perhitungan LC₅₀ Fase Etil Asetat Kulit Kayu Bawang Hutan

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -47.823 | . | . |
| .020 | -38.398 | . | . |
| .030 | -32.419 | . | . |
| .040 | -27.921 | . | . |
| .050 | -24.262 | . | . |
| .060 | -21.147 | . | . |
| .070 | -18.417 | . | . |
| .080 | -15.972 | . | . |
| .090 | -13.748 | . | . |
| .100 | -11.701 | . | . |
| .150 | -3.227 | . | . |
| .200 | 3.508 | . | . |
| .250 | 9.286 | . | . |
| .300 | 14.475 | . | . |
| .350 | 19.284 | . | . |
| .400 | 23.846 | . | . |
| .450 | 28.261 | . | . |
| .500 | 32.605 | . | . |
| .550 | 36.950 | . | . |
| .600 | 41.364 | . | . |
| .650 | 45.927 | . | . |
| .700 | 50.735 | . | . |
| .750 | 55.924 | . | . |
| .800 | 61.702 | . | . |
| .850 | 68.437 | . | . |
| .900 | 76.912 | . | . |
| .910 | 78.959 | . | . |
| .920 | 81.182 | . | . |
| .930 | 83.627 | . | . |
| .940 | 86.358 | . | . |
| .950 | 89.472 | . | . |
| .960 | 93.131 | . | . |
| .970 | 97.629 | . | . |
| .980 | 103.609 | . | . |
| .990 | 113.033 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

Lampiran 7. Perhitungan LC₅₀ Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom I

a. Fraksi SbEA-1

| | | Batas Kepercayaan | | |
|-------------|------|---|-------------|------------|
| Kemungkinan | | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
| | | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT | .010 | -26.968 | -83.460 | 1.471 |
| | .020 | -10.773 | -58.748 | 14.077 |
| | .030 | -.497 | -43.217 | 22.223 |
| | .040 | 7.233 | -31.640 | 28.458 |
| | .050 | 13.521 | -22.312 | 33.618 |
| | .060 | 18.873 | -14.450 | 38.087 |
| | .070 | 23.565 | -7.627 | 42.077 |
| | .080 | 27.767 | -1.585 | 45.716 |
| | .090 | 31.588 | 3.847 | 49.089 |
| | .100 | 35.105 | 8.786 | 52.254 |
| | .150 | 49.668 | 28.439 | 66.158 |
| | .200 | 61.242 | 42.858 | 78.408 |
| | .250 | 71.172 | 54.204 | 89.941 |
| | .300 | 80.089 | 63.592 | 101.100 |
| | .350 | 88.352 | 71.700 | 112.031 |
| | .400 | 96.193 | 78.970 | 122.828 |
| | .450 | 103.779 | 85.697 | 133.581 |
| | .500 | 111.245 | 92.091 | 144.390 |
| | .550 | 118.711 | 98.313 | 155.371 |
| | .600 | 126.297 | 104.499 | 166.664 |
| | .650 | 134.138 | 110.782 | 178.447 |
| | .700 | 142.401 | 117.310 | 190.959 |
| | .750 | 151.318 | 124.269 | 204.546 |
| | .800 | 161.247 | 131.940 | 219.755 |
| | .850 | 172.822 | 140.801 | 237.563 |
| | .900 | 187.385 | 151.860 | 260.061 |
| | .910 | 190.902 | 154.518 | 265.507 |
| | .920 | 194.723 | 157.402 | 271.427 |
| | .930 | 198.925 | 160.569 | 277.942 |
| | .940 | 203.617 | 164.099 | 285.224 |
| | .950 | 208.969 | 168.119 | 293.536 |
| | .960 | 215.257 | 172.834 | 303.309 |
| | .970 | 222.987 | 178.619 | 315.335 |
| | .980 | 233.262 | 186.294 | 331.337 |
| | .990 | 249.458 | 198.361 | 356.588 |

b. Fraksi SbEA-2

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -82.923 | . | . |
| .020 | -61.340 | . | . |
| .030 | -47.646 | . | . |
| .040 | -37.345 | . | . |
| .050 | -28.966 | . | . |
| .060 | -21.834 | . | . |
| .070 | -15.581 | . | . |
| .080 | -9.981 | . | . |
| .090 | -4.889 | . | . |
| .100 | -.202 | . | . |
| .150 | 19.205 | . | . |
| .200 | 34.630 | . | . |
| .250 | 47.862 | . | . |
| .300 | 59.745 | . | . |
| .350 | 70.757 | . | . |
| .400 | 81.206 | . | . |
| .450 | 91.315 | . | . |
| .500 | 101.265 | . | . |
| .550 | 111.214 | . | . |
| .600 | 121.323 | . | . |
| .650 | 131.772 | . | . |
| .700 | 142.784 | . | . |
| .750 | 154.667 | . | . |
| .800 | 167.900 | . | . |
| .850 | 183.324 | . | . |
| .900 | 202.731 | . | . |
| .910 | 207.418 | . | . |
| .920 | 212.511 | . | . |
| .930 | 218.110 | . | . |
| .940 | 224.363 | . | . |
| .950 | 231.495 | . | . |
| .960 | 239.875 | . | . |
| .970 | 250.176 | . | . |
| .980 | 263.869 | . | . |
| .990 | 285.452 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

