

LAMPIRAN PENELITIAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman



INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG

SEKOLAH ILMU DAN TEKNOLOGI HAYATI

Jalan Ganesha 10 Bandung 40132, Telp: (022) 251 1575, 250 0258, Fax (022) 253 4107

e-mail : sith@itb.ac.id http://www.sith.itb.ac.id

Nomor : 670/11.CO2.2/PL/2019.
Hal : Determinasi tumbuhan

8 Februari 2019

Kepada Yth.
Ketua
Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
Jl. Soekarno Hatta No. 754
Bandung

Memperhatikan surat permintaan Saudara dalam surat No. 1311/WKI-S1/XI/2018 tanggal 1 November 2018 mengenai determinasi tumbuhan, dengan ini kami sampaikan bahwa setelah dilakukan determinasi oleh staf kami, sampel tumbuhan yang dibawa oleh Sdr. Dilla Nurul Fatimah (NPM : 13171013), adalah :

Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida (Dicots)
Anak kelas	:	Asteridae
Bangsa	:	Solanales
Nama suku / familia	:	Solanaceae
Nama jenis / species	:	<i>Solanum nigrum</i> L.
Sinonim	:	<i>Solanum humile</i> Lam.
Nama umum	:	Nightshade (Inggris), leunca (Indonesia).
Buku acuan	:	1. Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York. pp. Xiii – Xviii. 2. Backer, C.A. & Bakhuizen van den Brink, Jr., R.C. 1965. Flora of Java. Vol. II. N.V.P. Noordhoff – Groningen, the Netherland. pp. 471. 3. Flora of China Editorial Committee. 1994. Flora of China 17 (Verbenaceae through Solanaceae). In: Wu, C.Y., Raven, P.H., & Hong, D.Y. (eds.). Flora of China. Science Press & Missouri Botanical Garden Press, Beijing & St. Louis. pp. 1 – 378.

Demikian yang kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama yang diberikan, kami ucapkan terima kasih.



Tembusan:
Dekan SITH ITB, sebagai laporan.

Lampiran 2 Hasil Perhitungan Kadar Air Metode Gravimetri

Prinsip penetapan kadar air dengan metode gravimetri adalah berdasarkan penguapan air yang ada dalam sampel dengan jalan pemanasan sampai berat konstan. Pengurangan bobot yang terjadi merupakan kandungan air yang terdapat dalam sampel.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\%$$

Data yang didapat adalah :

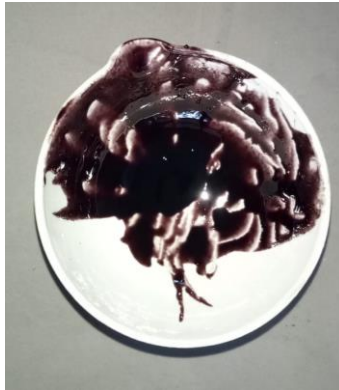
Bobot awal = 51,0379 gram

Bobot akhir = 50,0202 gram

sehingga % kadar air yang diperoleh sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air (\%)} &= \frac{\text{Bobot Awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% \\ &= \frac{51,0379 - 50,0202}{50,0202} \times 100\% \\ &= 1,994\% \sim 2\% \end{aligned}$$

**Lampiran 3 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Ranti Hitam
(*Solanum nigrum* L.)**



Hasil ekstrak etanol buah ranti hitam

Rendemen Ekstrak Etanol Buah Ranti Hitam

Berat serbuk simplisia buah ranti hitam = 1000 gram

Berat ekstrak etanol buah ranti hitam = 177,35 gram

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental didapat}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \\
 &= \frac{177,35}{1000} \times 100\% \\
 &= 17,74\%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 4 Pembuatan Fraksi Polar Buah Ranti Hitam
(*Solanum nigrum* L.)**



Hasil fraksi polar buah ranti hitam

Rendemen Fraksi Polar Buah Ranti Hitam

Berat ekstrak kental buah ranti hitam = 112 gram

Berat fraksi polar buah ranti hitam = 75,4506 gram

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat fraksi kental didapat}}{\text{Berat ekstrak kental}} \times 100 \\
 &= \frac{75,4506}{112} \times 100\% \\
 &= 67,37\%
 \end{aligned}$$

