

**TOKSISITAS AKUT EKSTRAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*
King) PADA EMBRIO ZEBRAFISH (*Danio rerio*)**

SKRIPSI

Oleh:

SOFIYANTI

066120179



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2025**

**TOKSISITAS AKUT EKSTRAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*
King) PADA EMBRIO ZEBRAFISH (*Danio rerio*)**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

Oleh:

SOFIYANTI

066120179



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2025**

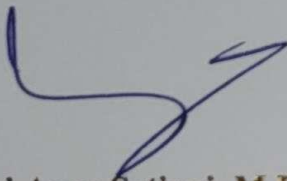
HALAMAN PENGESAHAN

JUDUL : Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Pada Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)
NAMA : Sofiyanti
NPM : 066120179
Program Studi : Farmasi

Hasil Penelitian ini telah disetujui dan disahkan

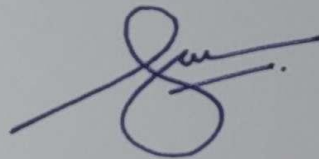
Bogor, Februari 2025

Pembimbing Pendamping



Dr. apt., Lusi Agus Setiani, M.Farm.

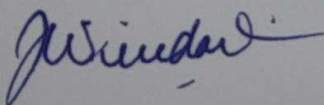
Pembimbing Utama



Sara Nurmala M.Farm.

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana diperguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila kemudian hari terdapat gugatan, Penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Februari 2025



Sofiyanti

**Surat Pelimpahan Skripsi, Sumber Informasi, Serta Kekayaan Intelektual
kepada Universitas Pakuan**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sofiyanti
NPM : 066120179
Judul Tugas Akhir : Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Pada Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi di atas adalah benar hasil karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun yang tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir pada skripsi ini.

Demikian pernyataan yang saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat gugatan, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Februari 2025



Sofiyanti

HALAMAN PERSEMBAHAN

Allhamdulillah, segala puji syukur bagi Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, taufiq, hidayah dan inayyah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat pada waktunya. Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua penulis yaitu Bapak Untung dan Ibu Yusnani, yang selalu mengajarkan akan nilai- nilai baik dalam kehidupan. Terima kasih sebesar-besarnya penulis sampaikan karena telah memberikan pendidikan terbaik untuk penulis, mendoakan, mendidik menjadi anak yang mandiri, memberikan semangat dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikannya sampai sarjana.
2. Ibu dosen pembimbing, Ibu Sara Nurmala., M. Farm, dan Ibu Dr. apt., Lusi Agus Setiani, M.Farm,. Terima kasih banyak atas bimbingan dan ilmu yang telah ibu berikan dalam menyelesaikan skripsi ini, terima kasih sudah meluangkan waktu di sela kesibukan ibu. Semoga ibu dan keluarga selalu dalam lindungan Allah SWT, senantiasa sehat selalu.
3. Kedua kakak kandung dan adik penulis yaitu kak azis, kak Har dan adit. Terima kasih banyak atas bantuan, dukungan dan arahan kepada penulis sehingga dapat bertahan sampai ditahap ini. Semoga dilimpahkan rezeki dan bahagia dunia akhirat.
4. Ayuk mika, yuk nita, adelia, aal, oza, naufal, attar selaku kakak ipar dan ponakan yang selalu memberikan dukungan dan mengirimkan makanan selama di perantauan. Penulis ucapkan terimakasih banyak sudah menjadi sosok kakak perempuan yang baik selama ini.
5. Teman seperjuangan yang selalu bersama selama masa perkuliahan dan penelitian, penulis ucapkan terima kasih banyak kepada Alfia Selfiyani karena sudah menjadi teman sekaligus keluarga selama di perantauan ini. Pramudita, hikma, caca, dhila, jihan, dinda. Terima kasih banyak sudah menjadi sahabat terbaik selama masa perkuliahan.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Sofiyanti merupakan mahasiswi dengan kelahiran Baturaja, 28 September 2002, yang merupakan putri ketiga dari pasangan Bapak Untung dan Ibu Yusnani. Penulis memulai pendidikan formalnya pada tahun 2006 di TK Purwodadi dan lulus pada tahun 2008. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Purwodadi dan lulus pada tahun 2014, lalu melanjutkan sekolah menengah pertama di SMPN 2 Belitang Mulya sampai tahun 2017 dan sekolah menengah akhir di SMAN 1 Semendawai Suku III sampai tahun 2020. Pada tahun yang sama yaitu tahun 2020, penulis melanjutkan pendidikan tingkat sarjana S1 di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor dan dinyatakan lulus pada tahun 2024. Penulis melakukan penelitian sebagai salah satu syarat tugas akhir yang berjudul “Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Pada Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)” untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm).

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah *Subhanahu Wa Taala* yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penyusunan skripsi ini dengan judul **“Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King.) Pada Embrio Zebrafish (*Danio rerio*)”**. Penyusunan skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi dari Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan. Selama melakukan penulisan dan penyusunan skripsi ini, penulis banyak memperoleh bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Sehubungan dengan hal tersebut, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada;

1. Ibu Sara Nurmala M.Farm., sebagai Pembimbing Utama dan Ibu Dr. apt., Lusi Agus Setiani M.Farm., sebagai Pembimbing Pendamping.
2. Bapak Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan Ibu apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
3. Seluruh staf dosen dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan
4. Kedua orang tua, kakak dan adik tercinta yang senantiasa mendukung dan mendoakan.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap karya ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Bogor, Februari 2025

Penulis

RINGKASAN

SOFIYANTI. 066120179. 2025. TOKSISITAS AKUT EKSTRAK BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla* King) PADA EMBRIO ZEBRAFISH (*Danio rerio*). Dibawah Bimbingan : Sara Nurmala dan Lusi Agus Setiani

Dalam kehidupan masyarakat, tanaman banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai jenis penyakit. Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional adalah biji mahoni. Berbagai penelitian telah melaporkan khasiat dari biji mahoni antara lain sebagai antihipertensi, dan antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kategori toksisitas *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) dari ekstrak biji mahoni menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity* (ZFET), mengidentifikasi gejala abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra setelah adanya paparan dari pemberian ekstrak biji mahoni, menentukan nilai *Effective concentration* 50 (EC₅₀) yang dapat menimbulkan abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra, dan kategori indeks teratogenik dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).

Hasil penelitian didapatkan nilai *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) ekstrak biji mahoni dengan waktu pengamatan selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam didapatkan sebesar 97,462 ppm, 88,843 ppm, 73,706 ppm dan 65,481 ppm yang masuk ke dalam rentang 10-100 ppm. dengan kategori *slightly toxic* atau sedikit toksik. Terdapat kelainan pada embrio ikan zebra ditandai dengan adanya abnormalitas seperti kelainan pada ekor, kelainan tulang belakang, pembengkakan (edema) pada kuning telur dan perikardium serta kematian pada embrio ikan zebra setelah terpapar ekstrak biji mahoni. Didapatkan nilai EC₅₀ ekstrak biji mahoni sebesar 162,1 ppm, 97,32 ppm, 80,81 ppm dan 79,98 ppm dengan kategori indeks teratogenik (TI) < 1 artinya termasuk kedalam kategori non teratogen.

Kata kunci ; Ekstrak Biji Mahoni, Toksisitas Akut, Embrio Ikan Zebra

SUMMARY

SOFIYANTI. 066120179. 2025. ACUTE TOXICITY OF MAHONI TREE EXTRACT (*Swietenia macrophylla* King) ON ZEBRAFISH EMBRYOS (*Danio rerio*). Under the Guidance of: Sara Nurmala and Lusi Agus Setiani

In people's lives, plants are widely used as traditional medicine for the treatment of various types of diseases. One of the plants that have been used by the community as traditional medicine is mahogany seeds. Various studies have reported the efficacy of mahogany seeds, among others, as antidiabetic, and anticancer.

This study aims to determine the toxicity category of Lethal Concentration 50 (LC₅₀) of mahogany seed extract using the Zebrafish Embryo Acute Toxicity (ZFET) method, identify symptoms of abnormalities in the morphology of zebrafish embryos after exposure from the administration of mahogany seed extract, determine the Effective concentration 50 (EC₅₀) value that can cause abnormalities in the morphology of zebrafish embryos, and determine the teratogenic index category of mahogany seed extract (*Swietenia macrophylla* King).

The results showed that the Lethal Concentration 50 (LC₅₀) value of mahogany seed extract with observation time for 24 hours, 48 hours, 72 hours, and 96 hours was obtained at 97.462 ppm, 88.843 ppm, 73.706 ppm, and 65.481 ppm which fell into the range of 10-100 µg/mL (ppm) with the category slightly toxic or slightly toxic. There are abnormalities in zebrafish embryos characterized by abnormalities such as abnormalities in the tail, spinal abnormalities, swelling (edema) of the yolk and pericardium, and death in zebrafish embryos after exposure to mahogany seed extract. The EC₅₀ value of mahogany seed extract is 162.1 ppm, 97.32 ppm, 80.81 ppm, and 79.98 ppm which can cause abnormalities in zebrafish embryos with a teratogenic index (TI) category < 1, meaning it is included in the non-teratogenic category.

Keywords; Extract Of Mahogany Seeds, Acute Toxicity, Zebrafish Embryos.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR RUMUS	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tumbuhan Mahoni	4
2.1.1 Deskripsi Biji Mahoni.....	4
2.1.2 Kandungan Biji Mahoni.....	5
2.1.3 Manfaat Biji Mahoni.....	6
2.2 Ekstraksi	6
2.2.1 Metode Ekstraksi	6
2.3 Pelarut.....	7
2.3.1 Etanol.....	7
2.4 Uji Toksisitas.....	7

2.4.1	<i>Lethal Concentration 50</i>	9
2.4.2	<i>Effective Concentration 50</i>	10
2.5	Klasifikasi dan Morfologi Ikan Zebra	10
2.6	Tahapan Perkembangan Embrio Ikan Zebra	12
2.7	Prinsip Pengujian Uji Toksisitas Akut Embrio Ikan Zebra	14
BAB III METODE PENELITIAN		14
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2	Alat dan Bahan	14
3.2.1	Alat	14
3.2.2	Bahan	14
3.3	Metode Penelitian	14
3.3.1	Kaji Etik	14
3.3.2	Determinasi Tanaman	15
3.3.3	Pembuatan Simplisia Biji Mahoni	15
3.3.4	Pembuatan Ekstrak Biji Mahoni	15
3.4	Pengujian Mutu Simplisia	16
3.5	Pengujian Fitokimia	17
3.6	Uji Toksisitas Akut	18
3.6.1	Pembuatan Larutan Kontrol	18
3.6.2	Penyeleksian Embrio Ikan Zebra	19
3.6.3	Uji Toksisitas Akut Pada Embrio Ikan Zebra	19
3.6.4	Analisis Data	21
3.6.5	Perhitungan Nilai Indeks Teratogenik	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		23
4.1	Hasil Kaji Etik	23
4.2	Hasil Determinasi Biji Mahoni	23
4.3	Hasil Pembuatan Simplisia dan Daun Ekstrak Biji Mahoni	23
4.4	Hasil Uji Mutu Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni	25
4.4.1	Penetapan Kadar Air	25
4.4.2	Penetapan Kadar Abu	26
4.5	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Mahoni	26

4.6 Hasil Uji Toksisitas Terhadap Embrio Ikan Zebra.....	29
4.6.1 Uji Pendahuluan.....	29
4.6.2 Uji Lanjut.....	30
4.7 Hasil Identifikasi Abnormalitas pada Embrio Ikan Zebra.....	34
4.8 Hasil Nilai <i>Effective Concentration</i> 50.....	38
4.9 Hasil Indeks Teratogenik.....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon Mahoni	4
2. Biji mahoni.....	5
3. Ikan Zebra (<i>Danio rerio</i>).....	10
4. Perkembangan Normal Embrio Ikan Zebra	13
5. Morfologi Embrio Ikan Zebra Normal pada 72 hpf.....	20
6. Morfologi dari Ikan Zebra Normal	20
7. Kelainan Morfologi dari Embrio Ikan Zebra dan Ikan Zebra	21
8. Serbuk Simplisia Biji Mahoni.....	24
9. Embrio Ikan Zebra Berusia 8 Jam dengan Perbesaran 40x.....	30
10. Parameter Kematian pada Embrio Ikan Zebra	32
11. Jenis Abnormalitas Pada Embrio Ikan Zebra Setelah Pemaparan	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kriteria Toksisitas Akut Berdasarkan <i>Fish and Wildlife Service</i>	10
2. Tabel Probit	22
3. Hasil Uji Organoleptik Serbuk dan Ekstrak Biji Mahoni	24
4. Penetapan Kadar Air Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni.....	25
5. Penetapan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni	26
6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Mahoni	27
7. Persentase Kematian Embrio Ikan Zebra Hari Ke 1-4.....	29
8. Persentase Kematian Embrio Ikan Zebra Hari Ke 1-4.....	32
9. Nilai LC ₅₀ Ekstrak Biji Mahoni (ppm)	33
10. Nilai EC ₅₀ Ekstrak Biji Mahoni	38
11. Nilai Indeks Teratogenik Ekstrak Biji Mahoni (ppm)	39

DAFTAR RUMUS

Rumus	Halaman
1. Rumus Rendemen Ekstrak.....	15
2. Rumus Kadar Air	16
3. Rumus Kadar Abu.....	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Alur Penelitian.....	49
2. Surat Determinasi.....	50
3. Surat Kaji Etik.....	51
4. Perhitungan Rendemen Serbuk Simplisia dan Ekstrak.....	52
5. Hasil dan Perhitungan Kadar Air Simplisia dan Ekstrak.....	53
6. Hasil dan Perhitungan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak	54
7. Pembuatan Simplisia dan Ekstrak.....	55
8. Skrining Fitokimia	56
9. Perhitungan Pembuatan dan Pengenceran Konsentrasi	57
10. Perhitungan Nilai LC_{50}	60
11. Hasil Analisis Malformasi terhadap Embrio Ikan Zebra	71
12. Perhitungan EC_{50}	72
13. Analisis Data Pengaruh Waktu Terhadap Nilai LC_{50} Dengan Menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK)	76
14. Dokumentasi Uji Toksisitas Akut	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kehidupan masyarakat, tanaman banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai jenis penyakit. Sejak dahulu pemanfaatan tanaman sebagai obat diminati oleh masyarakat desa, hal ini ditandai dengan banyaknya tempat pengobatan tradisional dan banyak beredar produk obat tradisional di tengah-tengah masyarakat yang biasa disebut herbal (Harefa, 2020). Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional adalah biji mahoni (Situmorang dkk., 2022). Banyak anggapan bahwa obat tradisional aman dikonsumsi namun penggunaan yang tidak tepat karena kurangnya informasi maupun anggapan yang keliru di masyarakat dapat menyebabkan hasil yang tidak diinginkan (Hilmarni dkk., 2015). Sehingga diperlukan uji keamanan dalam penggunaan obat tradisional yaitu uji toksisitas untuk mengetahui keamanan penggunaan obat tradisional (Jubaidah dkk., 2021) dan untuk mengetahui adanya efek toksik suatu zat dari sediaan uji (BPOM RI, 2022).

Biji mahoni telah digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit hipertensi, diabetes dan malaria (Hartati dkk., 2013). Biji mahoni memiliki berbagai khasiat farmakologi antara lain biji mahoni dimanfaatkan untuk beberapa terapi sebagai antibakteri dan antidiabetes (Sinurat dkk., 2023). Penelitian lain yang dilakukan oleh Andika dkk., (2023) melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq) dosis 200 mg/kgbb menunjukkan dosis paling efektif dalam menurunkan tekanan darah pada tikus putih jantan galur wistar.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada biji mahoni adalah golongan flavonoid yaitu flavon atau flavonol yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (Winata & Putri, 2019). Senyawa alkaloid dan terpenoid yang terkandung pada biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Tohir *et al.*,

2020). Pada penelitian Handayani dkk., (2019) melaporkan bahwa ekstrak etanol biji mahoni dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapatkan nilai LC_{50} sebesar 0,95 ppm dengan tingkat toksisitas sangat toksik terhadap larva udang (*Artemia salina* L.). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) tidak dilakukan pengamatan terhadap morfologi, fisiologi pada larva *Artemia salina* yang terpapar bahan uji sehingga diperlukan hewan uji lain untuk melihat efek yang timbul terhadap morfologi dan fisiologi dengan menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test*.

Penelitian uji toksisitas akut menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity* (ZFET) dengan menggunakan embrio ikan zebra sebagai hewan uji. Uji toksisitas akut terlebih dahulu dilakukan untuk mengetahui efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian larutan uji (BPOM, 2020). Menentukan *Lethal concentration 50* (LC_{50}) dan *Effective concentration 50* (EC_{50}) sebagai indikator toksisitas pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Nilai *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) merupakan parameter toksisitas akut yang menjadi indeks untuk menilai keamanan herbal yang dilakukan pada hewan coba akuatik (Purnomo, 2022). Nilai *Effective concentration 50* (EC_{50}) sebagai indikator abnormalitas dengan mengamati kelainan pada morfologi ikan zebra (*Danio rerio*), serta menentukan Indeks Teratogenik sebagai perbandingan konsentrasi yang mematikan pada 50% hewan uji dibagi dengan konsentrasi yang menimbulkan efek abnormalitas pada 50% hewan uji (Lee *et al.*, 2013). Beberapa kelebihan pemanfaatan ikan zebra sebagai model hewan uji terkait dengan ukuran, pemeliharaan, morfologinya dan mudah dalam pengamatannya karena memiliki tubuh yang transparan sehingga memudahkan peneliti untuk mengamati abnormalitas yang terjadi selama penelitian (Anggara dkk., 2021). Embrio ikan zebra memiliki kesamaan genetik dan fisiologis dengan mamalia serta 70% genom ikan zebra mirip dengan manusia (Howe *et al.*, 2014). Berdasarkan latar belakang tersebut dilakukan penelitian mengenai toksisitas akut ekstrak biji mahoni menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity* (ZFET) sehingga diharapkan dapat memberikan informasi terkait keamanan dari penggunaan ekstrak biji mahoni jika dikonsumsi sebagai obat tradisional.

1.2 Tujuan

1. Menentukan kategori toksisitas *Lethal Concentration* 50 (LC_{50}) dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King.) menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity* (ZFET).
2. Mengidentifikasi gejala abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra setelah adanya paparan dari pemberian ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).
3. Menentukan nilai *Effective concentration* 50 (EC_{50}) yang dapat menimbulkan abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra setelah adanya paparan dari pemberian ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).
4. Menentukan kategori indeks teratogenik dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).

1.3 Hipotesis

1. Didapatkan kategori toksisitas *Lethal Concentration* 50 (LC_{50}) dari ekstrak biji mahoni yang dapat menyebabkan 50% embrio mengalami kematian.
2. Didapatkan terjadinya abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra setelah terpapar ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King.).
3. Didapatkan nilai *Effective concentration* 50 (EC_{50}) dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) dapat menimbulkan abnormalitas pada morfologi embrio ikan zebra.
4. Didapatkan kategori indeks teratogen dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Mahoni

Mahoni tergolong ke dalam famili *Meliaceae* dan terdapat dua jenis spesies yang cukup dikenal yaitu mahoni dengan daun lebar *Swietenia macrophylla* dan *Swietenia mahagoni* mahoni dengan daun sempit. Tinggi tanaman mahoni dapat mencapai lebih dari 100 cm, daun berwarna hijau tua dengan panjang 10-30 cm. Terdapat bunga yang tumbuh di tangkai dan buah mahoni yang berbentuk seperti kapsul. Tanaman mahoni merupakan tanaman tahunan, berakar tunggal, berbatang bulat, percabangan banyak dan kayu serta memiliki getah (Ahmad dkk., 2019). Menurut Martono & Rahayu, (2017), taksonomi tumbuhan mahoni (*Swietenia macrophylla* King) diklasifikasikan ke dalam famili *Meliaceae* dengan genus *Swietenia* dan spesies (*Swietenia macrophylla* King).