c. Fraksi SbEA-3

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -99.780 | . | . |
| .020 | -83.945 | . | . |
| .030 | -73.899 | . | . |
| .040 | -66.341 | . | . |
| .050 | -60.193 | . | . |
| .060 | -54.961 | . | . |
| .070 | -50.373 | . | . |
| .080 | -46.265 | . | . |
| .090 | -42.529 | . | . |
| .100 | -39.090 | . | . |
| .150 | -24.851 | . | . |
| .200 | -13.535 | . | . |
| .250 | -3.826 | . | . |
| .300 | 4.892 | . | . |
| .350 | 12.971 | . | . |
| .400 | 20.637 | . | . |
| .450 | 28.055 | . | . |
| .500 | 35.354 | . | . |
| .550 | 42.654 | . | . |
| .600 | 50.071 | . | . |
| .650 | 57.737 | . | . |
| .700 | 65.816 | . | . |
| .750 | 74.534 | . | . |
| .800 | 84.243 | . | . |
| .850 | 95.559 | . | . |
| .900 | 109.798 | . | . |
| .910 | 113.237 | . | . |
| .920 | 116.973 | . | . |
| .930 | 121.081 | . | . |
| .940 | 125.669 | . | . |
| .950 | 130.901 | . | . |
| .960 | 137.049 | . | . |
| .970 | 144.607 | . | . |
| .980 | 154.654 | . | . |
| .990 | 170.489 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

d. Fraksi SbEA-4

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -75.934 | . | . |
| .020 | -59.748 | . | . |
| .030 | -49.479 | . | . |
| .040 | -41.753 | . | . |
| .050 | -35.469 | . | . |
| .060 | -30.121 | . | . |
| .070 | -25.431 | . | . |
| .080 | -21.232 | . | . |
| .090 | -17.413 | . | . |
| .100 | -13.898 | . | . |
| .150 | .656 | . | . |
| .200 | 12.223 | . | . |
| .250 | 22.147 | . | . |
| .300 | 31.059 | . | . |
| .350 | 39.317 | . | . |
| .400 | 47.153 | . | . |
| .450 | 54.734 | . | . |
| .500 | 62.196 | . | . |
| .550 | 69.657 | . | . |
| .600 | 77.238 | . | . |
| .650 | 85.074 | . | . |
| .700 | 93.332 | . | . |
| .750 | 102.244 | . | . |
| .800 | 112.168 | . | . |
| .850 | 123.735 | . | . |
| .900 | 138.289 | . | . |
| .910 | 141.804 | . | . |
| .920 | 145.623 | . | . |
| .930 | 149.822 | . | . |
| .940 | 154.512 | . | . |
| .950 | 159.861 | . | . |
| .960 | 166.145 | . | . |
| .970 | 173.870 | . | . |
| .980 | 184.139 | . | . |
| .990 | 200.325 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

e. Fraksi SbEA-5

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -55.513 | . | . |
| .020 | -44.503 | . | . |
| .030 | -37.517 | . | . |
| .040 | -32.262 | . | . |
| .050 | -27.987 | . | . |
| .060 | -24.349 | . | . |
| .070 | -21.159 | . | . |
| .080 | -18.302 | . | . |
| .090 | -15.705 | . | . |
| .100 | -13.313 | . | . |
| .150 | -3.413 | . | . |
| .200 | 4.455 | . | . |
| .250 | 11.206 | . | . |
| .300 | 17.268 | . | . |
| .350 | 22.886 | . | . |
| .400 | 28.216 | . | . |
| .450 | 33.373 | . | . |
| .500 | 38.449 | . | . |
| .550 | 43.524 | . | . |
| .600 | 48.681 | . | . |
| .650 | 54.012 | . | . |
| .700 | 59.629 | . | . |
| .750 | 65.692 | . | . |
| .800 | 72.442 | . | . |
| .850 | 80.310 | . | . |
| .900 | 90.211 | . | . |
| .910 | 92.602 | . | . |
| .920 | 95.200 | . | . |
| .930 | 98.056 | . | . |
| .940 | 101.246 | . | . |
| .950 | 104.885 | . | . |
| .960 | 109.159 | . | . |
| .970 | 114.414 | . | . |
| .980 | 121.400 | . | . |
| .990 | 132.410 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

