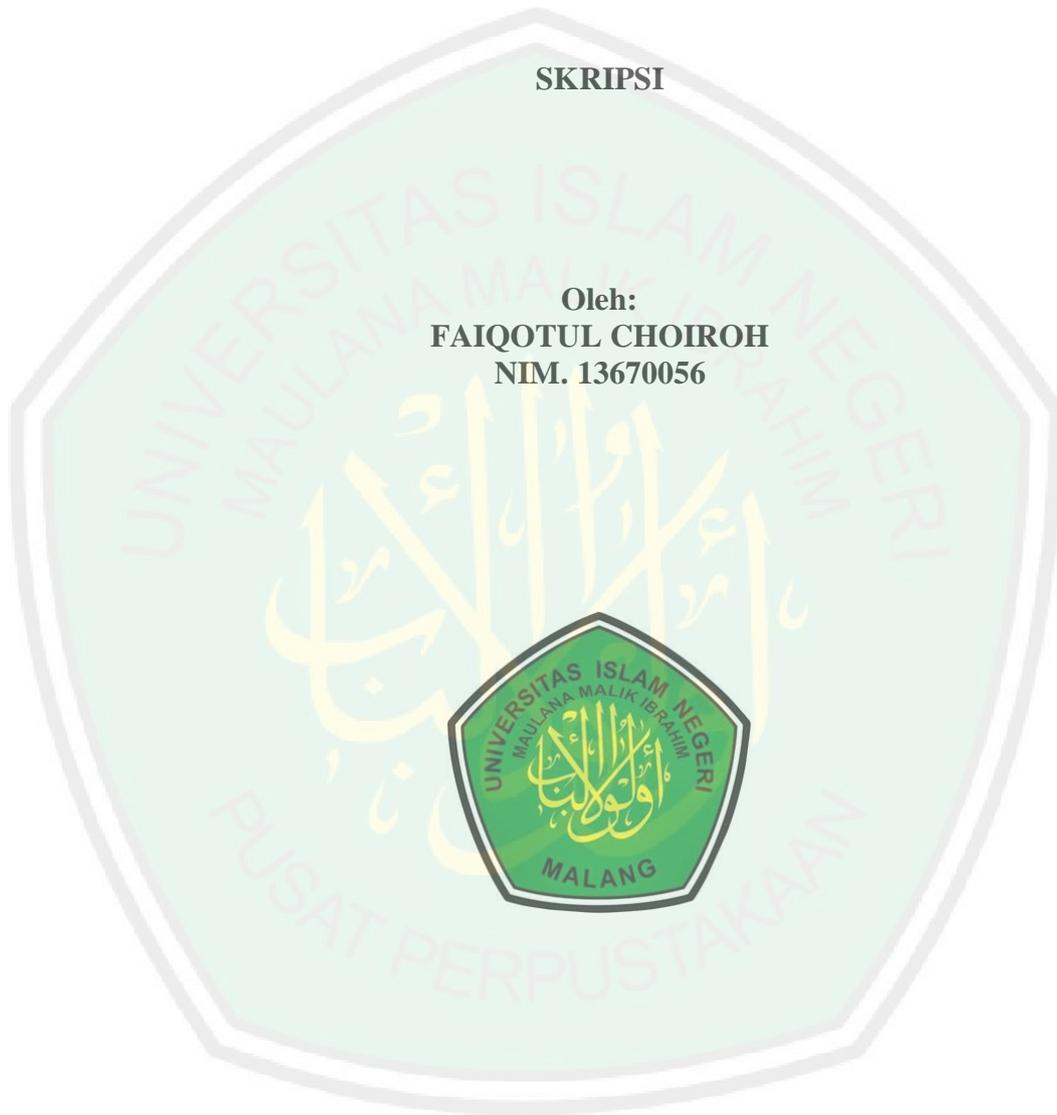


**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BAWANG SABRANG
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

Oleh:
FAIQOTUL CHOIROH
NIM. 13670056



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BAWANG SABRANG
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

Oleh:

**FAIQOTUL CHOIROH
NIM. 13670056**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BAWANG SABRANG
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

Oleh:
FAIQOTUL CHOIROH

NIM. 13670056

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 26 April 2018

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

Hajar Sugihantoro, MPH, Apt
NIP. 19851216 20160801 1 083

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BAWANG SABRANG
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

Oleh:

FAIQOTUL CHOIROH

NIM. 13670056

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Peryaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 26 April 2018