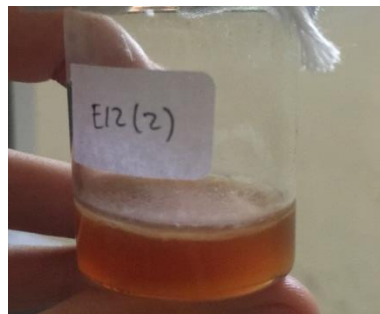
Lampiran 5 Fermentasi SCOBY Kombucha



Fermentasi SCOBY kombucha dengan media teh hijau



Fermentasi SCOBY kombucha dengan sari buah ranti hitam



Fermentasi SCOBY kombucha dengan fraksi polar buah ranti hitam

Lampiran 6 Hasil Perhitungan Persen Kadar Alkaloid Total

1. Kadar Alkaloid Total Sebelum Fermentasi

Berat fraksi = 5 gram (W)

Berat kertas saring = 1,65 gram (W₁)

Berat kertas saring + sampel = 4,0192 gram (W₂)

$$\begin{aligned}\% \text{ Alkaloid} &= \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\% \\ &= \frac{4,0192 - 1,65}{5} \times 100\% \\ &= 47,38 \%\end{aligned}$$

2. Kadar Alkaloid Total Setelah Fermentasi

Berat hasil fermentasi = 5 gram (W)

Berat kertas saring = 1,63 gram (W₁)

Berat kertas saring + sampel = 3,262 gram (W₂)

$$\begin{aligned}\% \text{ Alkaloid} &= \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\% \\ &= \frac{3,262 - 1,63}{5} \times 100\% \\ &= 32,64 \%\end{aligned}$$

Lampiran 7 Hasil Absorbansi Standar Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
30	0,299
40	0,326
50	0,379
60	0,476
70	0,505
80	0,571
90	0,624
100	0,717
110	0,781
120	0,860

Lampiran 8 Hasil Analisis Fenol Total



Proses inkubasi sampel untuk pengujian total kadar fenol

Data total fenol fraksi polar buah ranti hitam sebelum dan setelah fermentasi:

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	Kadar (mg GAE/g sampel)
Fraksi Polar Buah	2000	0,345	22,20
Ranti Hitam Sebelum	2000	0,353	22,80
Fermentasi	2000	0,371	24,14
	Rata - rata	0,356	$23,02 \pm 0,99$
Fraksi Polar Buah	10.000	0,232	2,75
Ranti Hitam Setelah	10.000	0,242	2,90
Fermentasi	10.000	0,236	2,81
	Rata – rata	0,266	$2,83 \pm 0,08$

Perhitungan:

1. Fraksi polar buah ranti hitam sebelum fermentasi

a. Sampel Ekuivalen

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{0,356 - 0,0475}{0,0067}$$

$$x = 45,06 \mu\text{g/mL}$$

b. Kadar Fenol

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Fenol} &= \frac{\text{Sampel ekivalen } (\mu\text{g/mL})}{\text{Bobot sampel}} \times \text{Vol. total} \\
 &= \frac{46,05 \mu\text{g/mL}}{50 \text{ mg}} \times 25 \text{ mL} \\
 &= 23,022 \text{ mg GAE/g sampel}
 \end{aligned}$$

2. Fraksi polar buah ranti hitam setelah fermentasi

a. Sampel Ekivalen

$$\begin{aligned}
 x &= \frac{y - a}{b} \\
 x &= \frac{0,237 - 0,0475}{0,0067} \\
 x &= 28,28 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

b. Kadar Fenol

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Fenol} &= \frac{\text{Sampel ekivalen } (\mu\text{g/mL})}{\text{Bobot sampel}} \times \text{Vol. total} \\
 &= \frac{28,8 \mu\text{g/mL}}{250 \text{ mg}} \times 25 \text{ mL} \\
 &= 2,83 \text{ mg GAE/g sampel}
 \end{aligned}$$

Lampiran 9 Hasil Perhitungan Analisis Total Asam Tertitrasi



Hasil titrasi analisis total asam dengan titik akhir titrasi berwarna merah muda

Data persentase TAT fraksi polar buah ranti hitam sebelum dan setelah fermentasi:

Sampel	Bobot	V NaOH (mL)			V NaOH (mL) rata-rata	% Asam asetat (b/v)
		I	II	III		
Fraksi polar buah ranti hitam sebelum fermentasi	10 g	0,3	0,4	0,4	0,367	0,538
Fraksi polar buah ranti hitam setelah fermentasi	10 g	5,6	5,7	5,7	5,667	8,312

Perhitungan Nilai Total Asam Tertitrasi:

Diketahui: BM Asam Asetat = 60,05
 N NaOH = 0,0977 N
 Faktor Pengenceran = 25x
 Volume sampel = 10 mL

$$\% \text{ TAT} = \frac{V \times N \times P \times BM}{\text{bobot sampel} \times 1000} \times 100\%$$

1. Fraksi Polar Buah Ranti Hitam

$$\begin{aligned} \% \text{ TAT} &= \frac{0,367 \text{ mL} \times 0,0977 \text{ N} \times 25 \times 60,05}{10 \times 1000} \times 100\% \\ &= 0,538\% \end{aligned}$$

2. Fraksi Polar Buah Ranti Hitam Hasil Fermentasi

$$\begin{aligned} \% \text{ TAT} &= \frac{5,667 \text{ mL} \times 0,0977 \text{ N} \times 25 \times 60,05}{10 \times 1000} \times 100\% \\ &= 8,312\% \end{aligned}$$

Lampiran 10 Hasil Perhitungan Kepadatan Sel

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{n}{4} \times P \times 10^4$$

Keterangan :

n = jumlah sel yang dihitung menggunakan hemositometer

P = Faktor pengenceran panenan sel terhadap *trypan blue*

4 = jumlah bilik hemositometer yang dihitung

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= \frac{59}{4} \times 2 \times 10^4 \\ &= 29,5 \times 10^4 \text{ sel/mL}\end{aligned}$$

Artinya dalam 1 mL mengandung $29,5 \times 10^4$ sel.

Jumlah *wellplate* yang digunakan sebanyak 3 *wellplate*, tiap sumuran yang boleh diisi hanya 93 sumuran dan tiap *plate* diisi 10.000 sel karena waktu inkubasi yang digunakan selama 72 jam sehingga jumlah suspensi sel yang dibutuhkan sebanyak:

$$\begin{aligned}\text{Suspensi sel yang dibutuhkan} &= \frac{279 \text{ well} \times 10^4}{29,5 \times 10^4} \\ &= 9.450 \mu\text{L suspensi sel}\end{aligned}$$

Untuk membuat suspensi sel dibutuhkan media komplit. Media komplit yang diisi tiap sumur sebanyak 200 μL sedangkan jumlah sumur tiap *plate* yang digunakan adalah 279 *well* dan *plate* yang digunakan sebanyak 3 *plate* dan suspensi sel yang digunakan sebanyak 9450 μL sehingga perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{Stok dibuat} = 57.000 \mu\text{L}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah medium yang dibutuhkan} &= 57.000 \mu\text{L} - 9450 \mu\text{L} \\ &= 47.550 \mu\text{L}\end{aligned}$$

Lampiran 11 Hasil Perhitungan Konsentrasi Fraksi Polar Buah Ranti Hitam dan Fraksi Polar Buah Ranti Hitam Hasil Fermentasi

- Ditimbang masing – masing sampel fraksi polar buah ranti hitam dan fraksi polar buah ranti hitam hasil fermentasi sebanyak 40 mg. Kemudian ditambahkan akuabides 0,5 mL dan DMSO 0,5 mL, divortex

$$\begin{aligned} 40 \text{ mg} / 1 \text{ mL} &= 40.000 \text{ } \mu\text{g} / 1000 \text{ } \mu\text{L} \\ &= 40.000 \text{ } \mu\text{g/mL} \text{ atau } 40.000 \text{ ppm (larutan induk).} \end{aligned}$$

- Dari larutan induk dibuat larutan 20.000 ppm dengan

$$\text{rumus : } V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Ket. : V_1 = Vol. yang akan diambil dari larutan induk (μL)

N_1 = Konsentrasi larutan induk ($\mu\text{g/mL}$)

V_2 = Total volume larutan yang akan dibuat (μL)