f. Fraksi SbEA-6

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -58.065 | . | . |
| .020 | -46.053 | . | . |
| .030 | -38.431 | . | . |
| .040 | -32.698 | . | . |
| .050 | -28.035 | . | . |
| .060 | -24.065 | . | . |
| .070 | -20.585 | . | . |
| .080 | -17.469 | . | . |
| .090 | -14.635 | . | . |
| .100 | -12.026 | . | . |
| .150 | -1.225 | . | . |
| .200 | 7.360 | . | . |
| .250 | 14.724 | . | . |
| .300 | 21.338 | . | . |
| .350 | 27.466 | . | . |
| .400 | 33.282 | . | . |
| .450 | 38.908 | . | . |
| .500 | 44.446 | . | . |
| .550 | 49.983 | . | . |
| .600 | 55.609 | . | . |
| .650 | 61.425 | . | . |
| .700 | 67.553 | . | . |
| .750 | 74.167 | . | . |
| .800 | 81.531 | . | . |
| .850 | 90.116 | . | . |
| .900 | 100.917 | . | . |
| .910 | 103.526 | . | . |
| .920 | 106.360 | . | . |
| .930 | 109.476 | . | . |
| .940 | 112.956 | . | . |
| .950 | 116.926 | . | . |
| .960 | 121.589 | . | . |
| .970 | 127.322 | . | . |
| .980 | 134.944 | . | . |
| .990 | 146.956 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

g. Fraksi SbEA-7

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -39.602 | . | . |
| .020 | -30.604 | . | . |
| .030 | -24.895 | . | . |
| .040 | -20.600 | . | . |
| .050 | -17.107 | . | . |
| .060 | -14.133 | . | . |
| .070 | -11.526 | . | . |
| .080 | -9.192 | . | . |
| .090 | -7.069 | . | . |
| .100 | -5.115 | . | . |
| .150 | 2.977 | . | . |
| .200 | 9.407 | . | . |
| .250 | 14.924 | . | . |
| .300 | 19.878 | . | . |
| .350 | 24.469 | . | . |
| .400 | 28.825 | . | . |
| .450 | 33.040 | . | . |
| .500 | 37.188 | . | . |
| .550 | 41.336 | . | . |
| .600 | 45.551 | . | . |
| .650 | 49.907 | . | . |
| .700 | 54.498 | . | . |
| .750 | 59.453 | . | . |
| .800 | 64.969 | . | . |
| .850 | 71.400 | . | . |
| .900 | 79.491 | . | . |
| .910 | 81.445 | . | . |
| .920 | 83.568 | . | . |
| .930 | 85.903 | . | . |
| .940 | 88.510 | . | . |
| .950 | 91.483 | . | . |
| .960 | 94.977 | . | . |
| .970 | 99.272 | . | . |
| .980 | 104.981 | . | . |
| .990 | 113.979 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

h. Fraksi SbEA-8

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -52.929 | . | . |
| .020 | -40.597 | . | . |
| .030 | -32.773 | . | . |
| .040 | -26.887 | . | . |
| .050 | -22.100 | . | . |
| .060 | -18.025 | . | . |
| .070 | -14.452 | . | . |
| .080 | -11.253 | . | . |
| .090 | -8.343 | . | . |
| .100 | -5.665 | . | . |
| .150 | 5.424 | . | . |
| .200 | 14.236 | . | . |
| .250 | 21.797 | . | . |
| .300 | 28.586 | . | . |
| .350 | 34.878 | . | . |
| .400 | 40.848 | . | . |
| .450 | 46.624 | . | . |
| .500 | 52.309 | . | . |
| .550 | 57.993 | . | . |
| .600 | 63.770 | . | . |
| .650 | 69.740 | . | . |
| .700 | 76.031 | . | . |
| .750 | 82.821 | . | . |
| .800 | 90.381 | . | . |
| .850 | 99.194 | . | . |
| .900 | 110.283 | . | . |
| .910 | 112.961 | . | . |
| .920 | 115.870 | . | . |
| .930 | 119.069 | . | . |
| .940 | 122.642 | . | . |
| .950 | 126.717 | . | . |
| .960 | 131.505 | . | . |
| .970 | 137.391 | . | . |
| .980 | 145.215 | . | . |
| .990 | 157.546 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