Ketua Penguji : drg. Anik Listiyana, M.Biomed
NIP.19800805 200912 2001

Anggota Penguji 1. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm
NIP. 19900221 201801 1 001

2. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt
NIP. 19800203 200912 2003

3. Hajar Sugihantoro, MPH, Apt
NIP. 19851216 20160801 1 083









Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP.19800203 200912 2003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Faiqotul Choiroh

NIM : 13670056

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kesehatan dan Ilmu Kesehatan

Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Bawang Sabrang
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dan Doksorubisin
terhadap Apoptosis Sel Kanker Serviks Hela

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencamtumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 06 Mei 2018

Yang membuat pernyataan,



Faiqotul Choiroh
NIM. 13670056

MOTO

وَإِذَا سَأَلَكَ عِبَادِي عَنِّي فَإِنِّي قَرِيبٌ أُجِيبُ دَعْوَةَ الدَّاعِ إِذَا دَعَانِ فَلْيَسْتَجِيبُوا لِي
وَلْيُؤْمِنُوا بِي لَعَلَّهُمْ يَرْشُدُونَ

“Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu tentang Aku, maka (jawablah), bahwasanya Aku adalah dekat. Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila ia berdoa kepada-Ku, maka hendaklah mereka itu memenuhi (segala perintah)-Aku dan hendaklah mereka beriman kepada-Ku, agar mereka selalu berada dalam kebenaran.”

(QS. Al-Baqarah: 186)



PERSEMBAHAN

Karya ini penulis persembahkan kepada semua yang selalu mendukung penulis, menemani penulis dalam keadaan apapun dan mengajarkan banyak hal kepada penulis. Penulis mengucapkan terima kasih dengan setulus-tulusnya dan penulis berdoa semoga Allah membalas kebaikan anda sekalian.

Karya ini juga penulis persembahkan kepada semua yang selalu ingin tahu, semua yang selalu belajar dan semua yang sedang berjuang dalam kehidupannya. Jangan menyerah karena Allah tidak pernah mengabaikan usaha hamba-Nya.



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh...

Segala puji bagi Allah Swt, yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring terselesaikannya skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan ketulusan penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku ketua jurusan Farmasi dan pembimbing utama.
2. Drg. Anik Listiyana selaku dosen konsultan.
3. Hajar Sugihantoro, MPH, Apt selaku pembimbing agama.
4. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm, Apt selaku penguji utama

Yang telah memberikan ilmu, bimbingan, arahan dan nasihat dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih atas dorongan dan motivasi yang selalu diberikan kepada penulis.

Proses penyusunan skripsi ini melibatkan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua tercinta, Bapak dan Ibu yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa dan motivasi kepada penulis untuk menjadi insan yang lebih baik, serta selalu menjadi rumah yang menentramkan di kala penulis penat. Saudari-saudari, adek Rifa dan Ais yang selalu mampu memberikan senyuman bagi penulis.
2. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-REDr selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Seluruh dosen jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terimakasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
5. Seluruh dosen dan staf Departemen Parasitologi dan Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UGM yang membantu penelitian.
6. Aldila Raudatus Syarifah yang selalu menemani penulis dalam keadaan apapun, selalu memberi nasihat, motivasi dan saran yang membangun. Fadhilah Q. Ayun dan Umi Eka Maya yang selalu menyediakan waktu untuk sekedar melepas penat dan memotivasi penulis.
7. Tim Riset Antikanker 2013 *Cancer Metabolomic* (Trian, Atina, Olden dan Astri) yang telah berbagi suka dan duka dalam menyelesaikan tugas akhir.
8. Teman-teman Farmasi angkatan 2013 (GOLFY) yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi serta kenangan suka cita yang dirajut bersama dalam menggapai mimpi.
9. Untuk semua rekan dan pihak yang membantu dalam penulisan skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu namanya.
Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh...