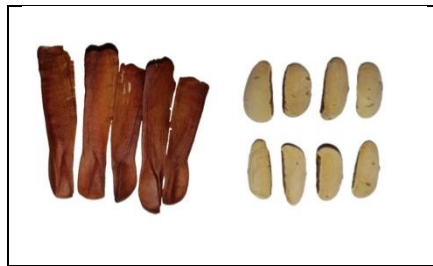


Gambar 1. Pohon Mahoni
Sumber: (Gilman *et al.*, 2018)

2.1.1 Deskripsi Biji Mahoni

Buah mahoni berbentuk bulat telur, memiliki lekukan dan berwarna coklat. Bagian luar buah mengeras dengan ketebalan 5-7 mm, di bagian tengah mengeras seperti kayu dan berbentuk kolom dengan sudut yang memanjang menuju ujung. Buah akan pecah dari ujung saat buah matang lalu kering. Di bagian dalam buah mahoni terdapat biji yang berbentuk pipih

dengan ujung agak tebal yang biasanya dalam satu buah terdapat 35-45 biji mahoni (Winata & Putri, 2019). Buah mahoni berbentuk bulat seperti telur dengan jumlah lekukan berjumlah lima dan termasuk ke dalam tipe buah kotak yang berwarna coklat. Di dalam buah mahoni terdapat kulit biji mahoni berwarna coklat kehitaman berbentuk pipih dengan ujung tebal. Pada bagian luar buah mahoni sangat keras dan memiliki tebal berkisar 5-7 mm, pada bagian tengah buah keras seperti kayu dengan bentuk memanjang dengan 5 sudut yang menuju ujung. Buah matang akan pecah mulai dari ujung buah (Alfayed & Riefani, 2022).



Gambar 2. Biji mahoni
Sumber: (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Kandungan Biji Mahoni

Biji mahoni mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan terpenoid dengan kandungan terbesar pada biji mahoni adalah dari golongan flavonoid. Flavon atau flavonol merupakan golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (Winata & Putri, 2019). Didalam biji mahoni terdapat beberapa golongan senyawa yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, terpenoid dan *swietenine* (Siti Winda Munawwaroh dkk., 2022). Berdasarkan penelitian Tohir *et al.*, (2020) kandungan senyawa alkaloid dan triterpenoid yang terdapat pada biji mahoni merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Biji mahoni memiliki kandungan seperti kumarin, ester asam lemak, steroid, polifenol, essential oil, tanin dan flavonoid. Kandungan senyawa tersebut dimanfaatkan untuk beberapa terapi seperti antibakteri, antidiabetes, antioksidan, antidiare dan antiinflamasi (Eid *et al.*, 2015).

2.1.3 Manfaat Biji Mahoni

Biji mahoni memiliki efektivitas sebagai antidiabetes karena terdapat senyawa aktif yang berperan sebagai antidiabetes yaitu *swietenine* (Siti Winda Munawwaroh dkk., 2022). Manfaat lain dari biji mahoni adalah untuk menurunkan tekanan darah pada penderita hipertensi, meningkatkan nafsu makan, rematik dan demam (E. K. Yanti & Putri, 2018). Biji mahoni dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya penyakit hipertensi, rematik, demam, masuk angin, eksim dan menambah nafsu makan. Biji mahoni juga berpotensi untuk mengobati penyakit kanker (Maslahat dkk., 2012).

2.2 Ekstraksi

Pembuatan ekstrak (ekstraksi) adalah suatu proses penyarian suatu senyawa aktif dari suatu bahan atau simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok. Proses ekstraksi bisa dilakukan dengan berbagai metode, sesuai dengan sifat dan tujuannya (Zulharmita dkk., 2012). Menurut Anggista dkk., (2019) beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi adalah suhu operasi, kecepatan pengadukan, ukuran, bentuk, dan kondisi partikel padat, jenis dan jumlah pelarut. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi yaitu maserasi, refluks, sokhlet, ultrasonic bath, dan *microwave assisted extraction* (MAE).

2.2.1 Metode Ekstraksi

a. Metode Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil. Metode ekstraksi maserasi merupakan metode konvensional dengan cara dingin yang memiliki keuntungan utama yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam yang diekstrak tidak akan rusak (Mawarda dkk., 2020). Prinsip kerja maserasi adalah melarutkan zat aktif melalui pelarut. Pelarut akan bekerja dan masuk ke dalam dinding sel ekstrak dan masuk kedalam rongga sel untuk menarik

zat-zat aktif yang ada didalamnya. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel karena perbedaan tekanan antara luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa dkk., 2019).

2.3 Pelarut

Salah satu faktor penting yang menentukan dalam proses ekstraksi adalah pelarut sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih kedua bahan tidak boleh berdekatan (Arsa & Achmad, 2020).

2.3.1 Etanol

Etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol adalah pelarut yang volatile bersifat semipolar karena dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar. Gugus $-OH$ polar dan $-CH_3CH_2$ bersifat nonpolar. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut pada proses ekstraksi dikarenakan etanol dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Selain itu etanol merupakan satu-satunya jenis pelarut yang aman atau apabila dikonsumsi tidak bersifat racun karena rendahnya tingkat toksisitas dibanding pelarut lain dan tingkat polaritas etanol 70% lebih tinggi dibandingkan etanol 96% (Hasanah & Novian, 2020).

2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat. Bahaya akibat pemaparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia yang umumnya informasi tersebut dapat diperoleh dari percobaan dengan hewan uji (Fauzy Arif Budiman, 2021).

Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Uji toksisitas suatu senyawa dibagi menjadi dua golongan yaitu uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum meliputi pengujian uji toksisitas akut, subkronik dan kronik (Farisi dkk., 2015). Menurut BPOM , (2020) terdapat 3 pengujian toksisitas yaitu uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis.

Uji toksisitas akut merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap efek toksik dan kematian. Pengamatan terhadap hewan uji selama pemberian sediaan uji dilakukan setiap hari untuk melihat toksisitas yang terdapat pada makropatologi dan hispatologi hewan uji yang mengalami kematian. Uji toksisitas pada hewan coba dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Pengujian toksisitas umumnya menggunakan tiga dosis (rendah, sedang dan tinggi) serta menggunakan kontrol untuk membandingkan efek dari kelompok perlakuan (Robinson *et al.*, 2009).

Uji toksisitas subkronis merupakan pengujian terhadap dosis berulang dari suatu sediaan uji untuk mengetahui efek toksik selama tidak lebih dari 10% umur hewan uji. Uji toksisitas subkronis memiliki prinsip yaitu pengamatan terhadap efek toksik dan kematian dari beberapa kelompok hewan uji yang telah diberikan beberapa tingkat dosis dimana setiap dosis akan diberikan per kelompok hewan uji dalam kurung waktu 3 bulan dan perlu dilihat efek tertunda atau efek *reversible* dengan penambahan kelompok yang dilakukan pengamatan 30 hari setelah pengamatan selama 3 bulan. Pengujian toksisitas subkronis bertujuan untuk melihat efek toksik yang tidak

terlihat dalam uji toksisitas akut, menetapkan informasi dosis yang tidak terlihat dalam uji toksisitas akut.

Uji toksisitas kronik merupakan pengujian terhadap dosis berulang dari suatu sediaan uji untuk mengetahui efek toksik sampai seluruh umur hewan uji. Toksisitas kronis memiliki prinsip yaitu pengamatan terhadap efek toksik dan kematian dari beberapa kelompok hewan uji yang telah diberikan beberapa tingkatan dosis dimana setiap dosis akan diberikan perkelompok hewan uji dengan waktu tidak kurang dari 12 bulan dengan tujuan uji toksisitas kronik ialah untuk mengetahui efek toksik dari pemberian sediaan uji yang berulang dan dalam waktu tidak kurang dari 12 bulan dan menentukan batasan dosis yang tidak berifat toksik, sehingga didapatkan data toksisitas yang terdiri dari efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan hispatologi.

Pengujian toksisitas memerlukan *Median Lethal Concentration* (LC_{50}) untuk mengetahui batas aman dari suatu sediaan uji dalam bentuk larutan. LC_{50} berfungsi untuk mengukur kepekaan dan potensi zat toksik terhadap makhluk hidup, semakin tinggi nilai LC_{50} maka semakin besar konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan 50% kematian dari hewan uji (Sadeghi & Peery, 2018).

2.4.1 Lethal Concentration 50

Toksisitas suatu senyawa diukur menggunakan dua indikator yaitu *Median Lethal Concentration* (LC_{50}) dan *Median Effective Concentration* (EC_{50}). Pengujian toksisitas memerlukan *Median Lethal Concentration* (LC_{50}) untuk mengetahui batas aman dari suatu sediaan uji dalam bentuk larutan (Sadeghi & Peery, 2018). Nilai LC_{50} menunjukkan derajat toksisitas serta dosis yang mampu menimbulkan 50% kematian hewan uji yang digunakan (Purnomo, 2022). Nilai LC_{50} merupakan nilai konsentrasi suatu larutan uji yang dapat menyebabkan 50% organisme uji. Nilai LC_{50} diperoleh digunakan untuk mengetahui tingkat konsentrasi senyawa uji pada embrio ikan zebra (Ansori, 2020).

Tabel 1. Kriteria Toksisitas Akut Berdasarkan *Fish and Wildlife Service* (Jonson & Finley, 1980)

Tingkat Toksisitas	LC50-96 jam ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Super toxic</i>	0,01-0,1
<i>Highly toxic</i>	0,1-1
<i>Moderately toxic</i>	1-10
<i>Slightly toxic</i>	10-100
<i>Practically non-toxic</i>	100-1000
<i>Relatively harmless</i>	>1000

2.4.2 Effective Concentration 50

Nilai EC_{50} merupakan konsentrasi suatu bahan uji yang diperlukan untuk menghasilkan efek tertentu pada 50% populasi uji dalam waktu tertentu yang dimana *Effective Concentration 50* (EC_{50}) dimodifikasi untuk melihat gejala abnormalitas pada 50% populasi atau konsentrasi suatu senyawa uji yang dapat menyebabkan abnormalitas pada 50% embrio ikan zebra (Lee *et al.*, 2013). Beberapa indikator abnormalitas pada embrio ikan zebra yaitu teratogenesis didasarkan pada 16 parameter fenotip yaitu edema jantung, pigmentasi, panjang badan, ukuran mata, ukuran kuning telur, edema kantung kuning telur, cacat vesikel otik, cacat otolit, cacat sumbu tubuh, keterlambatan perkembangan, pembengkokan ekor, skoliosis, tidak adanya sirip lateral, rasio penetasan, malformasi rahang bawah dan nekrosis jaringan (Jarque *et al.*, 2020).

2.5 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Zebra



Gambar 3. Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Sumber : (Avdesh *et al.*, 2012)

Keterangan : (A) Ikan zebra jantan; (B) Ikan zebra betina

Ikan Zebra, *Danio rerio* dahulu (*Brachydanio rerio*) merupakan ikan air tawar kecil dengan panjang tubuh standar 4 cm dari mulut ikan hingga pangkal sirip ekor. Ikan ini asli Asia Selatan termasuk India, Bangladesh, Pakistan, Nepal, dan Myanmar, tempat hidup ikan zebra berada di berbagai perairan terutama di kolam yang dangkal dan tenang, sungai yang berarus lambat, bahkan sawah. *Zebrafish* pertama kali dicatat oleh Francis Hamilton pada tahun 1822, dan secara biologis masuk ke dalam Famili *Cyprinidae* dari Ordo *Cypriniformes* ikan ini dinamakan *Zebrafish* karena memiliki beberapa garis horizontal di setiap sisi tubuhnya seperti zebra. Di habitat aslinya, ikan zebra lebih menyukai daerah dengan vegetasi yang menjorong, dan sebagai spesies omnivore, memakan berbagai macam makanan seperti zooplankton, serangga kecil, alga dan bahan tanaman lainnya. Di laboratorium, ikan zebra sering diberi makan larva (dua minggu pertama setelah menetas) dan artemia atau udang air asin pada tahap dewasa. Tergantung pada kondisinya umur ikan zebra berkisar antara 3 hingga 5 tahun (Ge, 2018).

Ikan zebra dewasa biasanya memiliki panjang 2-3 cm bertelur hingga beberapa ratus telur setiap kali pemijahan. Embrio ikan zebra berkembang sangat cepat, menetas setelah sekitar 50 jam dalam kondisi terkendali, dan larva mereka mulai makan pada hari ke 5. Ikan zebra bersifat *eksoterm* dan biasanya dibudidayakan mulai dari suhu 18°C hingga lebih dari 38°C (Clark & Ekker, 2013). Embrio ikan zebra banyak digunakan dalam penelitian, hal ini berkaitan dengan sifat fisiologis dan ekotoksikologi dari spesies ini.

Keuntungan menggunakan ikan zebra karena ikan zebra ukurannya kecil, mudah beradaptasi dengan di lingkungan yang berbeda, dan dapat menghasilkan telur dalam jumlah yang banyak. Pada embrio ikan zebra denyut jantung normal mendekati denyut jantung manusia yaitu 120-170 kali per menit (Karolina Afriyani Kowan dkk., 2015). Pemanfaatan ikan zebra sebagai model hewan uji menggunakan metode *Zebrafish Embryo Acute Toxicity* memiliki beberapa kelebihan antara lain murah dan lebih mudah karena didapatkan melalui proses *breeding* ikan zebra dewasa dan memiliki

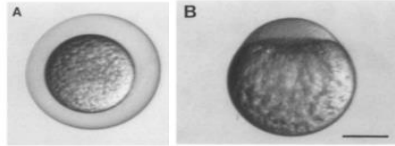
sensitivitas yang lebih baik karena kesamaan genetik embrio yang mirip dengan manusia sebesar 70-85% (Wijaya, 2020).

2.6 Tahapan Perkembangan Embrio Ikan Zebra

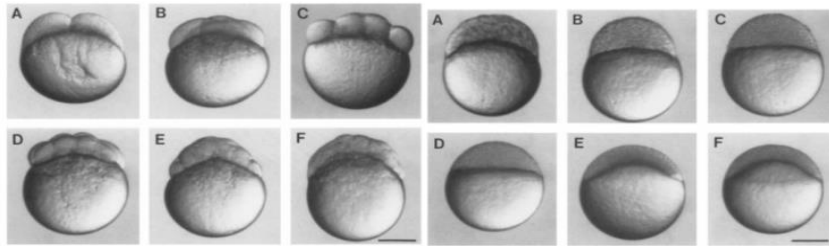
Tahapan perkembangan embrio ikan zebra menurut Kimmel *et al.*, (1995), terdapat 6 tahapan yaitu tahapan zigot dimana embrio yang baru difertilisasi melalui siklus pertama zigot pada jam 0-0,75 setelah fertilisasi ditandai dengan terjadinya pembelahan sel (*cleavage*) secara terus-menerus hingga menuju fase *blastula* dimana sel-sel akan melakukan pembelahan secara aktif. Pada fase *blastula* embrio mulai berdiferensiasi membentuk organ-organ tertentu seperti saluran pencernaan dan notokorda. Fase *gastrula*, pada tahap ini embrio akan masuk tahap *transisi mid blastula* (MBT) dengan mulai terbentuknya lapisan kuning telur (*yolk*) dan *epiboly* akan mulai terlihat. Pada tahap ini, hampir seluruh permukaan kuning telur akan tertutup oleh blastoderm.

Periode selanjutnya yaitu segmentasi saat embrio berusia 10-24 jam. Fase segmentasi, pada fase ini akan somit, primordia, neuromer akan berkembang dan ekor akan muncul paling awal. Tahap perkembangan selanjutnya yaitu organogenesis atau tahap tahapan pra penetasan meliputi fase *pharyngula*, embrio masuk ke tahap dimana tubuh embrio akan melurus, kuning telur (*yolk*), sirkulasi, pigmentasi dan sirip akan mulai berkembang, fase *hatching* atau fase dimana terjadi penyelesaian morfogenesis dengan cepat, sistem organ, perkembangan kepala, dan terjadi penetasan. Pada tahap ini telur akan menetas akibat terjadinya penipisan lapisan *chorion*, sehingga embrio ikan zebra akan keluar dari cangkang. Embrio ikan zebra dengan usia 48 jam hingga 72 jam akan menetas dan memasuki periode *early larval* dimana morfologi dari ikan zebra sudah sempurna dan memiliki panjang sekitar 3,7 mm. Tahap akhir dari organogenesis yaitu embrio akan menetas menjadi larva. Berikut ini merupakan tahap-tahap perkembangan embrio ikan zebra (Kimmel *et al.*, 1995)

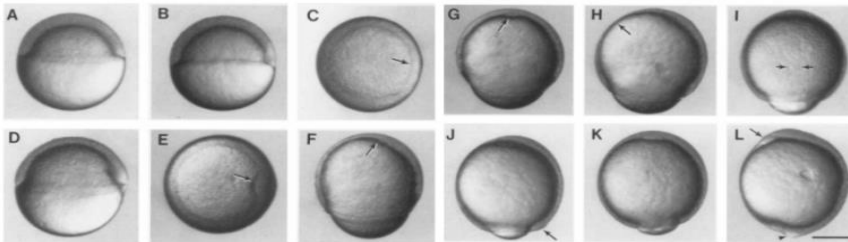
Fase zigot (0 jam)



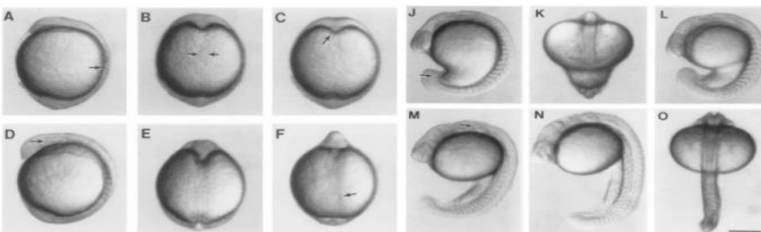
Fase cleavage (0,75 – 2 jam) dan fase blastula (2,25 – 4,7 jam)



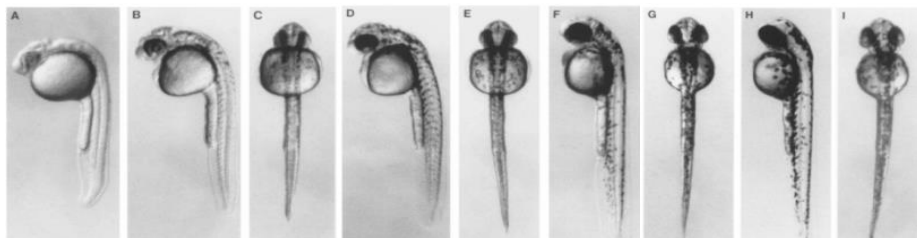
Fase gastrula (5,3 – 10 jam)



Fase segmentasi (10 – 24 jam)



Fase pharyngula (24 – 48 jam) dan fase hatching (48 – 72 jam)



Gambar 4. Perkembangan Normal Embrio Ikan Zebra

Sumber: (Kimmel *et al.*, 1995)

2.7 Prinsip Pengujian Uji Toksisitas Akut Embrio Ikan Zebra

Prinsip uji toksisitas akut menggunakan acuan OECD 236 pada embrio ikan zebra yaitu telur ikan zebra yang baru dibuahi kemudian diberikan paparan berupa larutan uji selama 96 jam yang diamati setiap 24 jam. Toksisitas akut ditentukan berdasarkan indikator kematian dari 4 parameter yang diamati tanda-tanda kematiannya yaitu:

1. Koagulasi Embrio

Embrio yang mengalami koagulasi dilihat ketika berada di bawah mikroskop ditandai dengan embrio berwarna putih susu dan terlihat gelap ketika dilihat dibawah mikroskop.