N_2 = Konsentrasi larutan yang diinginkan ($\mu\text{g/mL}$)

Maka :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 40.000 \text{ ppm} = 100 \text{ } \mu\text{L} \times 20.000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 50 \text{ } \mu\text{L} + 50 \text{ } \mu\text{L media komplit}$$

Kemudian dibuat 8 seri konsentrasi (1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm dan 15 ppm)

Hasil Perhitungan Konsentrasi Sampel Fraksi Polar Buah Ranti Hitam & Fraksi Polar Buah Ranti Hitam Hasil Fermentasi

Konsentrasi Larutan <i>Stock</i> (N ₁) (µg/mL)	Konsentrasi Larutan Sampel (N ₂) (µg/mL)	Volume yang digunakan (V ₁) (µL)	Total Volume Larutan yang dibuat (V ₂) (µL)
20.000	1000	75	1500
	750	525	
	500	350	
	250	175	
1000	100	70	700
	50	35	
	25	17,5	
	15	10,5	

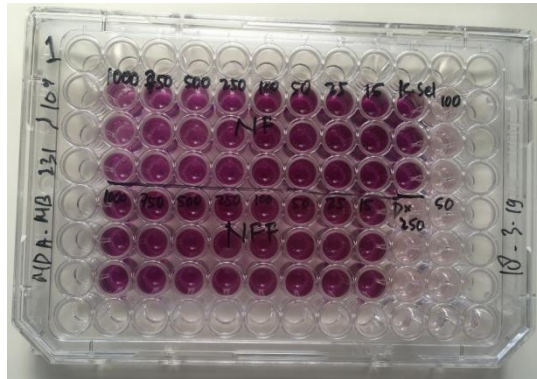
Perhitungan Konsentrasi Kontrol Positif (Doxorubicin)

- Dibuat larutan induk doxorubicin sebesar 1000 ppm atau 1000 µg/mL. Kemudian dibuat 8 seri konsentrasi, yaitu 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 20 ppm, 15 ppm, 10 ppm, dan 5 ppm.

Hasil Perhitungan Konsentrasi Kontrol Positif

Konsentrasi Larutan Induk (N ₁) (µg/mL)	Konsentrasi Larutan Sampel (N ₂) (µg/mL)	Volume yang digunakan (V ₁) (µL)	Total Volume Larutan yang dibuat (V ₂) (µL)
1000	250	175	700
	100	70	
	50	35	
	25	17,5	
	20	14	
	15	10,5	
	10	7	
	5	0,4	

Lampiran 12 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT



Hasil MTT fraksi polar buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.) dan hasil fermentasi serta kontrol positif Doxorubicin



ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) reader

Lampiran 13 Hasil Data Absorbansi ELISA *reader*

Data absorbansi fraksi polar pada lamda 550 nm

Konsentrasi (ppm)	1000	750	500	250	100	50	25	15	0	Blanko
Fraksi Polar	0,669	1,026	0,941	1,27	1,607	1,788	1,856	1,985	1,594	0,088
	0,58	0,663	0,798	1,07	1,33	1,739	1,753	1,84	1,672	0,091
	0,802	0,632	1,028	1,182	1,339	1,731	1,825	1,863	1,737	0,098

Data absorbansi hasil fermentasi pada lamda 550 nm

Konsentrasi (ppm)	1000	750	500	250	100	50	25	15	0	Blanko
Hasil Fermentasi	1,446	1,484	1,636	1,73	1,636	1,779	1,823	1,791	1,594	0,088
	1,41	1,548	1,534	1,632	1,612	1,777	1,763	1,893	1,672	0,091
	0,802	1,165	1,387	1,532	1,581	1,75	1,73	1,806	1,737	0,098

Data absorbansi doxorubicin pada lamda 550 nm

Konsentrasi (ppm)	250	100	50	25	20	15	10	5	0	Blanko
Kontrol Positif	0,062	0,069	0,036	0,028	0,135	0,131	0,755	1,063	1,594	0,088
	0,081	0,08	0,057	0,046	0,129	0,148	0,755	1,024	1,672	0,091
	0,04	0,054	0,04	0,018	0,111	0,123	0,736	1,083	1,737	0,098