Malang, 06 Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	
MOTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
ABSTRAK INDONESIA	xi
ABSTRAK INGGRIS	xii
ABSTRAK ARAB	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Penelitian	7
BAB II STUDI PUSTAKA	
2.1 Tinjauan tentang Tanaman	9
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Bawang Sabrang	9

2.1.2	Morfologi Bawang Sabrang	11
2.1.3	Manfaat Bawang Sabrang	12
2.1.4	Kandungan Bawang Sabrang	13
2.2	Ekstraksi Bawang Sabrang	17
2.3	Tinjauan tentang apoptosis sel	19
2.4	Tinjauan tentang kanker	23
2.4.1	Deskripsi Kanker	23
2.4.2	Jenis Kanker	24
2.4.3	Proses Karsinogenesis	24
2.5	Tinjauan tentang Serviks	26
2.6	Tinjauan tentang Kanker Serviks	29
2.6.1	Definisi Kanker Serviks	29
2.6.2	Etiologi Kanker Serviks	29
2.6.3	Faktor Risiko Kanker Serviks	33
2.6.4	Patogenesis Kanker Serviks	33
2.6.5	Patofisiologi Kanker Serviks	35
2.6.6	Manifestasi Klinis Kanker Serviks	36
2.6.7	Diagnosis Kanker Serviks	37
2.6.8	Stadium Kanker Serviks	40
2.6.9	Terapi Kanker Serviks	42
2.6.10	Pencegahan Kanker Serviks	44
2.7	Tinjauan tentang Kultur Sel Kanker Serviks	45
2.8	Doktorubisin	46

2.9 Uji Sitotoksik	48
--------------------------	----

2.10 Uji Apoptosis	49
--------------------------	----

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA

3.1 Bagan Kerangka Konseptual	51
-------------------------------------	----

3.2 Hipotesis	54
---------------------	----

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	55
--	----

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	56
---------------------------------------	----

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	57
--	----

4.3.1 Variabel Penelitian	57
---------------------------------	----

4.3.2 Definisi Operasional Variabel	57
---	----

4.4 Alat dan Bahan Penelitian	59
-------------------------------------	----

4.4.1 Alat	59
------------------	----

4.4.2 Bahan	59
-------------------	----

4.5 Prosedur Penelitian	60
-------------------------------	----

4.5.1 Determinasi Tanaman	60
---------------------------------	----

4.5.2 Preparasi Sampel	60
------------------------------	----

4.5.3 Analisa Kadar Air Simplisia Bawang Sabrang	60
--	----

4.5.4 Ekstraksi Bawang Sabrang	60
--------------------------------------	----

4.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	61
--	----

4.5.5.1 Penyiapan Sel	61
-----------------------------	----

4.5.5.2 Penghitungan Sel Kanker	61
---------------------------------------	----

4.5.5.3 Peletakan Sel pada 96-wellplate	62
---	----

4.5.5.4 Pemberian Larutan Sampel pada 96-wellplate	62
4.5.5.5 Pemberian Larutan MTT	63
4.5.6 Analisa Apoptosis Sel dengan Flowsitometri	64
4.5.7 Analisis Data	65
4.5.7.1 Analisis Data Hasil Uji MTT	65
4.5.7.2 Analisis Data Apoptosis Sel dengan flowcytometry	66
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Preparasi Sampel	67
5.2 Penentuan Kadar Air Simplisia	68
5.3 Ekstraksi Bawang Sabrang	69
5.4 Uji Sitotoksik Kombinasi dengan Metode MTT	70
5.5 Uji Apoptosis	77
5.6 Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Bawang Sabrang dan Doksorubisin terhadap Apoptosis Sel Kanker Serviks HeLa dalam Perspektif Islam	83
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	87
6.2 Saran	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Senyawa yang Diisolasi dari Bawang Sabrang	14
Tabel 2.2 Fungsi gen HPV	31
Tabel 2.3 Stadium Kanker Serviks	39
Tabel 5.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Bawang Sabrang	68
Tabel 5.2 Hasil maserasi ekstrak etanol 96 % umbi bawang sabrang (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.)	70
Tabel 5.3 Hasil perhitungan indeks kombinasi	75
Tabel 5.3 Hasil Uji ANOVA <i>one way</i>	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar Tanaman <i>Eleutherine palmifolia</i>	12
Gambar 2.2 Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis	21
Gambar 2.3 Uterus, Serviks dan Vagina	27
Gambar 2.4 <i>Squamocolumnar Junction</i>	27
Gambar 2.5 Zona Transformasi Serviks	27
Gambar 2.6 Histologi Epitel Gepeng Serviks	29
Gambar 2.7 Perjalanan Penyakit Kanker Serviks	32
Gambar 2.8 Mekanisme Infeksi HPV	35
Gambar 2.9 Mikroanatomi Displasia	36
Gambar 2.10 Hasil Pemeriksaan <i>Pap Smear</i>	37
Gambar 2.11 Struktur Doksorubisin	46
Gambar 2.12 Flowsitometri FACS-Calibur	50
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	51
Gambar 4.1 Skema Penelitian	56
Gambar 4.2 Desain <i>Wellplate</i> untuk Uji Sitotoksik Kombinasi	63
Gambar 5.1 Penampakan Sel Hela Setelah Inkubasi 24 Jam	72
Gambar 5.2 Viabilitas Sel Pada Uji Kombinasi	73
Gambar 5.3 Indeks Kombinasi	74
Gambar 5.4 Penampakan Sel Hela Setelah Treatment.....	77
Gambar 5.5 Hasil Persebaran Sel	78