i. Fraksi SbEA-9

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -53.938 | . | . |
| .020 | -39.998 | . | . |
| .030 | -31.153 | . | . |
| .040 | -24.499 | . | . |
| .050 | -19.087 | . | . |
| .060 | -14.480 | . | . |
| .070 | -10.441 | . | . |
| .080 | -6.824 | . | . |
| .090 | -3.535 | . | . |
| .100 | -.508 | . | . |
| .150 | 12.028 | . | . |
| .200 | 21.990 | . | . |
| .250 | 30.537 | . | . |
| .300 | 38.213 | . | . |
| .350 | 45.325 | . | . |
| .400 | 52.074 | . | . |
| .450 | 58.604 | . | . |
| .500 | 65.030 | . | . |
| .550 | 71.457 | . | . |
| .600 | 77.986 | . | . |
| .650 | 84.736 | . | . |
| .700 | 91.848 | . | . |
| .750 | 99.524 | . | . |
| .800 | 108.071 | . | . |
| .850 | 118.033 | . | . |
| .900 | 130.568 | . | . |
| .910 | 133.596 | . | . |
| .920 | 136.885 | . | . |
| .930 | 140.502 | . | . |
| .940 | 144.541 | . | . |
| .950 | 149.148 | . | . |
| .960 | 154.560 | . | . |
| .970 | 161.213 | . | . |
| .980 | 170.058 | . | . |
| .990 | 183.999 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

j. Fraksi SbEA-10

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|-------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT .010 | -3.310 | -34.946 | 16.069 |
| .020 | 6.746 | -21.525 | 24.355 |
| .030 | 13.127 | -13.060 | 29.662 |
| .040 | 17.927 | -6.725 | 33.687 |
| .050 | 21.832 | -1.595 | 36.985 |
| .060 | 25.155 | 2.751 | 39.812 |
| .070 | 28.069 | 6.544 | 42.307 |
| .080 | 30.678 | 9.926 | 44.556 |
| .090 | 33.051 | 12.989 | 46.615 |
| .100 | 35.235 | 15.795 | 48.523 |
| .150 | 44.278 | 27.264 | 56.572 |
| .200 | 51.465 | 36.163 | 63.186 |
| .250 | 57.631 | 43.602 | 69.056 |
| .300 | 63.168 | 50.096 | 74.513 |
| .350 | 68.299 | 55.937 | 79.747 |
| .400 | 73.168 | 61.309 | 84.884 |
| .450 | 77.879 | 66.343 | 90.017 |
| .500 | 82.515 | 71.143 | 95.223 |
| .550 | 87.151 | 75.797 | 100.575 |
| .600 | 91.861 | 80.389 | 106.150 |
| .650 | 96.730 | 85.006 | 112.042 |
| .700 | 101.861 | 89.749 | 118.374 |
| .750 | 107.398 | 94.747 | 125.327 |
| .800 | 113.564 | 100.194 | 133.188 |
| .850 | 120.751 | 106.418 | 142.477 |
| .900 | 129.794 | 114.102 | 154.312 |
| .910 | 131.978 | 115.938 | 157.189 |
| .920 | 134.351 | 117.926 | 160.323 |
| .930 | 136.960 | 120.104 | 163.777 |
| .940 | 139.874 | 122.526 | 167.643 |
| .950 | 143.197 | 125.279 | 172.064 |
| .960 | 147.102 | 128.500 | 177.270 |
| .970 | 151.902 | 132.442 | 183.688 |
| .980 | 158.283 | 137.659 | 192.243 |
| .990 | 168.340 | 145.833 | 205.775 |

Lampiran 8. Perhitungan LC₅₀ Fraksi Etil Asetat Hasil Kromatografi Kolom II

a. Fraksi SbEA-3.1

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -46.379 | . | . |
| .020 | -27.303 | . | . |
| .030 | -15.200 | . | . |
| .040 | -6.095 | . | . |
| .050 | 1.311 | . | . |
| .060 | 7.615 | . | . |
| .070 | 13.142 | . | . |
| .080 | 18.091 | . | . |
| .090 | 22.592 | . | . |
| .100 | 26.735 | . | . |
| .150 | 43.888 | . | . |
| .200 | 57.521 | . | . |
| .250 | 69.217 | . | . |
| .300 | 79.720 | . | . |
| .350 | 89.453 | . | . |
| .400 | 98.688 | . | . |
| .450 | 107.624 | . | . |
| .500 | 116.417 | . | . |
| .550 | 125.211 | . | . |
| .600 | 134.146 | . | . |
| .650 | 143.382 | . | . |
| .700 | 153.115 | . | . |
| .750 | 163.618 | . | . |
| .800 | 175.314 | . | . |
| .850 | 188.946 | . | . |
| .900 | 206.100 | . | . |
| .910 | 210.243 | . | . |
| .920 | 214.744 | . | . |
| .930 | 219.692 | . | . |
| .940 | 225.220 | . | . |
| .950 | 231.523 | . | . |
| .960 | 238.929 | . | . |
| .970 | 248.034 | . | . |
| .980 | 260.138 | . | . |
| .990 | 279.214 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