2. Pembentukan Somit

Perkembangan normal embrio dapat terlihat pembentukan somit setelah 24 jam proses fertilisasi. Somit merupakan *masa mesoderm* pada tahap perkembangan embrio vertebrata yang didistribusikan secara lateral ke tabung saraf yang akan mengembangkan dermis (*dermatome*), otot skeletal (*myotome*) dan tulang belakang (*sclerotome*). Embrio yang tidak mengalami proses pembentukan somit setelah 24 jam maka akan mengalami keterlambatan pertumbuhan sehingga embrio yang tidak terbentuk somitnya setelah 48 jam dianggap mati.

3. Lepasnya *tail-bulb* dari *yolk*

Setelah terjadi pemanjangan posterior dari tubuh embrionik dapat diamati pelepasan ekor dari kuning telurnya. Hal ini dapat diamati setelah 24 jam proses fertilisasi. Apabila setelah 24 jam tidak terjadi pelepasan *tail-bulb* dari *yolk*, embrio dinyatakan tidak mengalami kematian.

4. Detak jantung embrio

Detak jantung embrio ikan zebra dapat diamati setelah 48 jam proses fertilisasi. Apabila setelah 48 jam proses fertilisasi tidak terlihat adanya detak jantung embrio ikan zebra menunjukkan bahwa embrio mengalami kematian.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juli 2024 di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *aluminium foil* (Klin Pak®), akuarium (GEX®), aerator (Amara®), beaker glass (Pyrex®), blender (Panasonic®), botol kaca coklat (maredash®), cawan petri (Pyrex®), cawan uap (htc®), kertas saring (Whatman®), krus (RCC®), mesh 40 (ABM), mikroskop (Sinher®), mikropipe (Socorex®), neraca analitik (LabPRO DT224C®), oven (Mettler®), peralatan gelas laboratorium (Pyrex®), pipet tetes (Onemed®), *silica gel*, tanur (Daihan Scientific Furnance®), thermometer (Gea®), *vacuum dryer*, wadah kaca, *well plate* 24 (®Biologix).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji mahoni yang diperoleh dari Desa Purwodadi, embrio ikan zebra diperoleh dari peternakan lokal di Cibinong, air sumur, akuades, ammonia, asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄) pekat, Besi (III) Klorida (FeCl₃), etanol (CH₂OH) 70%, gelatin, kloroform, Larutan pereaksi *Dragendorff*, Larutan pereaksi *Mayer*, larutan pereaksi *Bouchardat*, natrium klorida (NaCl) dan serbuk Magnesium (Mg).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Kaji Etik

Kaji etik merupakan izin dalam penggunaan hewan uji sebagai subjek yang digunakan di dalam penelitian. Kaji etik diajukan kepada Tim Komite Etik Farmakologi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

3.3.2 Determinasi Tanaman

Biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Desa Purwodadi, Kabupaten Oku Timur dan di determinasi di PT. Palapa Muda Perkasa Jalan Kalimulya No 23 Cilodong, Kota Depok, Jawa Barat.

3.3.3 Pembuatan Simplisia Biji Mahoni

Biji mahoni diambil ketika buah sudah besar dan menghasilkan biji didalamnya. Dilakukan sortasi basah dengan cara memisahkan biji dari kulitnya setelah dilakukan sortasi basah, maka dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk membersihkan dari kotoran. Biji mahoni yang sudah dicuci kemudian dirajang halus lalu dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven, syarat pengeringan menggunakan oven yaitu suhu yang digunakan 50°C. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memilah bahan yang gosong selama proses pengeringan atau bahan yang sudah rusak. Biji mahoni yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk (Y. N. Yanti & Hepiyansori, 2018).

3.3.4 Pembuatan Ekstrak Biji Mahoni

Pembuatan ekstrak biji mahoni dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Sebanyak 150 g serbuk yang sudah diayak dimasukkan dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1,5 liter dalam botol berwarna gelap. Maserasi dilakukan selama 5 hari dan tiap hari dilakukan proses pengadukan. Hasil maserasi yang diperoleh dari tahap maserasi kemudian digabungkan (Ayuningtyas & Bani, 2018). Ekstrak yang diperoleh dari hasil maserasi awal hingga akhir digabungkan menjadi 1 dan di *vacuum dryer* sampai terbentuk ekstrak kering. Ekstrak kering yang didapatkan ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari serta dihitung rendemen ekstrak dengan Rumus 1:

Rumus 1. Rendemen Ekstrak

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

3.4 Pengujian Mutu Simplisia

a. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri yang diawali dengan cawan uap ditara terlebih dahulu di dalam oven selama 15 menit. Kemudian ditimbang serbuk simplisia sebanyak 10 g dalam cawan uap. Selanjutnya serbuk simplisia dikeringkan didalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Simplisia ditimbang kemudian lanjutkan pengeringan kembali di dalam oven selama 1 jam. Pemijaran diulangi hingga bobot konstan atau selisih bobot antara dua penimbangan tidak lebih dari 0,25% (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Kadar air untuk ekstrak kering < 10% (Maryam dkk., 2020) kemudian dihitung kadar air dengan Rumus 2:

Rumus 2. Perhitungan Kadar Air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{bobot basah(g)} - \text{bobot kering(g)}}{\text{bobot sampel(g)}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan :

Bobot basah = Bobot cawan + isi (g) – bobot cawan kosong (g) sebelum pengeringan

Bobot kering = Bobot cawan + isi (g) – bobot cawan kosong (g) setelah pengeringan

b. Penetapan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan dengan menggunakan tanur pada simplisia dan ekstrak. Terlebih dahulu krus ditara di dalam tanur pada suhu 800°C selama 15 menit kemudian ditimbang sebanyak 2 g sampel dan dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijar dan ditara. Dipijarkan krus yang berisi sampel di dalam tanur pada suhu 800°C selama 5 jam hingga menjadi abu. Krus dikeluarkan dengan menggunakan alat penjepit besi, didinginkan pada suhu kamar kemudian ditimbang hingga bobot tetap atau sampai adanya perbedaan bobot antara 2 penimbangan terakhir tidak lebih dari 0,25% (Kementrian Kesehatan RI, 2017) Kemudian untuk menghitung kadar abu dengan Rumus 3:

Rumus 3. Perhitungan Kadar Abu

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{(\text{Bobot krus} + \text{abu simplisia})(g) - \text{bobot krus}(g)}{\text{bobot awal sampel}(g)} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

3.5 Pengujian Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang dan dilarutkan dengan 5mL etanol 70%. Sampel ditambahkan etanol sebanyak 2-3 tetes dan diuapkan menggunakan penangas air selama 15 menit, filtrat didinginkan kemudian disaring. Dimasukkan 1 mL sampel ke dalam tabung reaksi kemudian sampel ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 g dan HCl pekat sebanyak 5 tetes dari sisi tabung kemudian dilakukan pengocokan secara perlahan-lahan. Positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Hanani,2015).

b. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 mL air panas kemudian disaring. Diambil filtrat yang sudah disaring sebanyak 2 mL lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Positif tanin ditandai dengan terbentuk warna biru dan hijau kehitaman (Hanani, 2015).

c. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang lalu ditambahkan dengan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, kemudian dipanaskan menggunakan penangas air selama 2 menit, filtrat didinginkan dan disaring. Disiapkan 3 tabung reaksi kemudian dimasukkan 0,5 mL filtrat kedalam masing-masing tabung reaksi. Pada tabung I ditambahkan 2 tetes pereaksi *Mayer* dan akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning. Pada tabung reaksi II ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendroff*, maka akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan. Pada tabung reaksi III ditambahkan 2 tetes pereaksi *Bouchardat* maka akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman (Hanani., 2015).

d. Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat 5 tetes dan asam sulfat pekat 5 tetes melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan kedua pelarut, maka sampel

menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan maka sampel menunjukkan adanya steroid (Takaeb & Leo, 2023).

e. **Uji Saponin**

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang, kemudian ditambah 10 mL akuades dan dipanaskan diatas penangas air selama 10 menit, setelah dingin lalu dikocok kuat selama 10 detik. Positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil dengan penambahan asam klorida dan busa tidak hilang selama beberapa menit (Hanani, 2015).

3.6 Uji Toksisitas Akut

Pengujian toksisitas akut dilakukan dengan menggunakan prosedur pengujian *fish embryo Acute Toxicity* yang terdapat dalam *OECD Guidelines For Testing Of Chemicals* Nomor 236 (2013) dengan menggunakan hewan uji embrio ikan zebra. Embrio ikan zebra diperoleh dari peternakan ikan lokal, kemudian diseleksi dan dilakukan pengujian.

3.6.1 Pembuatan Larutan Kontrol

1. Kontrol Internal

Kontrol internal menggunakan *egg-water* atau air sumur yang telah dihilangkan partikel yang berukuran besar dan pengotor lainnya dengan menggunakan kertas saring *Whatman*, kemudian diberikan gelembung udara sebagai tambahan oksigen dengan menggunakan aerator selama 24 jam (Wiendarlina dkk., 2022).

2. Kontrol Ekstrak

Kontrol ekstrak merupakan larutan uji yang mengandung ekstrak biji mahoni yang diujikan pada embrio ikan zebra. Pada pembuatan larutan uji, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi larutan uji. Konsentrasi yang digunakan pada uji pendahuluan adalah 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm yang dibuat dari larutan induk pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Pembuatan larutan induk 1000 ppm dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak yang dilarutkan dengan menggunakan air sumur hingga volumenya mencapai 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 1000 ppm (Rusli

dkk., 2020). Uji lanjut dilakukan setelah didapatkan konsentrasi larutan uji dengan konsentrasi 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm dan 90 ppm kemudian uji lanjut dilakukan dengan tahapan yang sama dengan uji pendahuluan. Kelima deret konsentrasi hasil pengenceran digunakan untuk penentuan konsentrasi letal.

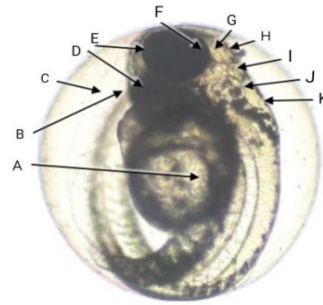
3.6.2 Penyeleksian Embrio Ikan Zebra

Embrio ikan zebra dimasukkan ke dalam gelas beaker yang diisi dengan kontrol internal *egg-water* yang telah diaerasi menggunakan aerator selama 24 jam dan disaring dengan kertas saring. Embrio dipindahkan ke dalam cawan petri untuk diseleksi dan diperiksa fertilitasnya menggunakan mikroskop. Embrio yang digunakan pada penelitian ini adalah embrio yang berusia 8 jam dan terlebih dahulu diseleksi sebelum dimasukkan ke dalam *wellplate* 24, dipilih embrio yang normal ditandai dengan warna yang bening dan embrio yang mati umumnya ditandai dengan warna putih susu. Parameter kematian embrio ikan zebra menurut OECD, (2013) yaitu koagulasi embrio, pembentukan somit, pelepasan bagian ekor embrio dari kuning telur dan detak jantung.

3.6.3 Uji Toksisitas Akut Pada Embrio Ikan Zebra

Uji toksisitas akut ekstrak biji mahoni menggunakan metode *Fish Acute Embryo Toxicity* pengujian sesuai dengan *Guidelines for The Testing of Chemicals* Nomor 236 OECD. Embrio yang telah diseleksi kemudian dipindahkan dalam *wellplate* 24. Embrio dipindahkan dengan menggunakan pipet tetes. Tahap selanjutnya pengujian toksisitas ekstrak biji mahoni dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat. Pada uji pendahuluan setiap *wellplate* 24 dimasukkan 10 embrio ikan zebra yang sebelumnya telah ditambahkan deret larutan uji dan kontrol internal dengan 3 kali pengulangan pada masing-masing *wellplate* 24 dengan total embrio yang digunakan adalah 180 embrio. Pada uji lanjut setiap *wellplate* 24 yang sudah ditambahkan kontrol internal dan ekstrak kemudian dimasukkan 10 embrio, setiap sumur *wellplate* 24 berisikan 1 embrio dengan 3 kali pengulangan setiap konsentrasinya sehingga total embrio yang digunakan baik pada uji pendahuluan dan uji lanjut adalah 360 embrio ikan zebra. Pengamatan terhadap embrio dilakukan pada waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam dan

96 jam setelah embrio terpapar kontrol ekstrak kemudian diamati morfologi dan fisiologi ikan menggunakan mikroskop.

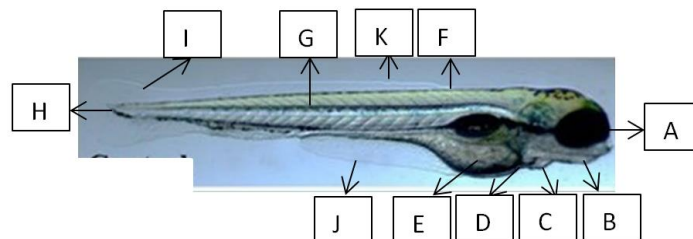


Gambar 5. Morfologi Embrio Ikan Zebra Normal pada 72 hpf

Sumber : (Hellfeld *et al.*, 2020)

Keterangan :

(A) Vena ekor komunis; (B) Perikardium; (C) Sirip ekor; (D,E) Mata; (F) Tegmentum; (G) Tektum optik; (H) Mesensefalon; (I) Otak kecil; (K) Otak besar

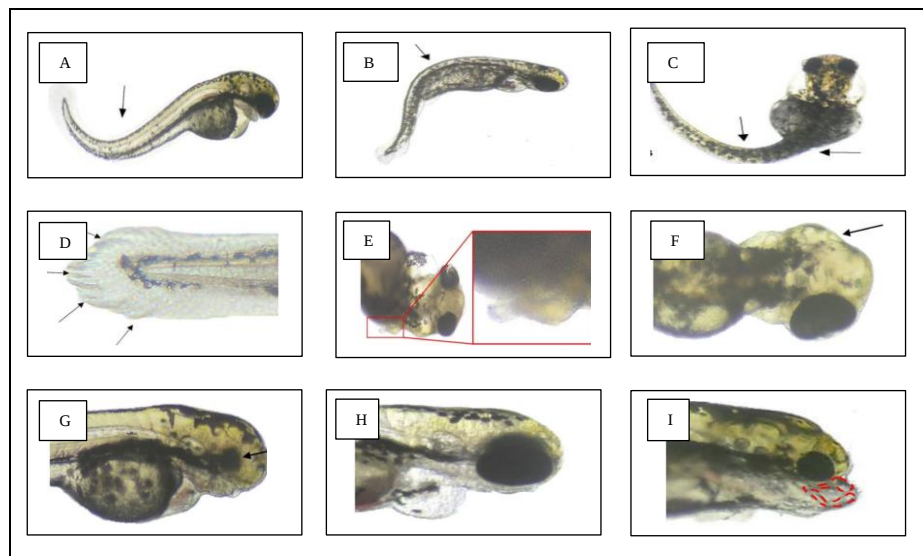


Gambar 6. Morfologi dari Ikan Zebra Normal

Sumber : (Vasamsetti *et al.*, 2020)

Keterangan :

(A) Mata; (B) Rahang; (C) Perikardium; (D) Jantung; (E) Kuning telur; (F) Somit; (G) Notochord; (H) Ekor; (I) Sirip; (ekor); (J) Sirip perut; (K) Sirip punggung.



Gambar 7. Kelainan Morfologi dari Embrio Ikan Zebra dan Ikan Zebra
Sumber : (Hellfeld *et al.*, 2020)

Keterangan :

- (A) Lordosis; (B) Kifosis; (C) Skoliosis; (D) Gangguan perkembangan sirip;
(E) Sirip ekor berubah bentuk; (F) Tidak berkembangnya satu mata
(G) Ukuran mata mengecil; (H) Kelainan Otolit; (I) Kelainan pada rahang

3.6.4 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan untuk mendapatkan nilai LC_{50} menggunakan metode *analisis Microsoft Office Excel*. Nilai LC_{50} ditentukan dengan menggunakan kurva hubungan antara log konsentrasi (sumbu x) dan nilai probit (sumbu y) cara menentukan analisis probit dihitung dengan cara menentukan nilai regresi dengan rumus $y = a + bx$. Data abnomalitas dan konsentrasi digunakan untuk menentukan nilai EC_{50} dengan menggunakan Graph Pad prism versi 10.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan menggunakan rancangan RAK (Rancangan Acak Kelompok). Hasil analisis menggunakan ANOVA terdapat perbedaan yang nyata (*significant*) maka dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji Duncan. Hasil data tersebut diperoleh dengan menggunakan program IBM SPSS *Statistics* 24 for Windows.

Tabel 2. Tabel Probit (Vincent, 1980)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,55	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,92	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
-	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

3.6.5 Perhitungan Nilai Indeks Teratogenik

Nilai indeks teratogenik didapatkan dengan membagi nilai rata-rata LC_{50} dengan nilai rata-rata EC_{50} pada setiap waktu pengamatan yang sebelumnya telah diperoleh melalui analisis data dengan tabel probit (Lee *et al.*, 2013).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Kaji Etik

Uji toksisitas akut ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dinyatakan lolos kaji etik yang diajukan kepada Tim Komite Etik Farmakologi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor dengan nomor surat 025/KEPHP-UNPAK/06-2024. Surat kaji etik tersebut terlampir dalam Lampiran 3.

4.2 Hasil Determinasi Biji Mahoni

Hasil determinasi biji mahoni yang didapatkan dari Desa Purwodadi, Kabupaten OKU Timur dilakukan determinasi di PT. Palapa Muda Perkasa Jalan Kalimulya No 23 Cilodong, Kota Depok, Jawa Barat, diketahui bahwa tumbuhan yang digunakan pada penelitian merupakan tumbuhan biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) yang termasuk ke dalam suku *Meliaceae* dengan nomor surat 996/IPH.1.06/If.10/1/2024. Surat determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.3 Hasil Pembuatan Simplisia dan Daun Ekstrak Biji Mahoni

Sebanyak 4 kg buah mahoni yang sudah matang dan pecah, terlebih dahulu dipisahkan antara bagian biji mahoni, bagian tengah buah mahoni dan kulit biji mahoni sehingga didapatkan berat biji mahoni setelah sortasi basah sebesar 1.365 g kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam sehingga diperoleh 819 g biji mahoni kering dengan rendemen sebesar 60 %. Simplisia biji mahoni kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40 agar ukuran serbuk simplisia seragam dan didapatkan bobot simplisia sebesar 748 g dengan nilai rendemen serbuk simplisia yang didapatkan sebesar 91,3%. Perhitungan rendemen simplisia dan serbuk dapat dilihat pada Lampiran 4.