Gambar 5.6 Hasil Pemisahan Warna Oleh Metode Cell Quest Pada Hasil Uji

Flowsitometri 80

Gambar 5.7 Grafik Persebaran Sel Hasil Uji Flowsitometri 81



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja

Lampiran 2 Uji Kadar Air Simplisia Umbi Bawang Sabrang

Lampiran 3 Hasil Ekstraksi Bawang Sabrang

Lampiran 4 Lampiran Uji Sitotoksik Kombinasi

Lampiran 5 Lampiran Uji Apoptosis

Lampiran 6 Dokumentasi



DAFTAR SINGKATAN

APAF1	: Apoptotic Protease Activating Factor 1
ASPP	: Apoptosis Stimulating of P53 Protein
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
CIN	: Cervical Intraepithelial Neoplasia
CIS	: Carcinoma In Situ
CT scan	: Computerized Tomography Scan
dATP	: Deoxyadenosine Triphosphate
DES	: Diethylstilbestrol
DISC	: Death Inducing Signaling Complex
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FADD	: Fas Associated Death Domain
FIGO	: International Federation of Gynaecology and Obstetrics
FSC	: forward-scattered light
HGSIL	: High Grade Squamous Intraepithelial Lesion
HPV	: Human Papilloma Virus
HRT	: Hormone Replacement Therapy
IC50	: Inhibitory Concentration 50
ICAD	: Caspase-Activated Deoxyribonuclease Inhibitor
LVRH	: Laparoscopico-vaginal Radical Histerectomy
LEEP	: Loop Electrosurgical Excisional Procedure
LGSIL	: Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion
MDR	: Muli Drug Resistance

MDM2	: Mouse Double Minute 2
MK	: Medium Komplit
MRI	: Magnetic Resonance Imaging
MTT	: Microculture Tetrazolium Salt
PARP	: Poly-ADP Ribose Polymerase
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PI	: Propidium Iodide
Rb	: Retinoblastoma Protein
RH	: Radical Histerectomy
RNA	: Ribonucleic Acid
SDS	: Sodium Duodecyl Sulphate
SSC	: Side-scattered Light
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TNM	: Tumor, Node and Metastasis
TRAIL	: TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan
URR	: Upstream Regulatory Region

ABSTRAK

Choiroh, F. 2018. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dan Doksorubisin terhadap Apoptosis Sel Kanker Serviks HeLa.

Pembimbing: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

(II) Hajar Sugihantoro, MPH, Apt

Bawang sabrang merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah yang secara empiris memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Bawang sabrang diketahui memiliki kandungan flavonoid yang mempunyai aktivitas antikanker. Kanker merupakan penyebab kematian utama diseluruh dunia, dengan kasus kanker terbanyak yaitu kanker payudara dan serviks. Pengobatan kanker yang banyak menimbulkan efek samping dan berpeluang terjadinya kegagalan pengobatan. Salah satu cara untuk penanggulannya adalah pengkombinasian agen kemoterapi dengan agen kemoprevensi seperti bawang sabrang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dalam meningkatkan efikasi doksorubisin pada sel kanker serviks HeLa dan mengetahui potensi ekstrak bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dikombinasikan doksorubisin dalam meningkatkan apoptosis dalam sel kanker serviks HeLa. Ekstraksi bawang sabrang dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik dan pelarut etanol 96%. Aktivitas sitotoksik tunggal dan kombinasi diketahui dengan menggunakan metode MTT. Pengaruh kombinasi terhadap apoptosis diketahui dengan metode flowsitometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek sitotoksik kombinasi terbaik didapat pada kombinasi ekstrak bawang sabrang 100 ppm dan doksorubisin 50 nM. Hasil uji apoptosis menunjukkan bahwa kombinasi terbaik ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin tidak dapat meningkatkan apoptosis sel kanker serviks HeLa.