b. Fraksi SbEA-3.2

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -125.379 | . | . |
| .020 | -94.772 | . | . |
| .030 | -75.353 | . | . |
| .040 | -60.745 | . | . |
| .050 | -48.863 | . | . |
| .060 | -38.749 | . | . |
| .070 | -29.881 | . | . |
| .080 | -21.941 | . | . |
| .090 | -14.720 | . | . |
| .100 | -8.072 | . | . |
| .150 | 19.449 | . | . |
| .200 | 41.322 | . | . |
| .250 | 60.087 | . | . |
| .300 | 76.938 | . | . |
| .350 | 92.554 | . | . |
| .400 | 107.371 | . | . |
| .450 | 121.707 | . | . |
| .500 | 135.816 | . | . |
| .550 | 149.925 | . | . |
| .600 | 164.261 | . | . |
| .650 | 179.079 | . | . |
| .700 | 194.694 | . | . |
| .750 | 211.546 | . | . |
| .800 | 230.311 | . | . |
| .850 | 252.183 | . | . |
| .900 | 279.704 | . | . |
| .910 | 286.352 | . | . |
| .920 | 293.573 | . | . |
| .930 | 301.513 | . | . |
| .940 | 310.381 | . | . |
| .950 | 320.495 | . | . |
| .960 | 332.377 | . | . |
| .970 | 346.985 | . | . |
| .980 | 366.404 | . | . |
| .990 | 397.011 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

c. Fraksi SBEA-3.3

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -106.903 | . | . |
| .020 | -84.581 | . | . |
| .030 | -70.418 | . | . |
| .040 | -59.764 | . | . |
| .050 | -51.097 | . | . |
| .060 | -43.721 | . | . |
| .070 | -37.253 | . | . |
| .080 | -31.462 | . | . |
| .090 | -26.195 | . | . |
| .100 | -21.347 | . | . |
| .150 | -1.275 | . | . |
| .200 | 14.678 | . | . |
| .250 | 28.364 | . | . |
| .300 | 40.654 | . | . |
| .350 | 52.043 | . | . |
| .400 | 62.850 | . | . |
| .450 | 73.306 | . | . |
| .500 | 83.596 | . | . |
| .550 | 93.886 | . | . |
| .600 | 104.342 | . | . |
| .650 | 115.149 | . | . |
| .700 | 126.538 | . | . |
| .750 | 138.829 | . | . |
| .800 | 152.515 | . | . |
| .850 | 168.467 | . | . |
| .900 | 188.540 | . | . |
| .910 | 193.388 | . | . |
| .920 | 198.654 | . | . |
| .930 | 204.445 | . | . |
| .940 | 210.913 | . | . |
| .950 | 218.290 | . | . |
| .960 | 226.956 | . | . |
| .970 | 237.610 | . | . |
| .980 | 251.773 | . | . |
| .990 | 274.096 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

d. Fraksi SbEA-3.4

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -42.695 | . | . |
| .020 | -24.963 | . | . |
| .030 | -13.712 | . | . |
| .040 | -5.249 | . | . |
| .050 | 1.636 | . | . |
| .060 | 7.495 | . | . |
| .070 | 12.633 | . | . |
| .080 | 17.233 | . | . |
| .090 | 21.417 | . | . |
| .100 | 25.268 | . | . |
| .150 | 41.213 | . | . |
| .200 | 53.885 | . | . |
| .250 | 64.757 | . | . |
| .300 | 74.520 | . | . |
| .350 | 83.567 | . | . |
| .400 | 92.152 | . | . |
| .450 | 100.458 | . | . |
| .500 | 108.632 | . | . |
| .550 | 116.806 | . | . |
| .600 | 125.112 | . | . |
| .650 | 133.697 | . | . |
| .700 | 142.744 | . | . |
| .750 | 152.507 | . | . |
| .800 | 163.379 | . | . |
| .850 | 176.052 | . | . |
| .900 | 191.996 | . | . |
| .910 | 195.847 | . | . |
| .920 | 200.031 | . | . |
| .930 | 204.631 | . | . |
| .940 | 209.769 | . | . |
| .950 | 215.629 | . | . |
| .960 | 222.513 | . | . |
| .970 | 230.977 | . | . |
| .980 | 242.227 | . | . |
| .990 | 259.960 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