Gambar 8. Serbuk Simplisia Biji Mahoni

Serbuk simplisia yang telah diperoleh kemudian dilakukan pengamatan secara organoleptis pada serbuk dan ekstrak biji mahoni bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana menggunakan pancaindra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau serta rasa (Depkes RI, 2000). Hasil uji organoleptis biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik Serbuk dan Ekstrak Biji Mahoni

Karakteristik Organoleptik	Hasil	
	Serbuk	Ekstrak
Bentuk	Butiran halus	Gumpalan Serbuk
Warna	Coklat	Coklat muda
Bau	Khas Biji Mahoni	Khas Biji Mahoni
Tekstur	Serbuk Kasar	Sedikit Lengket
Rasa	Pahit	Pahit

Dilakukan ekstraksi metode maserasi setelah didapatkan serbuk simplisia dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena tidak menggunakan panas pada proses ekstraksi sehingga tidak merusak senyawa seperti flavonoid yang bersifat termolabil dan senyawa metabolik lainnya (Riwanti dkk., 2020). Filtrat hasil ekstraksi dikeringkan hingga terbentuk ekstrak kering dengan menggunakan alat *vacuum dry* dengan tekanan 70 mm Hg selama 1,5 jam. Prinsip kerja *vacuum dry* dengan cara mengurangi kadar air dengan menggunakan suhu yang rendah disertai penarikan uap air (Reis, 2014). *Vacuum dryer* digunakan untuk mengeringkan zat yang bersifat higroskopis dan sensitif terhadap panas sehingga vacum ditambahkan untuk menurunkan tekanan uap air dan menurunkan titik didih air yang berfungsi untuk meningkatkan kecepatan penguapan sehingga senyawa yang terkandung dalam biji mahoni tidak rusak (Permanasari dkk., 2019). Didapatkan bobot ekstrak kering biji mahoni yaitu 32,7 g dengan nilai rendemen 21,8 %. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada

lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan perbandingan jumlah ekstrak yang didapatkan pada suatu bahan terhadap berat awal simplisia serta mendapatkan gambaran banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung didalam simplisia yang terekstraksi (Utami dkk., 2020). Semakin tinggi rendemen ekstrak yang didapatkan maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan (Ummum dkk., 2024).

4.4 Hasil Uji Mutu Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni

4.4.1 Penetapan Kadar Air

Dilakukan penetapan kadar air untuk menjaga mutu simplisia dan ekstrak serta mengetahui kandungan air yang terdapat pada sampel dan memberikan batasan kandungan air yang diizinkan (DepKes RI., 2000). Penetapan kadar air simplisia dan ekstrak menggunakan metode gravimetri dengan prinsip kehilangan bobot kadar air pada pemanasan 105°C hingga bobot konstan (Fikriyah & Nasution, 2021). Penetapan kadar air dilakukan dengan dua kali pengulangan atau duplo. Hasil penetapan kadar air serbuk simplisia dan ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Penetapan Kadar Air Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni

Sampel	Hasil Kadar Air (%)	Syarat (%)
Serbuk Simplisia	4,096	≤ 10
Ekstrak Kering	4,733	≤ 5

Pada Tabel 4. serbuk simplisia diperoleh kadar air sebesar 4,096% dan ekstrak kering biji mahoni didapatkan kadar air 4,733%. Kadar air yang diperoleh pada serbuk dan ekstrak kering sesuai dengan syarat mutu yaitu tidak lebih dari 10%, sedangkan ekstrak kering kadar air tidak lebih dari 5% (Utami dkk., 2021) & (Handoyo, 2020). Didapatkan hasil penetapan kadar air serbuk simplisia tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yulianita & Effendi, (2015) dimana kadar air serbuk simplisia yang diperoleh 4,22%. Semakin tinggi kadar air maka semakin besar kemungkinan terjadi kerusakan aktivitas biologis maupun masuknya bakteri perusak (Aji, 2021). Apabila kadar air lebih besar dari 10% dapat menyebabkan kerusakan oleh mikroba dikarenakan terjadinya proses

enzimatik. Beberapa enzim merusak kandungan kimia antara lain polimerase, hidrolase dan oksidase (Wahyuni dkk., 2014). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.4.2 Penetapan Kadar Abu

Prinsip penetapan kadar abu yaitu pemijaran sampel dalam suhu tinggi hingga bobot konstan dengan tujuan mendapatkan gambaran mengenai kandungan mineral dan anorganik yang terdapat pada simplisia maupun ekstrak (DepKes RI, 2000). Penetapan kadar abu dilakukan dengan dua kali pengulangan atau duplo. Hasil penetapan kadar abu serbuk simplisia dan ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Penetapan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak Biji Mahoni

Sampel	Hasil Kadar Abu (%)	Syarat (%)
Serbuk Simplisia	3,154	$\leq 3,4$
Ekstrak Kering	4,373	≤ 5

Pada serbuk simplisia diperoleh kadar abu sebesar 3,154% dan ekstrak kering biji mahoni didapatkan kadar abu 4,373 %. Kadar abu yang diperoleh pada serbuk dan ekstrak kering sesuai dengan syarat mutu tidak kurang dari 3,4% (Kementrian Kesehatan RI, 2017) sedangkan kadar abu ekstrak kering tidak kurang dari 5%. Hasil penetapan kadar abu serbuk simplisia yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yulianita & Effendi (2015) yang dimana kadar abu serbuk simplisia didapatkan 3,73%. Perbedaan persentase hasil kadar abu antara serbuk simplisia dan ekstrak dikarenakan adanya proses tambahan dalam pembuatan ekstrak sehingga memungkinkan jumlah mineral bertambah. Semakin tinggi kadar abu, maka semakin tinggi kandungan mineral yang terdapat pada suatu bahan (Amelia dkk., 2021).

4.5 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Mahoni

Skrining fitokimia ekstrak biji mahoni dilakukan untuk menunjukkan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Pengujian ini merupakan tahap awal dalam penelitian untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa yang dapat berpotensi memberikan pengaruh pada hasil

penelitian. Hasil uji fitokimia pada ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 6 dan Lampiran 8.

Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Mahoni

Identifikasi Senyawa	Pereaksi	Parameter	Keterangan
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	↓ Cokelat	+
	<i>Bouchardat</i>	↓ Cokelat	+
	<i>Mayer</i>	↓ Putih	+
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl P	Jingga	+
Tanin	NaCl+	Hijau	+
	Gelatin+	kehitaman	
	FeCl ₃		
Terpenoid	Asam asetat anhidrat + HCl P	Terbentuk cincin kecoklatan	+
Saponin		Berbusa	+

Keterangan :

- (+) : Positif mengandung senyawa
- (-) : Negatif mengandung senyawa
- (↓) : Terbentuk endapan

Tabel 6. menunjukkan bahwa ekstrak biji mahoni dengan menggunakan pelarut etanol 70% mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin. Analisis uji fitokimia pada ekstrak biji mahoni menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Situmorang dkk., (2022) yaitu ekstrak biji mahoni positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Pada penelitian ini selain senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin terdeteksi ekstrak biji mahoni mengandung senyawa lain yaitu terpenoid.

Senyawa flavonoid yang terdeteksi dalam ekstrak biji mahoni diduga tergolong kedalam jenis flavon, kalkon dan auron. Menurut penelitian Winata & Putri, (2019) kandungan terbesar senyawa metabolit sekunder pada biji mahoni

yaitu golongan flavonoid, flavon atau flavonol. Aktivitas farmakologi yang dimiliki senyawa flavonol adalah antioksidan (Alfaridz & Amalia, 2015). Flavonoid merupakan golongan fenol yang bersifat polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga akan larut dalam pelarut polar. Flavonoid umumnya akan larut kedalam pelarut dengan sifat kepolaran yang sama seperti etanol dan metanol (Putri & Lubis, 2020).

Selain flavonoid, ekstrak biji mahoni juga positif mengandung senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dengan menambahkan larutan HCl 2 M, karena sifat basa dari senyawa tersebut memerlukan asam untuk bereaksi (Minarno, 2015). Penambahan reagen akan menyebabkan perubahan warna dan pembentukan endapan pada larutan uji. Endapan yang terbentuk mengindikasikan adanya senyawa alkaloid dalam ekstrak. Hasil positif alkaloid pada uji *Dragendroff* dan *Bouchardat* ditandai dengan terbentuknya endapan coklat sampai kuning yaitu kalium alkaloid sedangkan pada uji *Mayer* hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih.

Hasil positif ekstrak biji mahoni yang mengandung senyawa tanin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Penambahan FeCl_3 pada uji ini mempengaruhi perubahan warna larutan. Menurut (La dkk., 2012) menjelaskan bahwa perubahan warna larutan terjadi karena reaksi antara larutan dengan ion Fe^{3+} , yang menyebabkan terjadinya perubahan warna setelah ditambahkan larutan FeCl_3 .

Pada pengujian steroid dan triterpenoid, analisis senyawa didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asetat anhidrat (Astarina dkk., 2012). Hasil yang diperoleh menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya cincin kecoklatan yang menunjukkan kandungan triterpenoid dan tidak terbentuk warna biru kehijauan sehingga negatif mengandung steroid. Ekstrak biji mahoni positif mengandung saponin dengan terbentuknya buih yang stabil selama 5 menit. Saponin adalah senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik, ketika saponin dikocok akan terbentuk buih karena gugus hidrofilik berinteraksi dengan air sementara gugus hidrofobik berikatan dengan udara. Dalam struktur misel, gugus polar berada diluar,

sedangkan non-polar berada di dalam. Kondisi ini yang menyebabkan pembentukan busa (Sangi dkk., 2008).

4.6 Hasil Uji Toksisitas Terhadap Embrio Ikan Zebra

4.6.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan terlebih dahulu untuk mendapatkan nilai LC_{50} ekstrak biji mahoni. Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan nilai konsentrasi yang menjadi batas kisaran kritis yang selanjutnya akan digunakan pada uji lanjut atau uji toksisitas (Pramadita dkk., 2022). Konsentrasi yang akan dipilih dari uji pendahuluan adalah konsentrasi yang menghasilkan tingkat kematian mendekati 50% pada nilai maksimum dan nilai minimum kematian mendekati 50%. Menurut OECD,(2013) konsentrasi tertinggi yang diuji sebaiknya menghasilkan 100 % kematian dan konsentrasi terendah yang diuji sebaiknya tidak memberikan efek yang diamati. Jumlah kematian embrio ikan zebra pada uji pendahuluan ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Persentase Kematian Embrio Ikan Zebra Hari Ke 1-4

Konsentrasi (ppm)	%Mortalitas			
	Hari Ke-1 (24 Jam)	Hari Ke-2 (48 Jam)	Hari Ke-3 (72 Jam)	Hari Ke-4 (96 Jam)
25	3%	7%	10%	10%
50	10%	17%	30%	30%
100	20%	37%	67%	100%
200	23%	47%	87%	100%
400	33%	67%	97%	100%

Pada tabel diatas dapat diketahui bahwa konsentrasi dibawah 100 ppm merupakan batas kisaran yang akan digunakan pada uji lanjut. Kematian embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dihari ke-4 (96 jam) mencapai 100 % (diatas 50%) pada konsentrasi 100 ppm , sedangkan kematian terkecil mendekati 50% terdapat pada konsentrasi 50 ppm dengan mortalitas mencapai 30% sehingga konsentrasi yang digunakan pada uji lanjut berada dibawah 100 ppm. Pada uji pendahuluan didapatkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji mahoni maka semakin besar

jumlah kematian embrio ikan zebra. Pada perlakuan kontrol internal tidak teramati adanya gejala fisik akibat keracunan, dan tidak ditemukan embrio ikan zebra mati selama periode pengamatan 24 jam. Hal ini menunjukkan media pemeliharaan berada dalam keadaan yang baik. Dilanjutkan pengujian toksisitas dengan uji lanjut setelah didapatkan konsentrasi larutan uji.

4.6.2 Uji Lanjut

Hasil penelitian uji toksisitas pada uji lanjut menunjukkan terdapat efek paparan dari ekstrak biji mahoni yang dapat menyebabkan kematian pada embrio ikan zebra. Pengujian toksisitas akut menggunakan embrio ikan zebra berpedoman pada OECD 236 tahun 2013 dengan prinsip pemaparan embrio ikan zebra dengan larutan uji selama 96 jam. Menurut OECD, (2013) terdapat beberapa macam indikator kematian yang menjadi parameter ketoksikan kualitatif pada embrio ikan zebra yaitu koagulasi embrio, tidak terjadi pembentukan somit, tidak terjadinya pelepasan bagian *tail-bulb* dari *yolk*, dan tidak adanya detak jantung pada embrio ikan zebra.



Gambar 9. Embrio Ikan Zebra Berusia 8 Jam dengan Perbesaran 40x

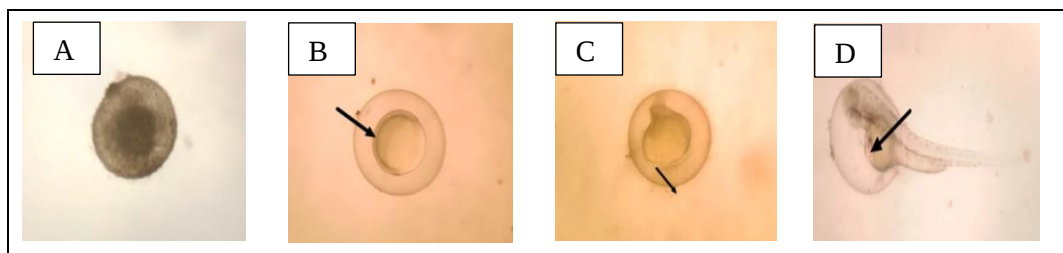
Pengamatan pada embrio dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 4 x 0,10 setiap 24, 48, 72, 96 jam. Embrio yang digunakan pada penelitian ini yaitu embrio yang berusia 8 jam setelah fertilisasi (Rusli dkk., 2020), karena embrio yang berusia 8 jam merupakan embrio yang termasuk ke dalam tahapan *gastrula* dengan pembentukan *epiboly* mencapai 75% (Kimmel *et al.*, 1995). Fertilisasi embrio ditandai dengan warna transparan, kantong amnion utuh dan perkembangan embrio yang normal. Embrio yang berusia 8 jam digunakan dengan tujuan agar memiliki keseragaman tahap perkembangan embrio pada saat pengujian, memudahkan pengamatan dan menghindari hasil yang bias

Embrio ikan zebra akan menetas dengan sempurna menjadi larva setelah melalui fase *cleavage*, *morula*, *blastula*, *gastrula*, dan organogenesis (*segmentasi*,

pharyngula, *hatching*). Fase *cleavage* merupakan tahap pertama perkembangan *embryogenesis* menjadi larva yang ditandai dengan adanya pembelahan sel secara mitosis kemudian dilanjutkan dengan fase morula dimana terjadinya pembelahan zigot dan menghasilkan sejumlah blastomer membentuk lapisan pertama yang berfungsi untuk membentuk tubuh embrio. Pada fase blastula embrio mulai berdiferensiasi membentuk organ-organ tertentu seperti saluran pencernaan dan *notochord*. Gastrula ditandai dengan mulai terbentuknya lapisan kuning telur (*yolk*) dan *epiboly* akan mulai terlihat. Tahap perkembangan selanjutnya yaitu organogenesis, pada tahap ini menunjukkan adanya pergerakan dari embrio karena bertambah panjangnya bagian ekor dan mulai terlepas dari kuning telur serta jantung yang mulai aktif. Tahap akhir dari organogenesis yaitu embrio menetas menjadi larva (Khosim dkk., 2023).

Digunakan 2 kelompok kontrol pada penelitian ini yaitu kontrol internal dan kontrol ekstrak. Penggunaan kontrol internal pada penelitian ini berfungsi sebagai kontrol negatif. Pada perlakuan kontrol internal embrio ikan zebra hidup 100% dan tidak menunjukkan kelainan dikarenakan kualitas air kontrol internal yang digunakan berada diantara pH 6,5-8 sesuai dengan habitat alami ikan zebra. Pada suhu yang lebih rendah embrio ikan tumbuh lebih lambat karena suhu dapat mempengaruhi perkembangan awal dan proses fisiologis ikan zebra (Alestro *et al.*, 2020). Menurut Khosim dkk., (2023) pH air dapat digunakan untuk menilai kualitas kondisi suatu perairan sebagai lingkungan hidup. Dapat dikatakan bahwa kontrol internal tidak bersifat toksik dan tidak mempengaruhi hasil dari kontrol ekstrak. Pada kontrol ekstrak, ditemukan embrio ikan zebra yang mengalami kelainan serta kematian.

Kematian pada embrio ikan zebra dapat dilihat dengan menggunakan parameter yang terdiri atas koagulasi embrio yang ditandai dengan embrio berwarna putih susu dan terlihat gelap ketika dilihat dibawah mikroskop, pembentukan somit, pelepasan ekor dari kuning telur (*yolk*), serta detak jantung yang dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Parameter Kematian pada Embrio Ikan Zebra

Keterangan : (A) Koagulasi embrio; (B) Pembentukan somit; (C) Pelepasan ekor dari kuning telur; (D) Detak jantung

Jumlah kematian embrio ikan zebra akibat paparan ekstrak etanol biji mahoni pada hari ke-1 (24 jam) pasca fertilisasi disebabkan oleh koagulasi dan lisis, sementara pada jam ke-48 hingga hari ke-4 (96 jam) terjadi peningkatan kematian yang disebabkan oleh tidak terbentuknya somit dan setelah 24 jam tidak terjadi pelepasan *tail-bulb* dari *yolk* yang menyebabkan embrio mengalami keterlambatan pertumbuhan sehingga menyebabkan kematian. Persentase kematian embrio ikan zebra diperoleh dari total jumlah embrio ikan zebra dengan 3 kali pengulangan disetiap konsentrasinya. Hasil penelitian menunjukkan persentase kematian embrio ikan zebra meningkat sesuai dengan meningkatnya konsentrasi dan lamanya waktu paparan. Hasil persentase kematian embrio ikan zebra pada uji lanjut dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Persentase Kematian Embrio Ikan Zebra Hari Ke 1-4

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas			
	Hari Ke-1 (24 Jam)	Hari Ke-2 (48 Jam)	Hari Ke-3 (72 Jam)	Hari Ke-4 (96 Jam)
50	10%	13%	23%	30%
60	17%	23%	40%	43%
70	23%	30%	43%	50%
80	30%	47%	53%	63%
90	47%	50%	67%	80%

Tabel 8. menunjukkan hasil uji toksisitas akut menggunakan metode *Zebrafish Embryo Toxicity* (ZFET) menunjukkan bahwa angka kematian embrio meningkat seiring dengan lamanya paparan larutan uji. Lama waktu pemaparan ekstrak biji mahoni dari mulai hari ke-1, ke-2, ke-3 dan hari ke-4 menyebabkan

embrio menyerap ekstrak lebih banyak, yang mengakibatkan timbulnya efek toksik sebagai penyebab kematian. Kematian embrio ikan zebra kemudian dihitung menggunakan metode analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} merupakan nilai konsentrasi suatu larutan uji yang dapat menyebabkan 50% organisme uji.