Kata kunci: umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.), doksorubisin, kombinasi, apoptosis, sel kanker serviks HeLa

ABSTRACT

Choirah, Faiqotul. 2018. **The Influence of Combination Sabrang Onion Extract (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) and Doxorubicin to Apoptosis of Cervical Cancer Cells HeLa.** Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Advisor: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

(II) Hajar Sugihantoro, MPH, Apt

The onion sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) is a typical plant of Central Kalimantan. The onion sabrang empirically has many benefits in the field of health. The onion sabrang has a flavonoid content that has anticancer activity. The cancer disease is the main cause of human death around the world, with most cases of cancer of the breast and cervix. The cancer treatment has many side effects and the chance of failure in the treatment process. The one way of handling this case is with combining chemotherapy agents with chemoprevention agents such as sabrang onions. The purpose of this research is to know the potency of onion sabrang extract (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) in increase the efficacy of doxorubicin in cervical cancer cells of HeLa and to know the potency of onion sabrang extract (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) combined with doxorubicin in increase apoptosis in cervical cancer cells HeLa. The onion sabrang was performed with ultrasonic waves extraction method and ethanol solvent of 96%. The single cytotoxic activity and combination is using MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*) method. The effect of combination on apoptosis is using the flow cytometric method. The research results showed that the best cytotoxic effect of combination was obtained on sabrang onion extract combination of 100 ppm and doxorubicin 50 nM. The results of apoptotic test show that the best combination of sabrang onion extract and doxorubicin can not increase apoptosis of cervical cancer cells HeLa.

Keywords: Onion sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.), Doxorubicin, Combination, Apoptosis, Cervical Cancer Cells HeLa

ملخص البحث

خبيرة، فإقة. 2018. تأثير مزيج من مستخلص البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) و دوكسوروبيبين الى افوتوسيس خلايا السرطان عنق الرحم هيللا. البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

المشرف الأول: الدكتور، رونيحة الموتوعة، الماجستير.، المشرف الثاني: حجر سوجيحتنورا، الماجستير.

البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) هو نبات النموذجيكا ليما نتاناالمركزي. البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) هو تجريبيا العديد منا لفوائدفي مجالالصحة. البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) فيه محتوي عليا لفلافونويد الذيلديها نشاط مضاد للسرطان. السرطا نهو السبب الرئيسي البشرية في جميعا نحاء العالم، معمظما لاتسرطان الثدي و عنق الرحم. علاج السرطانيسبب العديد منا لاثارجا نبي هو فرصحد وثفش لفي العلاج. طريق هوا حد هلتغلب معها هو من خلالا لجمعبين عوامل علاج الكيمائي مع الوقاية الكيمائي مثل كالبصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر). والهدا فمنهدا البحث هو للمعرفه المحتملة مستخلص البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) في تحسينعا ليهد وكسوروبيبين على خلايا سرطان عنقالرح مهيللا و معرفها لمحملة مستخلص البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) الذنيمزيج دوكسوروبيبين في تعزيز افوتوسيسفيسر طانعنق الرحمهيللا. ويتماستخراج البصل سايرانج (النوطيري نفالميغولي (ل. ميرر) بطريقها استخراج الموجاتفوق الصوتية والمذيبا لايتانول بنسبة 96%. النشاطالسلا ملخلا يالمفردة والمزيجا استخدام مع طريقه متت (الاستزراع المجهرى الملح). المعروفا نتاثير المزيج على افوتوسيس باستخدام مع طريقه فلوسيميترى. وتظهر النتايجالبحث انافضلتاثير السامللخلايا مزيج على مزيج مستخلص و البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) 100 جزء في المليون و دوكسوروبيبين 50 نانومولار. وتظهر نتايجا لاختبار افوتوسيس انافضلمزيج من مستخلص و البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر) و الدوكسوروبيبين لايمكننا نتعززا فوفتوسيس خلايا السرطا نعنق الرحمهيللا.