e. Fraksi SbEA-3.5

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -55.558 | . | . |
| .020 | -45.754 | . | . |
| .030 | -39.533 | . | . |
| .040 | -34.854 | . | . |
| .050 | -31.048 | . | . |
| .060 | -27.808 | . | . |
| .070 | -24.967 | . | . |
| .080 | -22.424 | . | . |
| .090 | -20.110 | . | . |
| .100 | -17.981 | . | . |
| .150 | -9.165 | . | . |
| .200 | -2.159 | . | . |
| .250 | 3.852 | . | . |
| .300 | 9.250 | . | . |
| .350 | 14.252 | . | . |
| .400 | 18.999 | . | . |
| .450 | 23.591 | . | . |
| .500 | 28.111 | . | . |
| .550 | 32.630 | . | . |
| .600 | 37.222 | . | . |
| .650 | 41.969 | . | . |
| .700 | 46.971 | . | . |
| .750 | 52.369 | . | . |
| .800 | 58.380 | . | . |
| .850 | 65.386 | . | . |
| .900 | 74.202 | . | . |
| .910 | 76.332 | . | . |
| .920 | 78.645 | . | . |
| .930 | 81.188 | . | . |
| .940 | 84.029 | . | . |
| .950 | 87.269 | . | . |
| .960 | 91.075 | . | . |
| .970 | 95.754 | . | . |
| .980 | 101.975 | . | . |
| .990 | 111.779 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

f. Fraksi SbEA-3.6

Batas Kepercayaan

| Kemungkinan | Batas kepercayaan 95% untuk konsentrasi | | |
|--------------------------|---|-------------|------------|
| | Perkiraan | Batas Bawah | Batas Atas |
| PROBIT ^a .010 | -88.195 | . | . |
| .020 | -71.670 | . | . |
| .030 | -61.184 | . | . |
| .040 | -53.297 | . | . |
| .050 | -46.881 | . | . |
| .060 | -41.420 | . | . |
| .070 | -36.632 | . | . |
| .080 | -32.345 | . | . |
| .090 | -28.446 | . | . |
| .100 | -24.857 | . | . |
| .150 | -9.997 | . | . |
| .200 | 1.813 | . | . |
| .250 | 11.945 | . | . |
| .300 | 21.044 | . | . |
| .350 | 29.476 | . | . |
| .400 | 37.476 | . | . |
| .450 | 45.217 | . | . |
| .500 | 52.835 | . | . |
| .550 | 60.453 | . | . |
| .600 | 68.194 | . | . |
| .650 | 76.194 | . | . |
| .700 | 84.626 | . | . |
| .750 | 93.725 | . | . |
| .800 | 103.857 | . | . |
| .850 | 115.667 | . | . |
| .900 | 130.527 | . | . |
| .910 | 134.116 | . | . |
| .920 | 138.015 | . | . |
| .930 | 142.302 | . | . |
| .940 | 147.090 | . | . |
| .950 | 152.551 | . | . |
| .960 | 158.967 | . | . |
| .970 | 166.855 | . | . |
| .980 | 177.340 | . | . |
| .990 | 193.866 | . | . |

a. Faktor heterogen yang digunakan.

Lampiran 9. Hasil Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) Fase Etil Asetat kulit kayu bawang hutan (SbEA)

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 334.55000000 | 111.51666667 | 405.52 | 0.0001 |
| Error | 16 | 4.40000000 | 0.27500000 | | |
| Total | 19 | 338.95000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.987019 | 8.667842 | 0.524404 | 6.05000000 |

| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| P | 3 | 334.55000000 | 111.51666667 | 405.52 | 0.0001 |

Lampiran 10. Hasil Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) Fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan hasil kromatografi kolom I

a. Fraksi SbEA-1

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 310.15000000 | 103.38333333 | 1033.83 | 0.0001 |
| Error | 16 | 1.60000000 | 0.10000000 | | |
| Total | 19 | 311.75000000 | | | |

| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| 0.994868 | 8.432740 | 0.316227 | 3.75000000 |

| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| P | 3 | 310.15000000 | 103.38333333 | 1033.83 | 0.0001 |

b. Fraksi SbEA-2

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 274.20000000 | 91.40000000 | 731.20 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.00000000 | 0.12500000 | | |
| Total | 19 | 276.20000000 | | | |

| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| 0.992759 | 8.222172 | 0.353553 | 4.30000000 |

| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| P | 3 | 274.20000000 | 91.40000000 | 731.20 | 0.0001 |

c. Fraksi SbEA-3

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 323.80000000 | 107.93333333 | 719.56 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 326.20000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.992643 | 6.147593 | 0.387298 | 6.30000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 323.80000000 | 107.93333333 | 719.56 | 0.0001 |

d. Fraksi SbEA-4

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 283.20000000 | 94.40000000 | 251.73 | 0.0001 |
| Error | 16 | 6.00000000 | 0.37500000 | | |
| Total | 19 | 289.20000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.979253 | 11.77639 | 0.612372 | 5.20000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 283.20000000 | 94.40000000 | 251.73 | 0.0001 |