Pada tabel 9. hasil analisis data nilai LC_{50} pada uji toksisitas akut ekstrak biji mahoni dengan menggunakan analisis probit pada periode waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam dengan tiga kali pengulangan menunjukkan rata-rata LC_{50} pada jam ke 24 sebesar 97,462 ppm, pada jam ke 48 sebesar 88,843 ppm, pada jam ke 72 sebesar 73,706 ppm dan 65,481 ppm pada jam ke 96. Rata-rata nilai LC_{50} yang didapatkan berada pada rentang 10-100 $\mu\text{g/mL}$ (ppm). Merujuk pada Skala Toksisitas Akut Berdasarkan *Fish and Wildlife* (Jonson & Finley, 2013), nilai LC_{50} dengan rentang 10-100 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) memiliki kategori *slightly toxic* atau sedikit toksik. Hasil nilai LC_{50} uji toksisitas akut ekstrak biji mahoni terhadap embrio ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Nilai LC_{50} Ekstrak Biji Mahoni (ppm)

Waktu Pemaparan	Value LC_{50}			Median $LC_{50} \pm SD$	Median
	Repeat 1	Repeat 2	Repeat 3		
24 hours	97,798	98,226	96,361	97,462 $\pm$ 0,977	97,461 ^a
48 hours	89,581	88,847	88,101	88,843 $\pm$ 0,740	88,842 ^b
72 hours	74,582	72,192	74,345	73,706 $\pm$ 1,075	73,706 ^c
96 hours	64,737	65,176	66,531	65,481 $\pm$ 0,764	65,481 ^d

Keterangan : Perbedaan huruf superskrip pada kolom yang berbeda menunjukkan bahwa keduanya tidak mempunyai pengaruh yang sama.

Nilai LC_{50} dari ekstrak biji mahoni berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Rindawati dkk., 2019) dengan nilai LC_{50} ekstrak etanol 49,47565 ppm yang termaksud ke dalam kategori toksik dengan menggunakan hewan coba

larva udang *Artemia salina* Leach. Diduga perbedaan kategori toksisitas disebabkan karena perbedaan penggunaan acuan kategori toksisitas, pada penelitian ini menggunakan metode ZFET dengan kategori toksisitas berdasarkan *Fish and Wildlife Service* (Jonson & Finley, 1980). Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan nilai LC_{50} adalah perbedaan jenis spesies tumbuhan mahoni yang digunakan sehingga dapat mempengaruhi kandungan senyawa dan penggunaan pelarut pada proses ekstraksi dimana pada (Rindawati dkk., 2019) menggunakan etanol 96% perbedaan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi senyawa yang tertarik dikarenakan sifat kepolaran dari kedua pelarut berbeda, etanol 70% lebih polar dibandingkan etanol 96% (Wahyudi & Minarsih, 2023).

Data nilai LC_{50} yang dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan melihat pengaruh waktu pada jam ke-24, 48, 72 dan 96 terhadap nilai LC_{50} . Hasil analisis data menggunakan statistik didapatkan nilai ($p \leq 0.05$), hasil ini menunjukkan berbeda nyata karena p kurang dari 0,05 sehingga perlu dilakukan uji lanjut Duncan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak biji mahoni pada jam ke-24, jam ke 48, jam ke 72, dan jam ke 96 tidak memiliki pengaruh yang sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nyata dari kedua perlakuan yaitu pengaruh waktu terhadap nilai LC_{50} yang dimana semakin lama waktu pemaparan ekstrak maka makin kecil nilai LC_{50} yang didapatkan.

4.7 Hasil Identifikasi Abnormalitas pada Embrio Ikan Zebra

Pada penelitian ini diamati abnormalitas atau kelainan perkembangan pada ikan zebra yang disebabkan oleh paparan ekstrak biji mahoni. Terdapat beberapa indikator yang dijadikan parameter abnormalitas yaitu edema jantung, pigmentasi, panjang tubuh, ukuran mata, ukuran kuning telur, edema kantung kuning telur, cacat vesikel otik, cacat otolit, sumbu tubuh, keterlambatan perkembangan, pembengkokan ekor, skoliosis, tidak adanya sirip lateral, rasio penetasan, malformasi rahang bawah dan nekrosis jaringan (Jarque *et al.*, 2020).

Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak biji mahoni diduga memiliki aktivitas yang menyebabkan abnormalitas atau kelainan pada ikan zebra. Pada 24

jam dan 48 jam pasca fertilisasi embrio yang terpapar ekstrak dengan konsentrasi 90 ppm terdapat abnormalitas yaitu edema kuning telur (*yolk*) dan embrio mengalami keterlambatan perkembangan. Hari ke-3 atau 72 jam pasca fertilisasi diamati morfologi ikan zebra yang mengalami abnormalitas seperti kelainan pada ekor, edema perikardium dan edema kuning telur pada konsentrasi 60, 70, 80 dan 90 ppm. Paparan ekstrak selama 96 jam pasca fertilisasi menyebabkan kelainan yang terjadi pada ikan zebra semakin banyak dikarenakan semua konsentrasi ekstrak yaitu 50, 60, 70, 80, dan 90 ppm mengalami abnormalitas. Lama waktu pemaparan terhadap embrio ikan zebra dapat mempengaruhi tingkat kelainan yang terjadi pada embrio ikan zebra (Samson & Shenker, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa aksesibilitas ekstrak ke embrio mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu pemaparan yang mengarah ke efek toksisitas yang diamati (Alafiatayo *et al.*, 2019). Adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol biji mahoni diduga berhubungan dengan terjadinya kematian dan abnormalitas pada embrio ikan zebra. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji mahoni mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin, yang dimana senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan pada embrio ikan zebra.

Berdasarkan pengamatan morfologi pada embrio ikan zebra setelah terpapar larutan uji selama 96 jam terdapat beberapa abnormalitas akibat efek toksik terhadap embrio ikan zebra diantaranya edema kantung kuning telur, pemendekan sumbu tubuh, kelainan pada tulang ekor, kelainan tulang belakang dan keterlambatan perkembangan pada embrio ikan zebra. Senyawa metabolit sekunder lain yang terkandung pada biji mahoni yaitu alkaloid. Alkaloid dapat menghambat pertumbuhan larva karena dapat mendegradasi membran sel agar masuk ke dalam dan merusak sel sehingga menyebabkan terganggunya sistem kerja syaraf larva dengan menghambat enzim *asetilkolinesterase* (Koneri & Pontororing, 2016). Alkaloid memiliki efek farmakologi terhadap kanker dengan menghentikan pembelahan sel pada tahap *metaphase*, sehingga menghambat pertumbuhan sel kanker.



Gambar 11. Jenis Abnormalitas Pada Embrio Ikan Zebra Setelah Pemaparan
Keterangan :

(1)Kelainan pada ekor; (2) Edema kuning telur (*yolk*); (3) Kelainan tulang belakang; (4) Edema perikardium; (5) Keterlambatan perkembangan.

Notochord pada larva ikan zebra berfungsi sebagai struktur sementara untuk memberikan kekakuan dan fleksibilitas pada sumbu tubuh (Stemple, 2005). Gangguan tulang pada ikan zebra ditunjukkan dengan terjadi pembengkokan pada tulang belakang, akibat dari kelainan pada *notochord*. Kelainan tulang belakang meliputi lordosis (kelengkungan tulang belakang kedalam), kifosis (kelengkungan tulang belakang ke luar), dan skoliosis (kelengkungan tulang belakang ke samping) berkaitan dengan deregulasi ion kalsium dan fosfor yang diperlukan untuk proses perkembangan (Vasamsetti *et al.*, 2020). Lordosis terjadi pada

seluruh konsentrasi ekstrak sedangkan sebagian besar ikan menunjukkan skoliosis pada konsentrasi yang lebih tinggi. Menurut (Hayes *et al.*, 2013) perubahan degeneratif pada tulang belakang menyerupai osteoarthritis yang berkaitan dengan kelainan tulang dengan seiring bertambahnya usia ikan zebra akan sering mengalami deformitas pada tulang belakang.

Edema perikardium merujuk pada abnormalitas volume cairan diruang perikardial yang mengelilingi jantung sehingga dapat menyebabkan kerusakan fungsi jantung dan mempengaruhi transportasi darah (Yan *et al.*, 2023). Pada embrio ikan zebra jantung merupakan organ aktif pertama yang berkembang. Mekanisme toksisitas suatu senyawa disebabkan oleh aktivitas inhibitor Na^+ , K^+ , yang kemungkinan dapat memicu denyut jantung. Apabila denyut jantung meningkat maka dapat membebani miokardium dan menyebabkan kerusakan pada jantung ikan zebra (Ye *et al.*, 2019). Terdapat senyawa aktif dalam kantung perikardial yang menyebabkan sel-sel jantung teriritasi (Syahbirin *et al.*, 2017). Edema perikardium pada penelitian ini termasuk salah satu kelainan pada organ jantung (Morelli *et al.*, 2022), yang diduga paparan larutan uji pada konsentrasi tertentu dapat menyebabkan kardiotoxik atau nefrotoksik terutama pada konsentrasi tinggi.

Edema kantung kuning telur merupakan patologi umum yang dapat diamati dalam toksisitas perkembangan ikan zebra. Embrio ikan zebra memiliki kantung kuning telur (*yolk*) yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan nutrisi untuk embrio (Sant & Timme-Laragy, 2019). Edema kuning telur menjadi tanda berkurangnya penyerapan nutrisi oleh embrio (Syahbirin *et al.*, 2017). Edema kuning telur dapat dipengaruhi oleh hidrasi berlebih akibat osmoregulasi dan akumulasi toksin pada kantung kuning telur (Park *et al.*, 2019). Kelainan pemendekan dan pembengkokan ekor merupakan malformasi yang dapat disebabkan oleh toksisitas. Selain itu abnormalitas ekor dan cacat sumbu tulang belakang dapat dipengaruhi oleh penurunan drastis pasokan makanan (Yumnamcha *et al.*, 2015). Keterlambatan perkembangan pada embrio ikan zebra dilaporkan sebagai bagian dari fenotip mutan atau embrio yang diinduksi oleh pengobatan (Jones *et al.*, 2023).

4.8 Hasil Nilai *Effective Concentration* 50

Nilai *Effective Concentration* 50 (EC_{50}) merupakan konsentrasi suatu bahan uji yang diperlukan untuk menghasilkan efek tertentu pada 50% populasi uji dalam waktu tertentu, yang dimana pada penelitian ini diamati abnormalitas atau kelainan yang terjadi pada 50% embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Penentuan nilai EC_{50} dilakukan dengan mengamati berapa banyak embrio ikan zebra yang mengalami abnormalitas atau kelainan setelah terpapar ekstrak selama waktu pengujian yaitu 24, 48, 72 dan 96 jam. Beberapa indikator abnormalitas yang terjadi pada embrio ikan zebra yaitu edema jantung, pigmentasi, panjang badan, ukuran mata, ukuran kuning telur, edema kantung kuning telur (*yolk*), cacat vesikel otik, cacat otolit, cacat sumbu tubuh, keterlambatan perkembangan, pembengkokan ekor, skoliosis, tidak adanya sirip lateral, rasio penetasan, malformasi rahang bawah dan nekrosis jaringan (Jarque *et al.*, 2020).

Tabel 10. Nilai EC_{50} Ekstrak Biji Mahoni

Waktu Pemaparan	Nilai EC_{50}
24 Jam	162,1
48 Jam	97,32
72 Jam	80,81
96 Jam	79,98

Pada data Tabel 10. menunjukkan hasil analisis data nilai EC_{50} menggunakan analisis data Graph Pad prism pada periode waktu 24, 48, 72, 96 jam dengan tiga kali pengulangan menunjukkan nilai EC_{50} sebesar 162,1 ppm, 97,32 ppm, 80,81 ppm dan 79,98 ppm. Semakin lama waktu pemaparan ekstrak biji mahoni maka semakin rendah nilai EC_{50} sehingga abnormalitas yang terjadi semakin banyak seiring dengan meningkatnya konsentrasi dan lamanya waktu pemaparan. Menurut Widyastuti dkk., (2006) bahan yang memiliki aktivitas sebagai antikanker berpotensi sebagai teratogen yang dapat menyebabkan abnormalitas atau kelainan pada embrio. Biji mahoni memiliki kandungan senyawa yang bersifat sitotoksik seperti pada penelitian Dudi Tohir *et al.*, (2020)

fraksi etil asetat biji mahoni mengandung senyawa limonoid yang dapat menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dengan nilai LC_{50} sebesar $34,14 \mu\text{g/mL}$ menggunakan *artemia salina leach*. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak biji mahoni diduga dapat menimbulkan efek embriotoksik yang ditandai dengan adanya abnormalitas atau kelainan dan kematian pada embrio ikan zebra. Perhitungan nilai EC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.9 Hasil Indeks Teratogenik

Indeks teratogenik (TI) merupakan parameter untuk menentukan teratogenik suatu senyawa. Nilai indeks teratogenik didapatkan dengan membagi rata-rata nilai LC_{50} dengan rata-rata nilai EC_{50} untuk memperkirakan potensi teratogenik suatu sampel (Lee *et al.*, 2013). Suatu senyawa dianggap teratogenik apabila nilai $IT > 1$ yang menunjukkan bahwa konsentrasi dimana 50% ikan zebra menunjukkan abnormalitas perkembangan lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi dimana 50% kematian diamati. Sebaliknya apabila nilai $TI < 1$ dianggap non teratogen (Jiang *et al.*, 2020). Nilai indeks teratogenik didapatkan dengan membagi nilai rata-rata LC_{50} dengan nilai EC_{50} pada setiap waktu pengamatan. Hasil indeks teratogenik ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Nilai Indeks Teratogenik Ekstrak Biji Mahoni (ppm)

Jam Ke	Nilai LC_{50}	Nilai EC_{50}	Nilai Indeks Teratogenik
24 Jam	97,462	162,1	0,601
48 Jam	88,843	97,32	0,912
72 Jam	73,706	80,81	0,912
96 Jam	65,481	79,98	0,818

Pada data Tabel 11. didapatkan hasil pengamatan berdasarkan nilai indeks teratogenik (TI) yang diperoleh ekstrak biji mahoni bersifat non teratogen dengan nilai indeks teratogen pada waktu ke 24, 48, 72 dan 96 jam sebesar 162,1 ppm, 97,32 ppm, 80,81 ppm dan 79,98 ppm yang dimana baik pada waktu ke 24, 48, 72

dan 96 jam, didapatkan semua nilai indeks teratogen kurang dari <1 . Semakin lama waktu pemaparan ekstrak biji mahoni maka semakin rendah nilai EC_{50} sehingga abnormalitas yang terjadi semakin banyak seiring dengan meningkatnya konsentrasi dan lamanya waktu pemaparan. Hal tersebut selaras dengan nilai indeks teratogen yang menurun seiring dengan semakin banyaknya abnormalitas dan lamanya waktu konsentrasi. Ekstrak biji mahoni dianggap non teratogen dikarenakan konsentrasi abnormalitas yang terjadi pada embrio ikan zebra tidak mencapai 50% dari jumlah total embrio yang digunakan.

Pada penelitian ini didapatkan kategori toksisitas (LC_{50}), gejala abnormalitas, nilai *Effective Concentration* 50 (EC_{50}) dan indeks teratogen dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) terhadap embrio ikan zebra dengan metode ZFET (*Zebrafish Embryo Acute Toxicity*). Dari hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak biji mahoni masuk ke dalam kategori *slightly toxic* atau sedikit toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 65,481 ppm yang masuk ke dalam rentang 10-100 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) dengan waktu pengamatan selama 96 jam. Terdapat efek toksik yaitu abnormalitas yang terjadi setelah embrio ikan zebra terpapar ekstrak seperti kelainan pada ekor, kelainan tulang belakang, pembengkakan (edema) pada kuning telur (*yolk*) dan perikardium serta kematian pada embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dengan nilai *Effective Concentration* 50 (EC_{50}) sebesar 162,1 ppm, 97,32 ppm, 80,81 ppm dan 79,98 ppm dengan kategori indeks teratogen $TI < 1$ sehingga ekstrak biji mahoni dapat dikatakan bersifat non teratogen.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian uji toksisitas akut pada embrio ikan zebra yaitu :

1. Nilai LC_{50} ekstrak biji mahoni dengan waktu pengamatan selama 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam didapatkan sebesar 97,462 ppm, 88,843 ppm, 73,706 ppm dan 65,481 ppm yang masuk ke dalam rentang 10-100 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) dengan kategori *slightly toxic* atau sedikit toksik.
2. Terdapat kelainan pada embrio ikan zebra ditandai dengan adanya abnormalitas seperti kelainan pada ekor, kelainan tulang belakang, pembengkakan (edema) pada kuning telur dan perikardium serta kematian pada embrio ikan zebra setelah terpapar ekstrak biji mahoni.
3. Didapatkan nilai EC_{50} ekstrak biji mahoni sebesar 162,1 ppm, 97,32 ppm, 80,81 ppm dan 79,98 ppm.
4. Ekstrak biji mahoni memiliki kategori indeks teratogenik (TI) < 1 artinya termasuk kedalam kategori non teratogen.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian toksisitas subkronik dan kronik sebagai lanjutan dari uji toksisitas akut dari ekstrak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., Naji, A., & Hamidu, L. (2019). *MAHONI (Swietenia mahagoni (L.) Jacq) Herbal Untuk Penyakit Diabetes*.
- Aji, B. (2021). *Water and Protein Analysis of Sausage Product In PT . Jakarana Tama Bogor Analisis Kadar Air dan Protein Pada Produk Sosis di PT . Jakarana Tama Bogor*. 6(2), 111–117.
- Alafiatayo, A. A., Lai, K., Syahida, A., Mahmood, M., & Shaharuddin, N. A. (2019). *Teratogenic Effects of Curcuma longa Extract on Zebrafish (Danio rerio)*. 2019, 1–10.
- Alestro, P., Angelo, L. D., Midtlyng, P. J., Schorderet, D. F., Schulte-merker, S., Sohm, F., & Warner, S. (2020). Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Journals Sagepub Laboratory Animals*, 54(3), 213–224.
- Alfaridz, F., & Amalia, R. (2015). Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*, 16(3), 1–9.
- Alfayed, D., & Riefani, M. K. (2022). Kajian Etnobotani Mahoni (Swietenia mahagoni) Di Kawasan Desa Sabuhur Kabupaten Tanah Laut. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 3(1), 1–8.
- Amelia, J. R., Azni, I. N., Basriman, I., N.W., F., & Prasasti. (2021). Karakteristik Kimia Minuman Sari Tempe-Jahe Dengan Penambahan Carboxy Methyl Cellulose dan Gom Arab pada Konsentrasi Yang Berbeda. *Chimica et Natura Acta*, 9(1), 36–44.
- Andika, M., Novita, C., Saputra, H. A., & Hasanah, R. (2023). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Mahoni (Swietenia Mahagoni (L.) Jacq) Sebagai Antihipertensi terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 6(2), 206–213.
- Anggara, P., Wibowo, I., & Insanu, M. (2021). Skrining Uji Toksisitas Akut Lima Rimpang Suku Zingiberaceae Menggunakan Embrio Ikan Zebra. *Acta Pharmaceutical Indonesia*, 46(2), 1–8.
- Anggista, G., Pangestu, I. T., Handayani, D., Yulianto, M. E., Kusuma, S., Teknologi, D., Sekolah, I., Diponegoro, U., & Semarang, K. (2019). Penentuan Faktor Berpengaruh Pada Ekstraksi Rimpang Jahe Menggunakan Extraktor Berpengaduk. *Gema Teknologi*, 20(3), 80–84.
- Ansori, M. R. (2020). *Perbandingan Uji Toksisitas Akut Sediaan Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Ekstrak Etanol Daun Pegagan (Centella asiatica L.) Dengan Ekstrak Etanol Daun Pegagan Pada Embrio Ikan Zebra (Danio rerio)*.

- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13(1), 83–94.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2012). *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle*. 2009, 1–20.
- Avdesh, A., Chen, M., Martin-iverson, M. T., Mondal, A., Ong, D., Rainey-smith, S., Taddei, K., Lardelli, M., Groth, D. M., Verdile, G., & Martins, R. N. (2012). Regular Care and Maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) Laboratory : An Introduction. *Journal of Visualized Experiments*, November,
- Ayuningtyas, N. D., & Bani, F. (2018). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 1(2), 1–7.
- BPOM, R. (2020). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In vivo. *Jorunal Of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1–207.
- BPOM RI. (2022). Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo. *Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia*, 53, 1–220.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., Suhendra, L., Pertanian, F. T., Udayana, U., & Bukit, K. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L .) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551–560.
- Clark, K. J., & Ekker, S. C. (2013). Zebrafish. *Brenner's Encyclopedia of Genetics*, 7(2), 396–398.
- Eid, A. M. M., Elmarzugi, N. A., & El-Enshasy, H. A. (2015). A Review On The Phytopharmacological Effect Of *Swietenia macrophylla*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5.Suppl 3(August), 47–53.
- Farisi, S. Al, Munawir, A., & Febianti, Z. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Buah *Bruguiera gymnorhiza* pada Tikus (*Rattus norvegicus*) (Acute Toxicity Test of *Bruguiera gymnorhiza* Fruit Extract In Rats (*Rattus norvegicus*)). *e-Jurnal Pustaka Kesehatab*, 3(2), 230–234.
- Fauzy Arif Budiman, F. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta Vulgaris* L.) Dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Health Sains*, 2(3), 310–315.
- Fikriyah, Y. U., & Nasution, R. S. (2021). Analisis Kadar Air Dan Kadar Abu Pada Teh Hitam Yang Dijual Di Pasaran Dengan Menggunakan metode Gravimetri. 3(2), 50–54.

- Ge, W. (2018). Zebrafish. *Encyclopedia of Reproduction*, 1–7.
- Gilman, E. F., Watson, D. G., Klein, R. W., Koeser, A. K., Hilbert, D. R., & Mclean, D. C. (2018). Swietenia mahagoni; Mahogany. *The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS)*, 1–3.
- Handayani, V., Najib, A., Syarif, R. A., Mahmud, A., Hamidu, L., & Ahmad, A. R. (2019). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Terpurifikasi Biji Mahoni (Swietenia mahagoni). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), 360–362.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle) The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41.
- Harefa, D. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Madani : Indonesian Journal of Civil Society*, 2(2), 28–36.
- Hartati, Salleh, L., Azis, A. A., & Azizi, M. che Y. (2013). Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Biji Mahoni (Swietenia mahagoni Jacq) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri. *Bionature*, 14(1), 11–15.
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (Cucurbita Moschata D.). 9(1), 54–59.
- Hayes, A. J., Reynolds, S., Nowell, M. A., Meakin, L. B., Habicher, J., Ledin, J., Bashford, A., Caterson, B., & Hammond, C. L. (2013). Spinal Deformity in Aged Zebrafish Is Accompanied by Degenerative Changes to Their Vertebrae that Resemble Osteoarthritis. *Zebrafish Ageing and Joint Pathology*, 8(9), 1–12.
- Hellfeld, R. Von, Brotzmann, K., Baumann, L., Strecker, R., & Braunbeck, T. (2020). Adverse effects in the fish embryo acute toxicity (FET) test : a catalogue of unspecific morphological changes versus more specific effects in zebrafish (Danio rerio) embryos. *Environmental Sciences Europe*, 32(122), 1–18.
- Hilmarni, Almahdy, A., & Arifin, H. (2015). Kajian Toksisitas Serbuk Biji Mahoni terhadap Perkembangan Tingkah Laku , Histologi Hati serta Hematologi Anak Mencit. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), 15–21.
- Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Muffato, M., Collins, J. E., Humphray, S., McLaren, K., Matthews, L., McLaren, S., Sealy, I., Caccamo, M., Churcher, C., Barrett, J. C., Koch, R., Rauch, G., White, S., Kilian, B., Quintais, L. T., ... Dooley, C. M. (2014). The Zebrafish Reference Genom Sequence and Its Relationship to The Human Genome. *National Institutes Of Health*, 496(7446), 498–503.
- Jarque, S., Rubio-Brotons, M., & Jone Ibarra, Víctor Ordoñez, Sylvia Dyballa,

- Rafael Miñana, J. T. (2020). Morphometric Analysis of Developing Zebrafish Embryos Allows Predicting Teratogenicity Modes Of Action in Higher Vertebrates. *Reproductive Toxicology*, 96, 337–348.
- Jiang, L., Li, K., Yan, D., Yang, M., Ma, L., & Xie, L. (2020). Toxicity Assessment of 4 Azo Dyes in Zebrafish Embryos. *International Journal of Toxicology*, 1–9.
- Jones, R. A., Smith, J. C., Renshaw, M. J., & Barry, D. J. (2023). Automated Staging of Zebrafish Embryos Using Machine Learning. *Francis Crick Institute*, 1–33.
- Jonson, W. W., & Finley, M. T. (2013). *Handbook Of Acute Toxicity Of Chemicals To Fish And Aquatic Invertebrates* (Vol. 46, Nomor 4).
- Jubaidah, S., Syamsul, E. S., Tinggi, S., Kesehatan, I., & Timur, K. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L) Pada Mencit Putih (*Mus musculus* L). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(2), 254–260.
- Karolina Afriyani Kowan, et all, F. K. U. I. (2015). Uji Nilai LC 50 Dekokta *Centella asiatica* Terhadap Frekuensi Denyut Jantung Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*). *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 3(1), 1–9.
- Kementrian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*.
- Khosim, N., Latuconsina, H., & Suhada, R. A. (2023). Perkembangan Embrio dan Rasio Penetasan Telur Ikan Zebra *Danio rerio* (Hamilton, 1822) di Instalasi Perikanan Budidaya Punten Batu. *Journal of Science and Technology*, 3(August), 152–165.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of Embryonic Development of the Zebrafish. *Developmental Dynamics*, 10, 253–310.
- Koneri, R., & Pontororing, H. H. (2016). Uji Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) Terhadap Larva *Aedes aegypti* Vektor Penyakit Demam Berdarah. *Jurnal MKMI*, 12(4), 216–223.
- La, E. O. J., Sawiji, R. T., & Yiliani, N. M. R. (2012). Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr). *Jurnal surya Medika*, 6(2), 185–200.
- Lee, S. H., Kang, J. W., Lin, T., Lee, J. E., & Jin, D. Il. (2013). Teratogenic Potential of Antiepileptic Drugs in the Zebrafish Model. *BioMed Research International*, 2013, 1–6.
- Martono, D. S., & Rahayu, S. (2017). Estimasi (*Swietenia macrophylla* King) Penyusun Hutan Rakyat Bersertifikat SVLK (Sistem Verifikasi Legalitas

- Kayu) (Studi Kasus di PPHR Lawu Lestari Kecamatan Panekan Kabupaten Magetan). *urnal Ilmu Pertanian, Kehutanan dan Agroteknologi*, 17(2).
- Maryam, F., Taebe, B., & Toding, D. P. (2020). Pengukuran Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(1), 1–12.
- Maslahat, M., Lusiana, H., Kimia, J., Bangsa, U. N., No, J. P., & Baranangsiang, K. I. P. B. (2012). Isolasi Dan Elusidasi Senyawa Alkaloid Dalam Biji Mahoni (Swietenia mahagoni Jacq). *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 2(1), 59–69.
- Mawarda, A., Samsul, E., & Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding Of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11, 1–4.
- Minarno, E. B. (2015). Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng. *Skrining Fitokimia*, 5(2), 73–82.
- Morelli, M. B., Bongiovanni, C., Pra, S. Da, Miano, C., Sacchi, F., Lauriola, M., & Uva, G. D. (2022). *Cardiotoxicity of Anticancer Drugs Molecular Mechanisms and Strategies for Cardioprotection*. 9(April).
- OECD. (2013). Oecd guidelines for the testing of chemicals. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, July*, 1–22.
- Park, H., Lee, J., Park, S., Song, G., & Lim, W. (2019). Developmental Toxicity and Angiogenic Defects Of Etoxazole Exposed Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae. *Aquatic Toxicology*, 105324.
- Permanasari, A. R., Saripudin, S., Saputra, T. R., & Fahmi, M. (2019). Pembuatan Serbuk Aloe Vera sebagai Bahan Baku Kosmetik Masker Wajah Menggunakan Metode Vacuum Drying. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 3(2), 62–70.
- Pramadita, S., Sulastri, A., & Desmaiani, H. (2022). Uji Toksisitas Akut LC50 Limbah Cair Industri Karet PT . X terhadap *Daphnia Magna* dengan Metode Batch. *Jurnal Teknologi Lingkungan Lahan Basah*, 10(1), 57–63.
- Purnomo, Y. (2022). *Toksisitas Dekokta Daun Pulutan (Urena lobata) Pada Ikan Zebra (Danio rerio)*. Inara Publisher.
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.)Blum). *AMINA*, 2(3), 120–125.
- Rindawati, N., Daniel, & Saleh, C. (2019). Uji Fitokimia, Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Dari Biji Tumbuhan Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L)

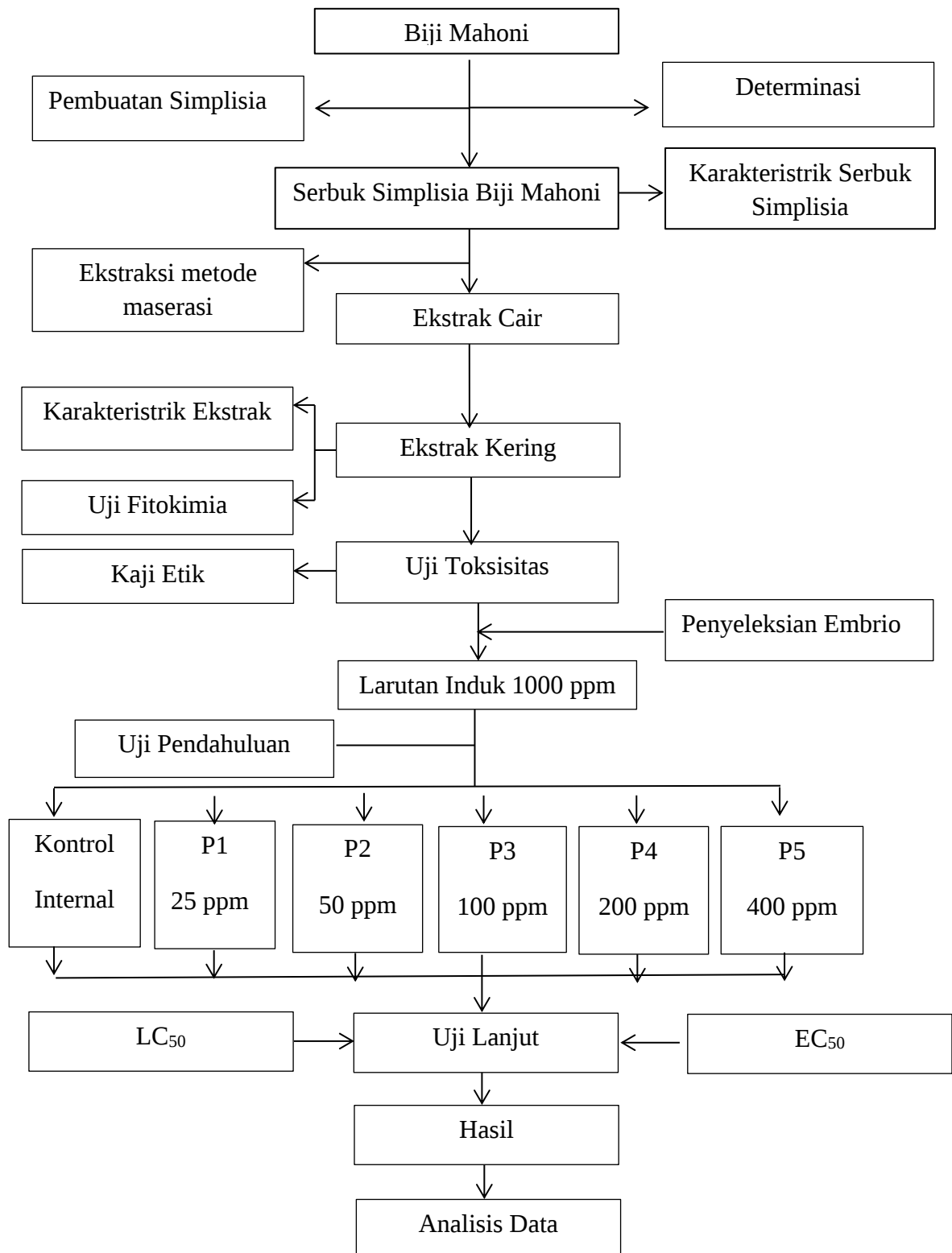
- Jacq). *Jurnal Atomik*, 04(2), 78–81.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Robinson, S., Chapman, K., Hudson, S., Sparrow, S., Spencer-Briggs, D., Danks, A., Hill, R., Everett, D., Mulier, B., Old, S., & Bruce, C. (2009). Guidance On Dose Level Selection for Regulatory General Toxicology Studies for Pharmaceuticals. In *Laboratory Animal Sciences Association* (hal. 1–36).
- Rusli, Z., Sari, B. L., Wardatun, S., & Aristyo, W. (2020). Skrining Toksisitas Akut Beberapa Fraksi Buah Karondi (*Carissa carandas* L.) Pada Embrio Zebrafish (*Danio rerio*). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 89.
- Sadeghi, M. S., & Peery, S. (2018). Evaluation of toxicity and lethal concentration (LC 50) of silver and selenium nanoparticle in different life stages of the fish *Tenuosoma ilish* (Hamilton 1822). *Juniper Publishers, Hamilton 1822*, 01–09.
- Samson, J. C., & Shenker, J. (2000). The Teratogenic Effects Of Methylmercury On Early Development Of The Zebrafish , *Danio rerio*. *Aquatic Toxicology*, 48, 343–354.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., & Makang, V. M. A. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, 1(1), 47–53.
- Sant, K. E., & Timme-Laragy, A. R. (2019). Zebrafish as a Model for Toxicological Perturbation of Yolk and Nutrition in the Early Embryo. *Curr Environ Health Rep.*, 5(1), 125–133.
- Sinurat, F. A., Budi, A., Studi, P., Klinis, F., Kedokteran, F., & Gigi, K. (2023). Uji Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Kering Biji Mahoni (*Swietenia Mahogani* Jacq) Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diberikan Diet Tinggi Fruktosa. *Journal Of Health Science And Research*, 5(2), 684–694.
- Siti Winda Munawwaroh, Sri Peni Fitrianingsih, & Ratu Choesrina. (2022). Studi Literatur Aktivitas Antidiabetes Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.). *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2(2), 314–320.
- Situmorang, N. B., Dakhi, J. V., Anna, R., & Marbun, T. (2022). Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) terhadap Tikus Jantan Antihyperuricemic Activity of Ethanol Extract of Mahogany Seed (*Swietenia macrophylla*) against Male Rats. *J Pharm Sci & Pract*, 9(1), 12–16.
- Stemple, D. L. (2005). *Structure and Function Of the Notochord An Essential Organ For Chordate Development*. 132, 2503–2512.

- Syahrudin, G., Nurfadilawati, & Mohamad, K. (2017). Curcuminoid And Toxicity Levels Of Ethanol Extract Of Javanese Ginger (*Curcuma Xanthorrhiza*) On Brine Shrimp (*Artemia Salina*) Larvae And Zebrafish (*Danio Rerio*) Embryos. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*, 10(4), 169–173.
- Takaeb, M. J., & Leo, M. I. (2023). Identifikasi Metabolit Sekunder pada Sopi Kualin (SOKLIN) yang Dibuat Dengan dan Tanpa Fermentasi di Desa Kualin Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 6(2), 111–116.
- Tohir, D, Wuyung, P. E., & Farida, R. (2020). Anti-Cancer Activity of Swietenia Mahagoni Seed Extract in Ethyl Acetate-Induced Breast Cancer Cell T47D. *International Conference of the Indonesian Chemical Society (ICICS)*, 020030.
- Tohir, Dudi, Sari, F., & Herawati, I. (2020). Cytotoxicity of the Most Active Fraction of the Seeds of Swietenia macrophylla using Human Breast Cancer MCF-7 Cells. *Journal of Scientific and Applied Chemistry*, 23(7), 234–237.
- Ummum, A., Abidin, Z., & Aminah. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L .) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Ice Cream Dengan Metode Ferric Reducing Antioxidant Power. *Pharmaceutical Science Journal*, 1(4), 316–328.
- Utami, N. F., Nurdayanty, S. M., Sutanto, & Suhendar, U. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrudin, R., & Kadullah, I. (2021). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm . & Binn .). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(March), 32–39.
- Vasamsetti, M. B. K., Kim, N. S., Chon, K., & Park, H. H. (2020). Teratogenic And Developmental Toxic Effects Of Etridiazole On Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. *Applied Biological Chemistry*, 1-.
- Vincent, K. (1980). Probit Analysis. *The Statistician*, 21(3), 222.
- Wahyudi, A. T., & Minarsih, T. (2023). Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 06(01), 30–38.
- Wahyuni, R., Guswandi, & Rivai, H. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. 6(2).

- Widyastuti, N., Widiyani, T., & Listyawati, S. (2006). Efek Teratogenik Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff .) Boerl .) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L .). *Bioteknologi*, 3(2), 56–62.
- Wiendarlina, I. Y., Herlina, N., & Mareta, E. (2022). Toksisitas Akut Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih dengan Metode Zebrafish Embryo Toxicity (ZFET). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12(1), 78–88.
- Wijaya, R. C. (2014). Lethal Concentration 50% Of Pathchouli Oil (*Pogostemon Cablin*) Towards Zebrafish Embryo (*Danio rerio*). *Herb-Medicine Journal*, 3(2), 1–6.
- Winata, I. P., & Putri, A. D. (2019). Biji Mahoni Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 1(November), 89–94.
- Yainahu, J., Mile, L., Pratama, S., & Suherman. (2023). Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Rumput Laut Merah (*Eucheuma spinosum*) Segar Dan Kering. *Jambura Fish Processing Journa*, 5(2), 126–132.
- Yan, W., Zhang, T., Li, S., Wang, Y., Zhu, L., Cao, Y., & Lai, X. (2023). *Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Arecoline and Its Secondary Metabolites-Induced Dyskinesia in Zebrafish Embryos*.
- Yanti, E. K., & Putri, E. Y. (2018). Pengaruh Konsumsi Ekstrak Biji Mahoni Terhadap Tekanan Darah Pada Penderita Hipertensi Di Desa Pulau Jambu Wilayah Kerja Pukesmas Kuok Tahun 2018. *Jurnal Ners Universitas Pahlawan*, 2(2), 17–26.
- Yanti, Y. N., & Hepiyansori. (2018). Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia Mahogany* (L.)Jacq) Untuk Pembuatan Obat Anti Nyamuk Elektrik. *Jurnal Katalisator*, 3(1), 7–11.
- Ye, Q., Liu, H., Fang, C., Liu, Y., Liu, X., & Liu, J. (2019). Cardiotoxicity evaluation and comparison of diterpene alkaloids on zebrafish. *Drug and Chemical Toxicology*, 0(0), 1–8.
- Yulianita, & Effendi, E. M. (2015). Uji Efektivitas Jangka Panjang Kombinasi Ekstrak Buah Cabe Jawa dan Biji Mahoni sebagai Penambah Stamina pada Tikus Putih Jantan. *ACTA VETERINARIA INDONESIA*, 3(2), 64–69.
- Yumnamcha, T., Roy, D., & Devi, M. D. (2015). *Evaluation Of Developmental Toxicity and Apoptotic Induction Of The Aqueous Extract Of Millettia Pachycarpa Using Zebrafish as Model Organism* (Vol. 2248, Nomor October).
- Zulharmita, Kasypiah, U., & Rivai, H. (2012). Pembuatan Dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 4(2), 147–157.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Alur Penelitian



Lampiran 2. Surat Determinasi



PT. PALAPA MUDA PERKASA

CHEMICALS PRODUCT AND CHEMICAL ANALYSIS SERVICE

Jalan Kalimulya No 23 Cilodong, Kota Depok Jawa Barat, 16417

Telepon : 08118397999, Email : palapamudaperkasa2017@gmail.com



Depok, 10 Juni 2024

Nomor : 996/IPH.1.06/If.10/1/2024
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth,

Sdr(i). **SOFIYANTI**

NIM. **066120179**

UNIVERSITAS PAKUAN

Jalan Ciheuleut Pakuan No.162, RT.3/RW.6 Kota Bogor, Jawa Barat 16121

Dengan hormat,

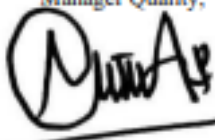
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi / determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "PMP", adalah :

No	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Biji Mahoni	Swietenia Macrophylla King	Meliaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Depok, 10 Juni 2024

Manager Quality,


 Novita

Lampiran 3. Surat Kaji Etik

**KOMITE ETIK PENGGUNAAN HEWAN PERCOBAAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN**

Jl. Pakuan PO BOX 452

**SURAT KEPUTUSAN KOMITE ETIK
No. 025 /KEPHP-UNPAK/06-2024**

Komite Etik Penggunaan Hewan Percobaan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, dalam upaya melindungi hak dan kesejahteraan subjek hewan percobaan dalam penelitian dengan teliti telah mengkaji rancangan penelitian berjudul

**Toksisitas Akut Ekstrak Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) Pada Embrio Zebrafish
(*Danio rerio*)**

Peneliti Utama : Sofiyanti

Institusi : Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor

Dan MENERIMA rancangan penelitian tersebut.