الكلمات الرئيسية: البصل سايرانج (النوطيرين فالميغولي (ل. ميرر)، دوكسوروبيبين، مزيج، افوتوسيس، خليهسرطان نعنقا لرحمهيللا.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012 terdapat rata-rata 14 juta kasus baru dan 8 juta kematian yang disebabkan oleh kanker di dunia. Kanker dengan jumlah kasus tertinggi pada wanita adalah kanker payudara (25,2%), kanker kolorektum (9,2%), kanker paru (8,7%), kanker serviks (7,9%) dan kanker lambung (4,8%). Kanker serviks yang merupakan kanker dengan jumlah kasus tertinggi nomor 4, mayoritas kasusnya (70%) ditemukan di negara berkembang (WHO, 2014). Berdasarkan data dari Patologi Anatomi tahun 2010 kanker serviks di Indonesia menduduki urutan kedua dari 10 kanker terbanyak. Insiden kanker serviks di Indonesia sebesar 12,7%. Jumlah wanita penderita kanker serviks baru sekitar 90-100 kasus per 100.000 penduduk (KPKN, 2015).

Kanker serviks merupakan pertumbuhan sel abnormal yang terus menerus dan tidak terkendali pada jaringan epitel serviks. Penyebab utama kanker serviks adalah infeksi HPV. Penderita infeksi HPV umumnya tidak mengalami keluhan/gejala, namun hampir setiap 1 dari 10 orang perempuan yang terinfeksi HPV akan mengalami perubahan menjadi lesi prakanker atau displasia pada jaringan epitel leher rahim. Lesi prakanker dapat terjadi dalam waktu 2-3 tahun setelah infeksi. Apabila lesi tidak diketahui dan tidak diobati dalam waktu 3-17 tahun, dapat berkembang menjadi kanker serviks (Depkes RI, 2009).

Pengobatan untuk penyakit kanker terutama kanker serviks dapat ditempuh dengan cara tradisional dan pengobatan modern. Pengobatan modern dilakukan dengan kemoterapi, radiasi dan pembedahan. Kemoterapi adalah salah satu pengobatan medis yang dilakukan dengan cara pemberian obat-obatan. Obat-obatan ini diberikan dengan tujuan dapat membunuh sel kanker, namun tidak membunuh sel normal. Sehingga diharapkan jumlah sel kanker menurun dan jumlah sel normal meningkat. Dengan demikian pasien akan sembuh. Pada dasarnya semua penyakit ada obatnya, baik yang memiliki efek mengurangi gejala ataupun yang bertujuan untuk menyembuhkan. Sebagaimana Rasulullah Saw bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلَهُ

Artinya: Sesungguhnya Allah SWT tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya (HR. Ahmad, Ibnu Majah dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadits ini dalam zawaiidnya. Lihat takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad 4.12-13).

Jika suatu penyakit belum ditemukan pengobatannya, bukan berarti penyakit tersebut tidak mempunyai obat, hanya saja obatnya belum ditemukan. Obat dalam hal ini bisa dicari dengan cara mempelajari ilmu tentang pengobatan tersebut dan disarankan bagi orang yang sakit untuk berobat kepada orang yang tahu tentang pengobatan. Hal ini juga berlaku pada pengobatan penyakit kanker.

Pengobatan kanker dapat menimbulkan efek samping diantaranya mual, muntah, ruam kulit, nyeri sendi, kaki bengkak dan kehilangan keseimbangan (Maharani, 2009). Selain terjadi efek samping, dapat terjadi kegagalan pengobatan. Kegagalan yang sering terjadi dalam pengobatan kanker disebabkan

karena rendahnya selektifitas obat-obat antikanker terhadap sel normal. Kegagalan kemoterapi juga disebabkan karena resistensi sel kanker terhadap agen-agen kemoterapi. Fenomena resistensi membawa konsekuensi pada semakin meningkatnya dosis terapi (Conze dkk, 2001). Hal ini disebut sebagai fenomena *multi drug resistance* (MDR) yang dapat meningkatkan tingkat toksisitas obat yang digunakan untuk terapi (Moitra, 2015). Banyak pendekatan yang dilakukan untuk mengurangi fenomena MDR. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah penggunaan kombinasi kemoterapi.

Penggunaan kombinasi kemoterapi dilakukan dengan cara mengkombinasikan senyawa kemoprevensi yang bersifat non-toksik atau lebih tidak toksik dikombinasikan dengan agen kemoterapi untuk meningkatkan efikasinya dengan menurunkan toksisitasnya terhadap jaringan yang normal. Berdasarkan hal ini maka dilakukan penelitian terhadap agen-agen kemoprevensi untuk mencari kandidat yang memiliki efek sinergis dalam kombinasi dengan obat antikanker (Istighfari dan Meiyanto, 2007). Agen kemoprevensi dapat ditemukan di tumbuhan.

Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan dengan segala manfaat yang terkandung didalamnya. Allah menjelaskan hal tersebut dalam firman-Nya surah Asy-Syu'araa' (26): 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik? (QS. Asy-Syu'araa' (26): 7).

Menurut Tafsir Departemen Agama RI, kata كَرِيمٍ pada ayat ke tujuh menggambarkan kebaikan pada setiap sesuatu yang disifatinya. Dalam tafsir ini

dijelaskan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat. Dengan artian bahwa setiap tumbuhan di bumi memiliki manfaat yang bisa diambil.

Salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat adalah bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr.). Bawang sabrang memiliki potensi sebagai agen kemoprevensi. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa bawang sabrang dapat digunakan sebagai antikanker. Menurut penelitian Edy Suwarso (2014) tentang kemampuan penghambatan dan apoptosis ekstrak bawang sabrang pada sel kanker payudara, didapat hasil bahwa ekstrak etil asetat bawang sabrang menghambat siklus sel pada fase G0-G1 dengan presentase 40.88% dan pada dosis $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$ pada sel T47D menunjukkan mekanisme *late apoptosis* dan nekrosis. Menurut penelitian Mutiah dkk (2017) dalam penelitiannya, ekstrak etanolik dari bawang sabrang mampu menghambat secara selektif pertumbuhan sel kanker serviks. IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) dari bawang sabrang adalah 40.36 $\mu\text{g/ml}$ dengan nilai SI sebesar 4.06. Ketika bawang sabrang dikombinasikan dengan benalu dapat memberikan efek sinergis sangat kuat pada dosis ekstrak bawang sabrang 2.6 $\mu\text{g/ml}$ dan ekstrak benalu belimbing 23 $\mu\text{g/ml}$ (Muti'ahdkk, 2017).

Suwarso (2014) mengatakan bahwa terjadinya apoptosis disebabkan karena adanya kandungan flavonoid dalam bawang sabrang. Flavonoid dapat menghambat ekspresi dari enzim topoisomerasi I dan II yang berperan dalam skrining katalisis dan relaksasi DNA. Dengan demikian kompleks inhibitor enzim topoisomerase akan stabil dan menyebabkan terjepitnya enzim topoisomerase.

Terjepitnya enzim topoisomerase akan menyebabkan kerusakan dan dilanjutkan proses apoptosis. Dari segi mekanisme kerja, bawang sabrang memiliki mekanisme kerja yang sama dengan beberapa obat kanker, diantaranya adalah doksorubisin.

Doksorubisin termasuk dalam golongan antibiotik antrasiklin. Mekanisme kerja dari doksorubisin adalah (1) penghambatan topoisomerase II, (2) interkalasi DNA sehingga mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA, (3) pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan transport ion dan (4) pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses yang tergantung besi dan proses reduktif yang diperantarai enzim. (Bruton dkk, 2005 dalam CCRC, 2009). Dibanding dengan antibiotik lain dalam golongan antrasiklin, doksorubisin merupakan antibiotik yang memiliki spektrum aktivitas klinis yang paling luas. Akan tetapi, efek samping dari doksorubisin juga cukup besar dan yang paling fatal adalah kardiomiopati. Selain itu, doksorubisin memiliki efek samping hepatotoksik (Ekowati dkk, 2013). Penggunaan jangka panjang doksorubisin dapat menyebabkan resistensi karena ekspresi berlebih dari P-glikoprotein (Pgp), yakni protein yang berperan pada pengeluaran obat dari sel, sehingga potensi sitotoksik doksorubisin pada sel kanker akan berkurang (Sarmoko, 2012; Imai dkk, 2005; Wongdkk, 2006). Sehingga pemberian doksorubisin dibatasi dengan dosis 550 mg/m² (Katzung, 2010).

Berdasarkan data penelitian tersebut di atas maka pada penelitian ini penting untuk diketahui efikasi kombinasi ekstrak tanaman bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dalam meningkatkan efek obat kemoterapi doksorubisin. Dengan

pengembangan terapi kombinasi antara agen kemoterapi dengan bahan alam tersebut sebagai *co-chemotherapy*, diharapkan dapat meningkatkan efektifitas kemoterapi, untuk mengatasi masalah resistensi dan menurunkan resiko toksisitas akibat kemoterapi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) sebagai agen *co-chemotherapy*. Penelitian ini diharapkan dapat mengungkap potensi sinergistik ekstrak bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dengan agen kemoterapi doksorubisin. Adanya efek sinergis kombinasi tersebut diharapkan dapat menurunkan dosis terapi dan toksisitasnya terhadap sel normal. Untuk selanjutnya pengembangan bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) sebagai agen *co-chemotherapy* perlu didukung dengan penelitian pre klinik dan klinik untuk mendapatkan data ilmiah yang cukup sebagai dasar rekomendasi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dalam praktek kedokteran formal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan penelitian :