e. Fraksi SbEA-5

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 323.80000000 | 107.93333333 | 863.47 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.00000000 | 0.12500000 | | |
| Total | 19 | 325.80000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.993861 | 5.992430 | 0.353553 | 5.90000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 323.80000000 | 107.93333333 | 863.47 | 0.0001 |

f. Fraksi SbEA-6

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 317.40000000 | 105.80000000 | 248.94 | 0.0001 |
| Error | 16 | 6.80000000 | 0.42500000 | | |
| Total | 19 | 324.20000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.979025 | 11.43720 | 0.651920 | 5.70000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 317.40000000 | 105.80000000 | 248.94 | 0.0001 |

g. Fraksi SbEA-7

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 345.35000000 | 115.11666667 | 767.44 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 347.75000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.993098 | 6.735623 | 0.387298 | 5.75000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 345.35000000 | 115.11666667 | 767.44 | 0.0001 |

h. Fraksi SbEA-8

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 320.80000000 | 106.93333333 | 285.16 | 0.0001 |
| Error | 16 | 6.00000000 | 0.37500000 | | |
| Total | 19 | 326.80000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.981640 | 11.34023 | 0.612372 | 5.40000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 320.80000000 | 106.93333333 | 285.16 | 0.0001 |

i. Fraksi SbEA-9

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 307.60000000 | 102.53333333 | 683.56 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 310.00000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.992258 | 7.745967 | 0.387298 | 5.00000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 307.60000000 | 102.53333333 | 683.56 | 0.0001 |

j. Fraksi SbEA-10

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 362.20000000 | 120.73333333 | 160.98 | 0.0001 |
| Error | 16 | 12.00000000 | 0.75000000 | | |
| Total | 19 | 374.20000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.967932 | 20.14013 | 0.866025 | 4.30000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 362.20000000 | 120.73333333 | 160.98 | 0.0001 |

Lampiran 11. Hasil Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) Fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan hasil kromatografi kolom II

a. Fraksi SbEA-3.1

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 298.40000000 | 99.46666667 | 1989.33 | 0.0001 |
| Error | 16 | 0.80000000 | 0.05000000 | | |
| Total | 19 | 299.20000000 | | | |

| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| 0.997326 | 5.884389 | 0.223606 | 3.80000000 |

| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| P | 3 | 298.40000000 | 99.46666667 | 1989.33 | 0.0001 |

b. Fraksi SbEA-3.2

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 270.55000000 | 90.18333333 | 601.22 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 272.95000000 | | | |

| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| 0.991207 | 9.562922 | 0.387298 | 4.05000000 |

| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| P | 3 | 270.55000000 | 90.18333333 | 601.22 | 0.0001 |

c. Fraksi SbEA-3.3

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Model | 3 | 269.35000000 | 89.78333333 | 448.92 | 0.0001 |
| Error | 16 | 3.20000000 | 0.20000000 | | |
| Total | 19 | 272.55000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 9.617497 | 9.617497 | 0.447213 | 4.65000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 269.35000000 | 89.78333333 | 448.92 | 0.0001 |

d. Fraksi SbEA-3.4

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 299.80000000 | 99.93333333 | 799.47 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.00000000 | 0.12500000 | | |
| Total | 19 | 301.80000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.993373 | 9.065472 | 0.353553 | 3.90000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 299.80000000 | 99.93333333 | 799.47 | 0.0001 |

e. Fraksi SbEA-3.5

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 288.80000000 | 96.26666667 | 641.78 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 291.20000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.991758 | 6.246747 | 0.387298 | 6.20000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 288.80000000 | 96.26666667 | 641.78 | 0.0001 |

f. Fraksi SbEA-3.6

Prosedur Analisis Variansi

Variabel Terikat : Larva udang *Artemia salina* Leach

| | | | | | |
|-----------------|----|----------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Jumlah Kuadrat | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| Model | 3 | 278.55000000 | 92.85000000 | 619.00 | 0.0001 |
| Error | 16 | 2.40000000 | 0.15000000 | | |
| Total | 19 | 280.95000000 | | | |

| | | | |
|-----------|--------------------|-------------------------|-------------|
| R-Kuadrat | Koefisien variansi | Rata-rata Kuadrat Error | Y Rata-rata |
| 0.991458 | 6.978348 | 0.387298 | 5.55000000 |

| | | | | | |
|-----------------|----|--------------|-------------------|----------|--------|
| Sumber Variansi | DB | Anova SS | Rata-rata Kuadrat | F Hitung | Pr > F |
| P | 3 | 278.55000000 | 92.85000000 | 619.00 | 0.0001 |

Lampiran 12. Hasil Uji *Least Significant Different*(LSD) Fase etil asetat
kulit kayu bawang hutan

Prosedur Analisis Variansi

Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | Ulangan | Perlakuan |
|------------|-----------|---------|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| A | 9.6000 | 5 | Konst-100 bpj |
| B | 4.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| C | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