Tanggal ditetapkan

Bogor, 7 Juni 2024

Sekretaris Komite Etik



Nisa Najwa Rokhmah, M.Farm., Apt

Ketua Komite Etik



Drh. Min Rahminiwati, PhD

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Serbuk Simplisia dan Ekstrak

1. Rendemen Simplisia

$$\text{Bobot Awal} = 1,365 \text{ kg} \sim 1365 \text{ g}$$

$$\text{Bobot Akhir} = 8,19 \text{ kg} \sim 819 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Akhir (bobot biji kering)}}{\text{Bobot Awal (bobot biji mahoni)}} \times 100 \% \\ &= \frac{819 \text{ g}}{1365 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 60 \% \end{aligned}$$

2. Rendemen Serbuk Simplisia Biji Mahoni

$$\text{Bobot biji kering} = 8,19 \text{ kg} \sim 819 \text{ g}$$

$$\text{Bobot serbuk} = 7,48 \text{ kg} \sim 748 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Simplisia Serbuk}}{\text{Bobot Biji Mahoni Kering}} \times 100\% \\ &= \frac{748 \text{ g}}{819 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 91,3\% \end{aligned}$$

3. Rendemen Ekstrak Kering Biji Mahoni

$$\text{Bobot ekstrak} = 32,7 \text{ g}$$

$$\text{Bobot serbuk simplisia} = 150 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{32,7 \text{ g}}{150 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 21,8 \% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Hasil dan Perhitungan Kadar Air Simplisia dan Ekstrak

Perlakuan	Ulangan	Cawan Isi Sebelum Pemanasan (g)	Bobot Sampel (g)	Berat Akhir (g)	Kadar (%)	Rata- rata Kadar
Simplisia Biji Mahoni	1	59,2437	2,0136	59,1714	3,9531	4,0964
				59,1637		
	2	60,4289	2,0379	59,1641	4,2397	
				60,3541		
				60,3443		
				60,3425		
Ekstrak Biji Mahoni	1	48,6875	2,0280	48,6034	4,4970	4,7330
				48,5969		
	2	56,6473	2,0245	48,5963	4,9691	
				56,5524		
				56,5469		
				56,5467		

Perhitungan

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot sebelum pemanasan (g)} - \text{Bobot setelah pemanasan (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{Kadar air simplisia} = \frac{59,2437 \text{ g} - 59,1641 \text{ g}}{2,0379 \text{ g}} \times 100\% = 3,9531\%$$

$$\% \text{Kadar air simplisia} = \frac{60,4289 \text{ g} - 60,3425 \text{ g}}{2,0379 \text{ g}} \times 100 \% = 4,2397 \%$$

$$\% \text{Kadar air ekstrak} = \frac{48,6875 \text{ g} - 48,5963 \text{ g}}{2,0280 \text{ g}} \times 100 \% = 4,4970 \%$$

$$\% \text{ Kadar air ekstrak} = \frac{56,6473 \text{ g} - 56,5467 \text{ g}}{2,0245 \text{ g}} \times 100\% = 4,9691 \%$$

Lampiran 6. Hasil dan Perhitungan Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak

Perlakuan	Ulangan	Krus Kosong (g)	Bobot Sampel (g)	Krus + Abu (g)	Kadar (%)	Rata-rata Kadar (%)
Simplisia Biji Mahoni	1	36,8594	2,0155	36,9671	4,4569	4,3783
				36,9531		
				36,9524		
	2	44,2454	2,0164	44,3564	4,2997	
				44,3343		
				44,3321		
Ekstrak Biji Mahoni	1	40,3839	2,0108	40,5635	2,7352	3,1543
				40,4398		
				40,4389		
	2	35,4329	2,0064	35,5359	3,5735	
				35,5050		
				35,5046		

Perhitungan

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{\text{Bobot krus+Abu (g)} - \text{Bobot krus kosong (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

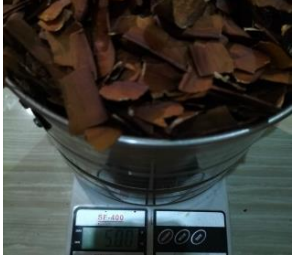
$$\% \text{ Kadar Abu Simplisia} = \frac{36,9524 \text{ g} - 36,9524 \text{ g}}{2,0155 \text{ g}} \times 100\% = 4,4569 \%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Simplisia} = \frac{44,3321 \text{ g} - 44,2454 \text{ g}}{2,0164 \text{ g}} \times 100\% = 4,2997 \%$$

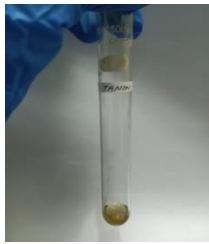
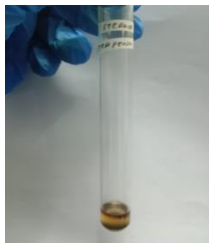
$$\% \text{ Kadar Abu Ekstrak} = \frac{40,4389 \text{ g} - 40,3839 \text{ g}}{2,0108 \text{ g}} \times 100 \% = 2,7352 \%$$

$$\% \text{ Kadar Abu Ekstrak} = \frac{35,5046 \text{ g} - 35,4329 \text{ g}}{2,0064 \text{ g}} \times 100 \% = 3,5735 \%$$

Lampiran 7. Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

 (Pengumpulan Bahan Baku)	 (Pemisahan Biji Mahoni dan Kulit)
 (Pengeringan Biji Mahoni)	 (Pembuatan Serbuk Simplisia)
 (Maserasi)	 (Maserat)
 (Vaccum dryer)	 (Ekstrak Biji Mahoni)

Lampiran 8. Skrining Fitokimia

Senyawa	Ekstrak
Alkaloid	  
Flavonoid	 
Tanin	
Terpenoid	
Saponin	

Lampiran 9. Perhitungan Pembuatan dan Pengenceran Konsentrasi

1. Uji Pendahuluan

a. Pembuatan larutan induk konsentrasi 1000 ppm

100 mg ekstrak kering biji mahoni ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan menggunakan air yang digunakan pada kontrol sampai tanda batas (1000 ppm)

b. Pembuatan deret konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 ppm

• 25 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

• 50 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

• 100 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

• 200 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 20 \text{ mL}$$

- 400 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 400 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 400 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 40 \text{ mL}$$

2. Uji Lanjut

- a. Pembuatan deret konsentrasi 50, 60, 70, 80, 90 ppm

- 50 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

- 60 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 60 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 60 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

- 70 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 70 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 70 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 7 \text{ mL}$$

- 80 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 80 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 80 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL}$$

- 90 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 90 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL} \times 90 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 9 \text{ mL}$$

Lampiran 10. Perhitungan Nilai LC50

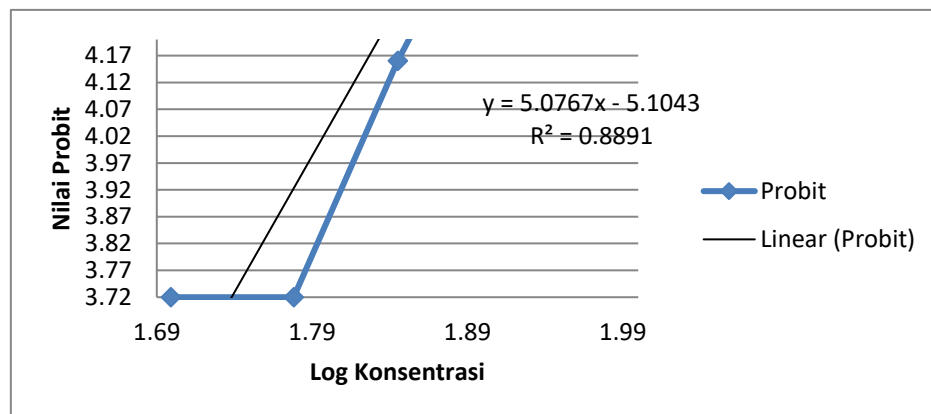
Perhitungan nilai LC_{50} didapatkan dengan menggunakan tabel probit, dengan menggunakan persamaan garis lurus antara log konsentrasi ekstrak yang digunakan dengan ditandai sebagai x dan nilai probit yang ditandai dengan y, kemudian diperoleh $y = a + bx$. Nilai LC_{50} yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode analisis pada *Microsoft Office Excel*.

1. Perhitungan LC_{50} Pada Jam Ke-24

a. Ulangan ke 1

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	1	10%	3,72
10	60	1,778	1	10%	3,72
10	70	1,845	2	20%	4,16
10	80	1,903	3	30%	4,48
10	90	1,954	5	50%	5,00

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = a + bx$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-5,1043))/5,0767$$

$$x = 1,99033$$

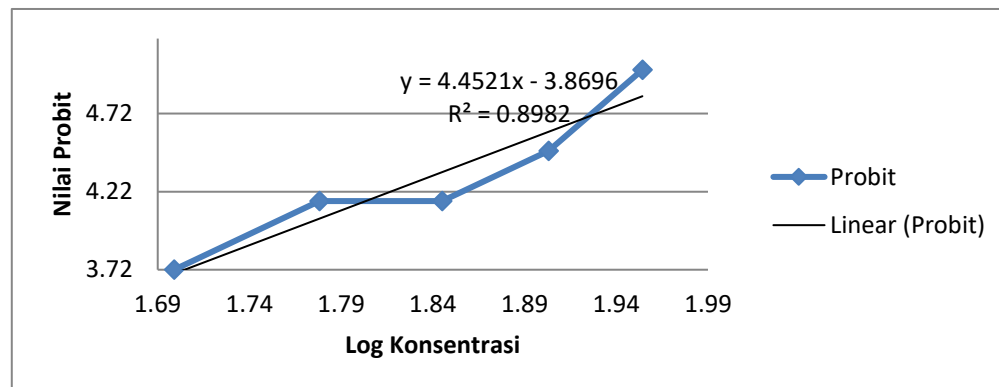
$$\text{Antilog } x = 1,99033$$

$$LC_{50} = 97,798 \text{ ppm}$$

b. Ulangan ke 2

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	1	10%	3,72
10	60	1,778	2	20%	4,16
10	70	1,845	2	20%	4,16
10	80	1,903	3	30%	4,48
10	90	1,954	5	50%	5,00

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$x = (y-a)/b$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$x = (5 - (-3,8696)) / 4,4521$$

$$y = ax + b$$

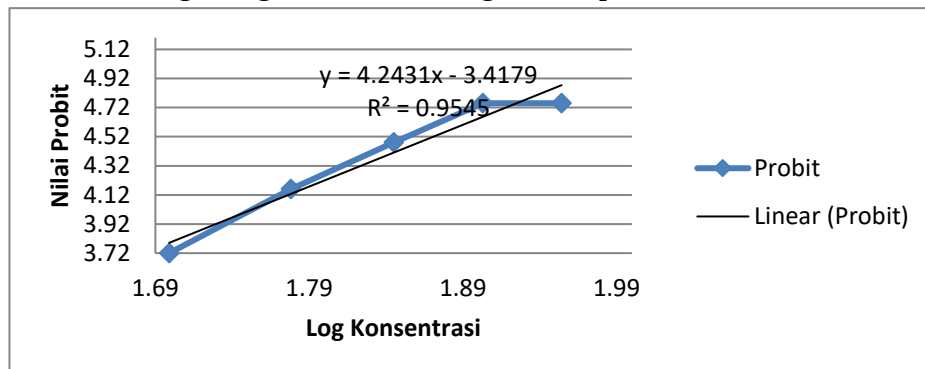
$$\text{Antilog } x = 1,99223$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 98,226 \text{ ppm}$$

c. Ulangan ke 3

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	1	10%	3,72
10	60	1,778	2	20%	4,16
10	70	1,845	3	30%	4,48
10	80	1,903	4	40%	4,75
10	90	1,954	4	40%	4,75

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$x = (y-a)/b$$

$$y = 5 (LC_{50})$$

$$x = (5 - (-3,4179))/4,2431$$

$$y = ax + b$$

$$\text{Antilog } x = 1,98390$$

$$\text{Nilai } LC_{50} = 96,361 \text{ ppm}$$

d. Rata-rata Nilai LC_{50} Pada Jam Ke 24

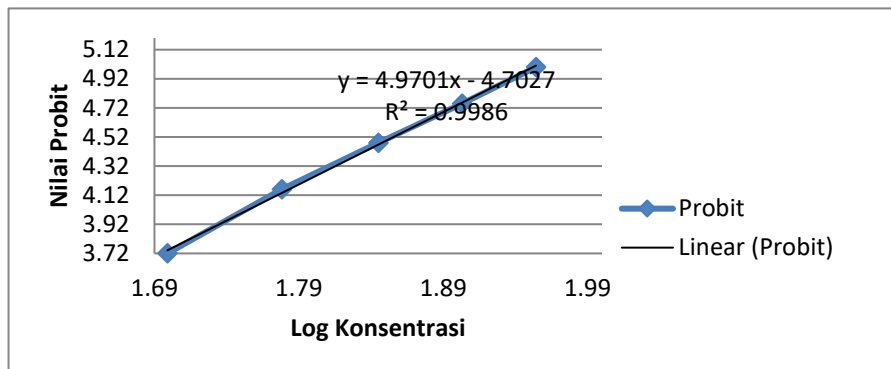
Ulangan ke	Nilai LC_{50} (ppm)
1	97,798
2	98,226
3	96,361
Rata-rata LC_{50}	97,462

2. Perhitungan LC_{50} Pada Jam Ke 48

a. Ulangan ke 1

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	1	10%	3,72
10	60	1,778	2	20%	4,16
10	70	1,845	3	30%	4,48
10	80	1,903	4	40%	4,75
10	90	1,954	5	50%	5,00

Kurva hubungan konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 (LC_{50})$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-4.7027)) / 4.9701$$

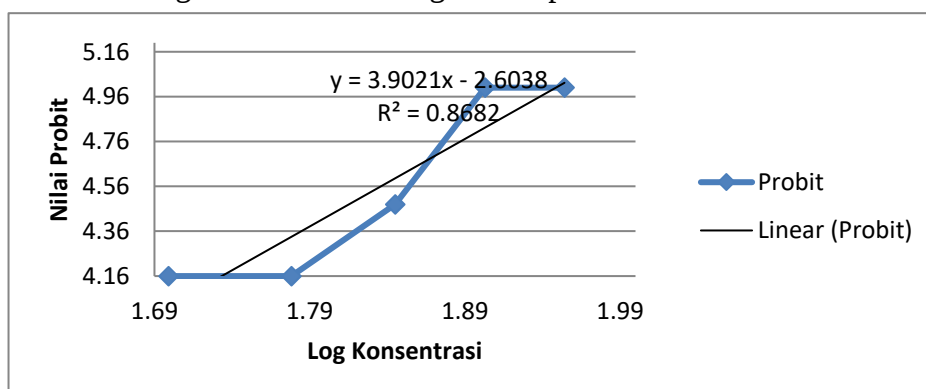
$$\text{Antilog } x = 1,95221$$

$$\text{Nilai } LC_{50} = 89,581$$

b. Ulangan ke 2

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	2	20%	4,16
10	60	1,778	2	20%	4,16
10	70	1,845	3	30%	4,48
10	80	1,903	5	50%	5,00
10	90	1,954	5	50%	5,00

Kurva hubungan konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-2,6038))/3,9021$$

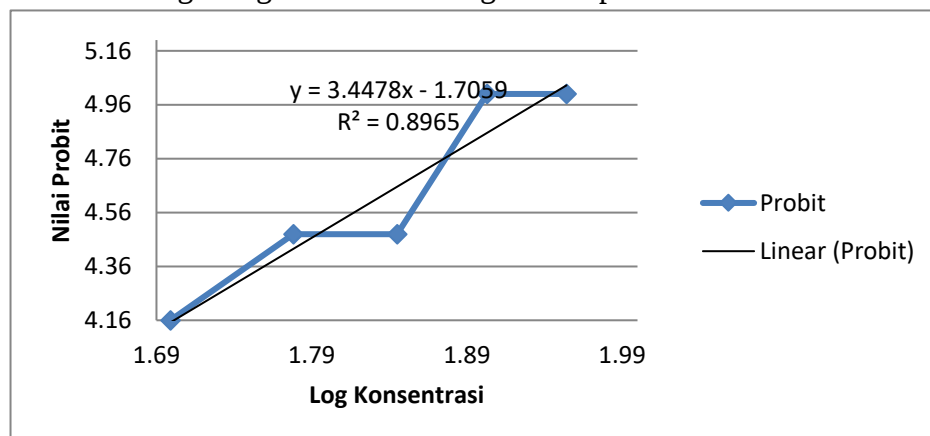
$$\text{Antilog } x = 1,94864$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 88,847 \text{ ppm}$$

c. Ulangan ke 3

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	1	10%	4,16
10	60	1,778	3	30%	4,48
10	70	1,845	3	30%	4,48
10	80	1,903	5	50%	5,00
10	90	1,954	5	50%	5,00