Lampiran 13. Hasil Uji *Least Significant Different*(LSD) Fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan hasil kromatografi kolom I

a. Fraksi SbEA-1

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 4.2000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 0.8000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

b. Fraksi SbEA-2

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 4.8000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 2.4000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

c. Fraksi SbEA-3

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| A | 9.6000 | 5 | Konst-100 bpj |
| B | 5.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| C | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

d. Fraksi SbEA-4

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 7.2000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 3.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

e. Fraksi SbEA-5

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 9.2000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 4.4000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

f. Fraksi SbEA-6

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 8.8000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 4.0000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

g. Fraksi SbEA-7

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275
 Nilai Kritis T= 2.12
 Beda Nyata Terkecil= 0.7031
 Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 9.4000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 3.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

h. Fraksi SbEA-8

Prosedur Analisis Variansi
 Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275
 Nilai Kritis T= 2.12
 Beda Nyata Terkecil= 0.7031
 Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 8.4000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 3.2000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

i. Fraksi SbEA-9

Prosedur Analisis Variansi
 Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275
 Nilai Kritis T= 2.12
 Beda Nyata Terkecil= 0.7031
 Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 7.4000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 2.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

j. Fraksi SbEA-10

Prosedur Analisis Variansi
 Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275
 Nilai Kritis T= 2.12
 Beda Nyata Terkecil= 0.7031
 Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 6.8000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 0.4000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

Lampiran 14. Hasil Uji *Least Significant Different*(LSD) Fraksi etil asetat kulit kayu bawang hutan hasil kromatografi kolom II

a. Fraksi SbEA-3.1

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 4.0000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 1.2000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

b. Fraksi SbEA-3.2

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 3.6000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 2.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

c. Fraksi SbEA-3.3

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 5.6000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 3.0000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

d. Fraksi SbEA-3.4

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 4.4000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 1.2000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

e. Fraksi SbEA-3.5

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 8.4000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 6.4000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

f. Fraksi SbEA-3.6

Prosedur Analisis Variansi
Uji T (LSD) untuk variabel: Y

Alfa= 0.05 DB= 16 MSE= 0.275

Nilai Kritis T= 2.12

Beda Nyata Terkecil= 0.7031

Rata-rata dengan huruf sama tidak berbeda nyata

| Kelompok T | Rata-rata | N | Perlakuan |
|------------|-----------|---|----------------|
| A | 10.0000 | 5 | Konst-1000 bpj |
| B | 7.6000 | 5 | Konst-100 bpj |
| C | 4.6000 | 5 | Konst-10 bpj |
| D | 0.0000 | 5 | Konst-0 bpj |

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Astriana Pertiwi. Dilahirkan di Jakarta pada tanggal 11 April 1989. Anak kedua dari empat bersaudara, pasangan Sukur Sukarya Mostavan, S.Sos dan Dra. Yuhartini. Penulis menyelesaikan pendidikan formal di TK Pertiwi tahun 1995, SDN Labuan 3 tahun 2001, SMPN 1 Labuan tahun 2004 dan SMAN 1 Pandeglang tahun 2007. Tahun 2007, penulis diterima sebagai mahasiswa Biologi FMIPA UNJ melalui jalur PMDK dan menjadi mahasiswa penerima beasiswa Nagao Natural Enviromental Foundation (NEF) pada tahun 2008 hingga tahun 2011.

Kegiatan yang pernah diikuti penulis selama masa kuliah antara lain Studi Ilmiah Biologi di Telaga Warna, Cibulao pada tahun 2008, panitia seminar lingkungan hidup pada tahun 2008, Panitia *Oceanorium Conservation and Education* (OCE) pada tahun 2009, panitia LDMPPL (Latihan Dasar Manejemen Penelitian Lapangan) pada tahun 2010. Pada tahun yang sama, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Lapangan di CA Cidaun dan melaksanakan Praktek Kerja Lapangan di Laboratorium Kimia Bahan Alam Bidang Bioproses PUSLIT Bioteknologi LIPI, Cibinong. Penulis aktif berorganisasi di KSP *Macaca*.

Selama kuliah, penulis pernah mengikuti beberapa seminar dan pelatihan, diantaranya pelatihan Basic Medical Support pada tahun 2008, pelatihan photography dan GIS pada tahun 2010, Pelatihan Asisten

Laboratorium Jurusan Biologi pada tahun 2010, Pelatihan Dasar Organisasi (PDO) pada tahun 2011, Bird Lecture pada tahun 2010 dan 2011, Seminar Ekologi dan Konservasi, Seminar International Biodiversiti pada tahun 2011 serta penulis juga pernah menjadi Asisten Dosen untuk mata kuliah Mikrobiologi selama 2 semester pada tahun 2010-2011.