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-1,7059))/3,4478$$

$$\text{Antilog } x = 1,94498$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 88,101 \text{ ppm}$$

d. Rata-rata Nilai LC_{50} Pada Jam Ke 48

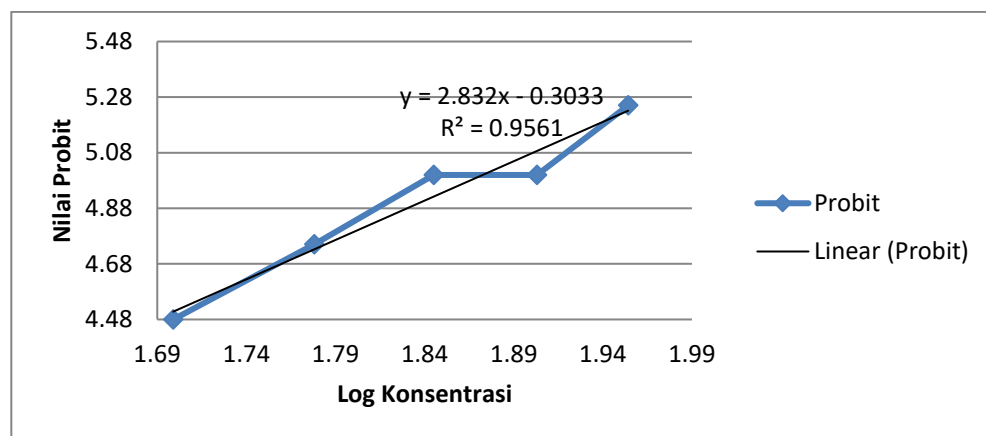
Ulangan ke	Nilai LC_{50} (ppm)
1	89,581
2	88,847
3	88,101
Rata-rata LC_{50}	88,843

3. Perhitungan LC_{50} Pada Jam Ke 72

a. Ulangan ke 1

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	3	30%	4,48
10	60	1,778	4	40%	4,75
10	70	1,845	5	50%	5,00
10	80	1,903	5	50%	5,00
10	90	1,954	6	60%	5,25

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 (LC_{50})$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-0,3033))/2,832$$

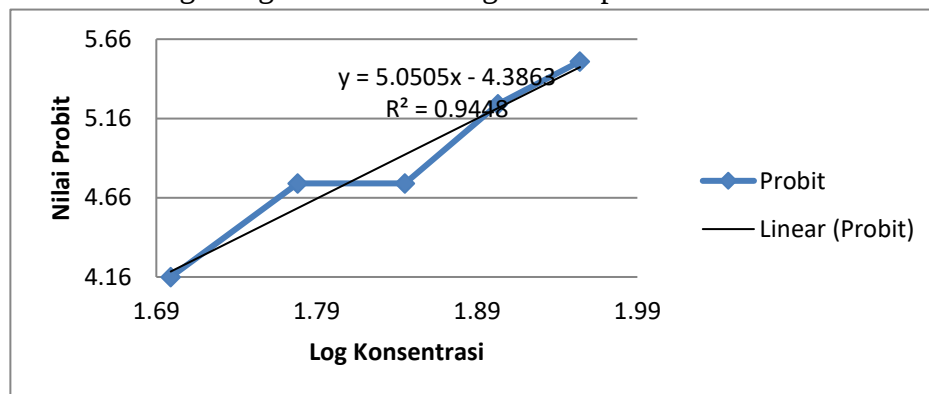
$$\text{Antilog } x = 1,87263$$

$$\text{Nilai } LC_{50} = 74,582 \text{ ppm}$$

b. Ulangan ke 2

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	2	20%	4,16
10	60	1,778	4	40%	4,75
10	70	1,845	4	40%	4,75
10	80	1,903	6	60%	5,25
10	90	1,954	7	70%	5,25

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-4,3863))/5,0505$$

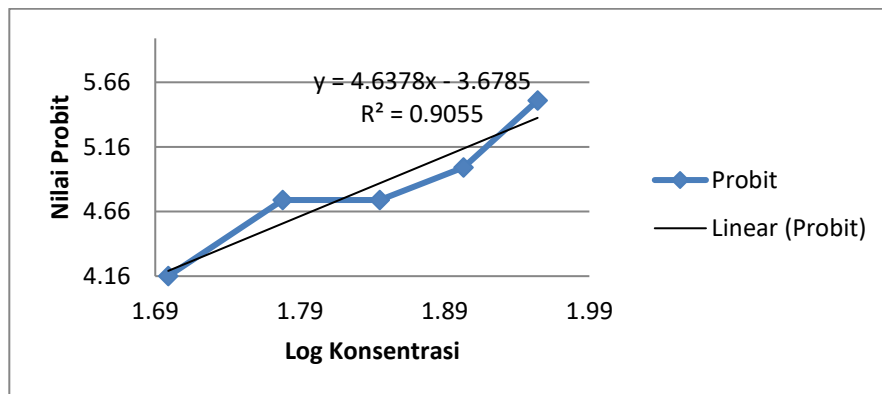
$$\text{Antilog } x = 1,85849$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 72,192 \text{ ppm}$$

c. Ulangan ke 3

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	2	20%	4,16
10	60	1,778	4	40%	4,75
10	70	1,845	4	40%	4,75
10	80	1,903	5	50%	5,00
10	90	1,954	7	70%	5,52

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-3,6785))/4,6378$$

$$\text{Antilog } x = 1,87125$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 74,345 \text{ ppm}$$

d. Rata-rata Nilai LC_{50} pada Jam Ke 72

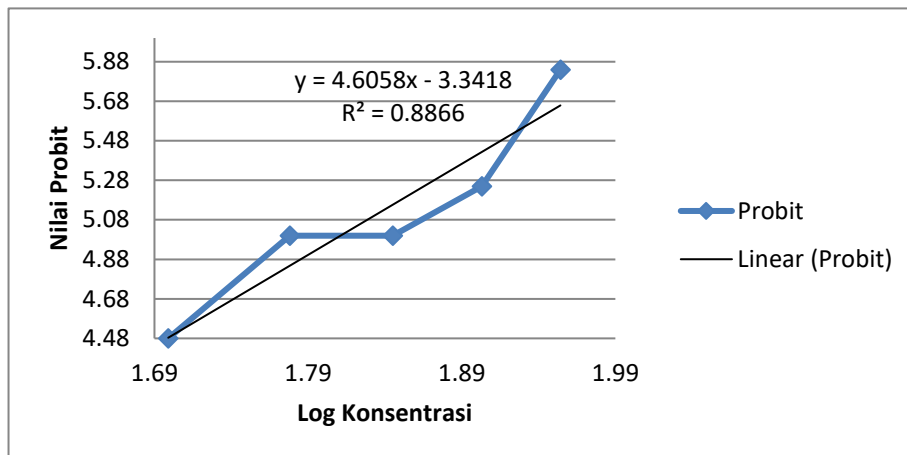
Ulangan ke	Nilai LC_{50} (ppm)
1	74,582
2	72,192
3	74,345
Rata-rata LC_{50}	73,706

4. Perhitungan LC_{50} Pada Jam Ke 96

a. Ulangan ke 1

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	3	30%	4,48
10	60	1,778	5	50%	5,00
10	70	1,845	5	50%	5,00
10	80	1,903	6	60%	5,25
10	90	1,954	8	80%	5,84

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-3,3418))/4,6058$$

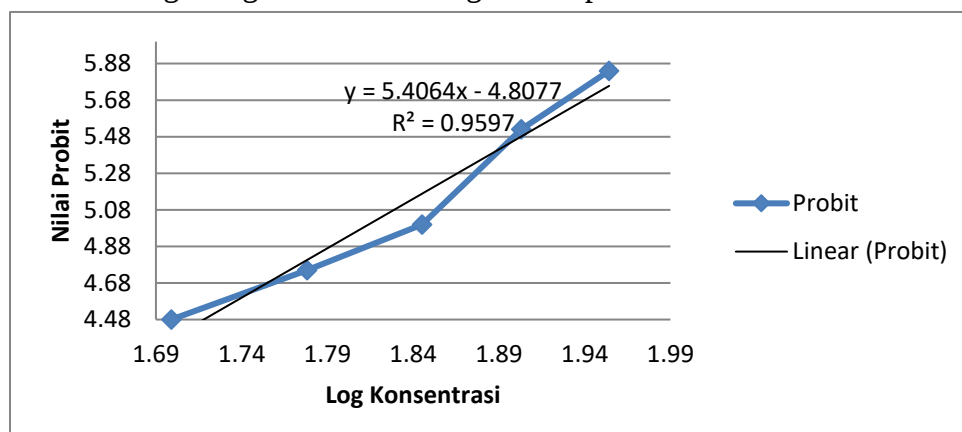
$$\text{Antilog } x = 1,81115$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 64,737 \text{ ppm}$$

b. Ulangan ke 2

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	3	30%	4,48
10	60	1,778	4	40%	4,75
10	70	1,845	5	50%	5,00
10	80	1,903	7	70%	5,25
10	90	1,954	8	80%	5,84

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-4,8077))/5,4064$$

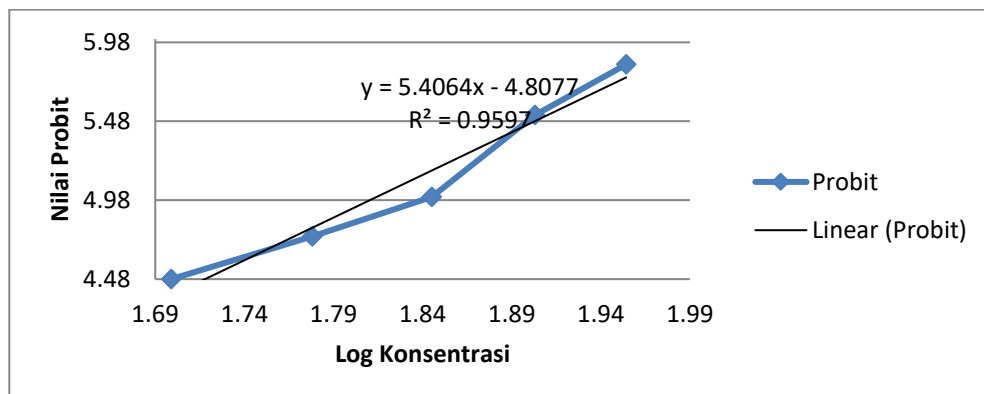
$$\text{Antilog } x = 1,81409$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 65,176 \text{ ppm}$$

c. Ulangan ke 3

Total Embrio	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Embrio Mati	% Kematian	Nilai Probit
10	50	1,699	3	30%	4,48
10	60	1,778	4	40%	4,75
10	70	1,845	5	50%	5,00
10	80	1,903	6	60%	5,25
10	90	1,954	8	80%	5,84

Kurva hubungan log konsentrasi dengan nilai probit



$$y = bx + a$$

$$y = 5 \text{ (LC}_{50}\text{)}$$

$$y = ax + b$$

$$x = (y-a)/b$$

$$x = (5 - (-4,0433))/4,9606$$

$$\text{Antilog } x = 1,82303$$

$$\text{Nilai LC}_{50} = 66,531 \text{ ppm}$$

d. Rata-rata Nilai LC_{50} pada Jam Ke 96

Ulangan ke	Nilai LC_{50} (ppm)
1	64,737
2	65,176
3	66,531
Rata-rata LC_{50}	65,481

Lampiran 11. Hasil Analisis Malformasi terhadap Embrio Ikan Zebra

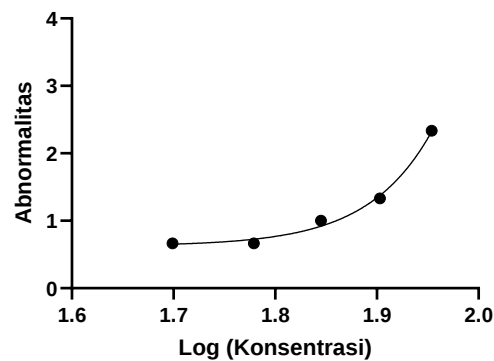
Waktu (Jam)	Ulangan	Konsentrasi Ekstrak Biji Mahoni (ppm)						Jumlah Total
		KI	50 ppm	60 ppm	70 ppm	80 ppm	90 ppm	
24	1	0	0	1	1	1	3	18
	2	0	1	0	1	2	2	
	3	0	1	1	1	1	2	
48	1	0	0	1	1	2	3	21
	2	0	1	0	1	2	4	
	3	0	1	1	1	1	2	
72	1	0	0	1	1	2	3	23
	2	0	1	1	1	2	4	
	3	0	1	1	1	2	2	
96	1	0	1	1	2	3	3	29
	2	0	1	2	1	2	4	
	3	0	1	2	1	2	3	

Lampiran 12. Perhitungan EC_{50}

Perhitungan nilai EC_{50} menggunakan GraphPad Prism versi 10. dengan memasukkan data log konsentrasi (sumbu x) dan abnormalitas (sumbu y).

1. Perhitungan EC_{50} pada jam ke-24

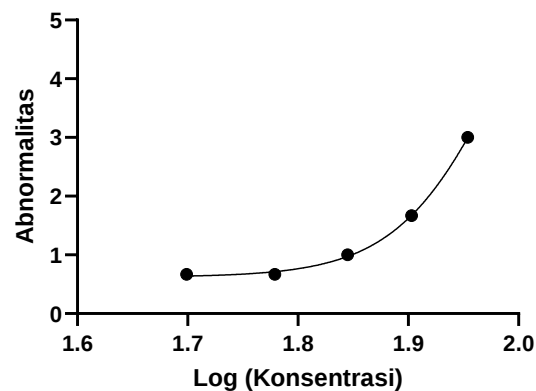
Kurva Hubungan Log(konsentrasi) dengan Abnormalitas



	Abnormalitas
log(agonist) vs. response -- Variable slope (four parameters)	
Best-fit values	
Bottom	0,6255
Top	109,8
LogEC50	2,210
HillSlope	7,042
EC50	162,1
Span	109,2
95% CI (profile likelihood)	
Bottom	1,112
Top	
LogEC50	1,842 to ???
HillSlope	
EC50	69,51 to ???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	11
R squared	0,6782
Sum of Squares	2,703
Sy.x	0,4957
Number of points	
# of X values	15
# Y values analyzed	15

2. Perhitungan EC_{50} pada jam ke-48

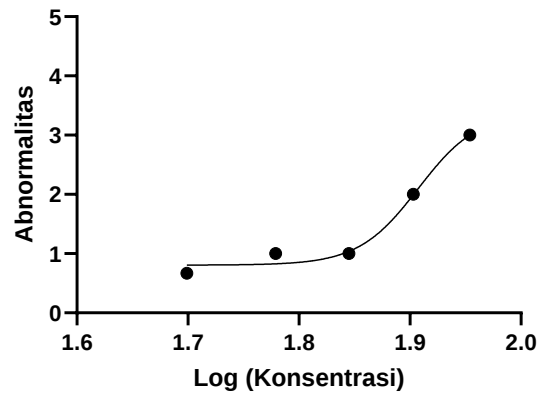
Kurva Hubungan Log(konsentrasi) dengan Abnormalitas



	Abnormalitas
log(agonist) vs. response -- Variable slope (four parameters)	
Best-fit values	
Bottom	0,6214
Top	7,831
LogEC50	1,988
HillSlope	9,005
EC50	97,32
Span	7,210
95% CI (profile likelihood)	
Bottom	
Top	2,280
LogEC50	1,861 to ???
HillSlope	???
EC50	72,67 to ???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	11
R squared	0,7429
Sum of Squares	4,011
Sy.x	0,6039
Number of points	
# of X values	15
# Y values analyzed	15

3. Perhitungan EC_{50} pada jam ke-72

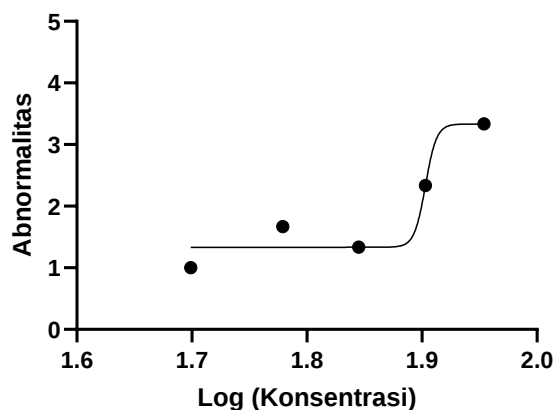
Kurva Hubungan Log(konsentrasi) dengan Abnormalitas



	Abnormalitas
log(agonist) vs. response -- Variable slope (four parameters)	
Best-fit values	
Bottom	0,8060
Top	3,392
LogEC50	1,907
HillSlope	16,13
EC50	80,81
Span	2,586
95% CI (profile likelihood)	
Bottom	1,250
Top	2,375
LogEC50	1,860 to ???
HillSlope	1,070 to ???
EC50	72,41 to ???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	11
R squared	0,7947
Sum of Squares	2,819
Sy.x	0,5063
Number of points	
# of X values	15
# Y values analyzed	15

4. Perhitungan EC_{50} pada jam ke-96

Kurva Hubungan Log(konsentrasi) dengan Abnormalitas



	Abnormalitas
log(agonist) vs. response -- Variable slope (four parameters)	
Best-fit values	
Bottom	1,333
Top	3,333
LogEC50	1,903
HillSlope	90,13
EC50	79,98
Span	2,000
95% CI (profile likelihood)	
Bottom	1,737
Top	???
LogEC50	1,853 to ???
HillSlope	???
EC50	71,23 to ???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	11
R squared	0,7423
Sum of Squares	3,333
Sy.x	0,5505
Number of points	
# of X values	15
# Y values analyzed	15

Lampiran 13. Analisis Data Pengaruh Waktu Terhadap Nilai LC_{50} Dengan Menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK)

1. Analisis ANOVA

Hasil analisis data dengan menggunakan statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($p \leq 0.005$) pada perlakuan pengaruh waktu terhadap nilai LC_{50} sehingga dilakukan uji lanjut Duncan.

Tabel analisis ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nilai LC_{50}

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1878.538 ^a	5	375.708	297.524	.000
Intercept	79458.782	1	79458.782	62923.617	.000
Perlakuan	1877.892	3	625.964	495.703	.000
Ulangan	.646	2	.323	.256	.782
Error	7.577	6	1.263		
Total	81344.896	12			
Corrected Total	1886.114	11			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .993)

H_0 = Tidak ada pengaruh lamanya waktu pemaparan terhadap nilai LC_{50}

H_1 = Ada pengaruh lamanya waktu pemaparan terhadap nilai LC_{50}

Hasil analisis data menunjukkan nilai $p = 0,000 \leq 0,05$ maka dapat disimpulkan tolak H_0 terima H_1 yaitu adanya pengaruh lamanya waktu pemaparan terhadap nilai LC_{50} .

2. Uji Lanjut Duncan

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan nilai LC_{50} memiliki pengaruh yang berbeda pada waktu jam ke 24, 48, 72 dan 96.

Nilai LC_{50}

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
96	3	65.48133			
72	3		73.70633		
48	3			88.84267	
24	3				97.46167
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

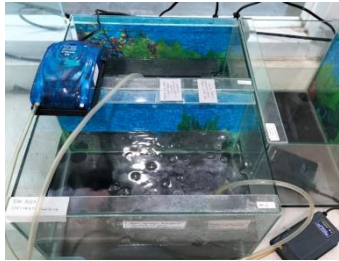
The error term is Mean Square(Error) = 1.263.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0.05.

Keterangan :

Berdasarkan hasil yang diperoleh melalui tabel diatas menunjukkan adanya pengaruh yang berbedanya terhadap nilai LC_{50} .

Lampiran 14. Dokumentasi Uji Toksisitas Akut

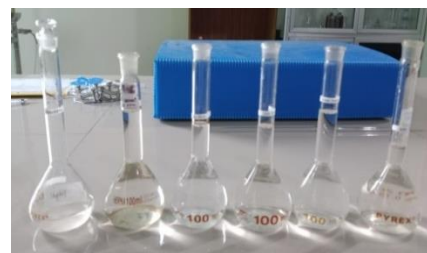
(Aerasi 24 Jam)



(Adaptasi Embrio)



(Embrio Ikan Zebra)



(Larutan Uji)



(Wellplate 24 Biji Mahoni)



(Mikroskop)