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol 96% dari tanaman bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dan doksorubisin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa?
2. Apakah ekstrak etanol 96% bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dikombinasikan dengan doksorubisin dapat meningkatkan apoptosis pada sel kanker serviks HeLa?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak etanol 96% dari tanaman bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dan doksorubisin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa.
2. Untuk mengetahui potensi ekstrak etanol 96% bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dikombinasikan doksorubisin dalam meningkatkan apoptosis dalam sel kanker serviks HeLa.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Secara teoritis penelitian ini memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin terhadap sel kankers serviks HeLa
2. Secara aplikatif penelitian ini dapat dilanjutkan dengan penelitian klinis sehingga dapat dijadikan pilihan terapi dalam pengobatan kanker.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Umbi bawang sabrang diperoleh dari Materia Medika, Kota Batu Jawa Timur.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

3. Sel yang digunakan untuk uji aktivitas adalah sel Kanker Serviks HeLa yang dikembangkan di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada.
4. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker adalah metode MTT.
5. Metode yang digunakan untuk mengetahui potensi ekstrak bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dan doksorubisin dalam meningkatkan apoptosis adalah metode flowsitometri.



BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan di bumi sebagai tanda kekuasaan-Nya. Hal tersebut telah dijelaskan dalam surah An-Nahl ayat 11 sebagai berikut:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ
لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: Dia menumbuhkan bagimu dengan air hujan itu tanaman-tanaman zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan (QS. An-Nahl (16): 11).

Dalam Tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah menumbuhkan tanaman-tanaman dan buah-buahan dengan segala perbedaan macamnya, rasanya, baunya dan bentuknya hanya dengan air yang hanya satu macam. Dalam tafsir Al-Aisar disebutkan bahwa turunnya hujan hingga tumbuhnya berbagai macam tumbuhan merupakan tanda yang jelas tentang adanya Allah, kekuasaan, ilmu, kebijaksanaan dan rahmat-Nya, dan suatu keharusan bagi manusia untuk menyembah-Nya. Tetapi hanya “bagi kaum yang memikirkan” yaitu orang-orang yang menggunakan akal pikiran mereka dalam memahami sesuatu serta menyingkap rahasia dan hakikatnya. Allah memerintahkan manusia untuk berpikir, memahami sesuatu dan menyingkap hakikatnya agar bertambah keimanannya. Penelitian ini merupakan salah satu cara untuk memahami dan menyingkap hakikat yang

terdapat dalam bawang sabrang. Bawang sabrang dikenal sebagai tanaman yang memiliki banyak manfaat.

Bawang sabrang memiliki nama latin *Eleutherine palmifolia*. Tanaman ini berasal dari Amerika tropis, namun telah dibudidayakan secara luas di pulau Kalimantan (Indonesia), pulau Hainan (Cina Selatan), Thailand dan Afrika Selatan (Insanu dkk, 2014). Bawang sabrang dapat tumbuh di daerah pegunungan pada ketinggian 600-2000 meter diatas permukaan laut (Galingging, 2007 dalam Maulidiah, 2015).

Di Indonesia tanaman ini dikenal dengan sebutan bawang sabrang. bawang ini memiliki nama yang beragam sesuai dengan penamaan dari masyarakat setempat, diantaranya bawang kapal (Sumatera), bawang hantu atau bawang makkah (Kalimantan), bawang sabang, bawang siyem, lulupan sapi, bebawangan beureum (Jawa).

Klasifikasi dari tanaman bawang sabrang adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2007) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Liliales
Famili	: Iridaceae
Genus	: Eleutherine
Spesies	: <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr

2.1.2 Morfologi Bawang Sabrang

Tanaman bawang sabrang memiliki daun berbentuk pita, ujung dan pangkal runcing. Daun bawang sabrang berwarna hijau rata (Becker, 1968 dalam Maulidiah, 2015). Tulang daun bawang sabrang sejajar dengan tepi daun rata dan daun berbentuk pita bergaris. Daun bawang sabrang merupakan tipe daun tunggal seperti pita dengan ujung dan pangkal runcing serta tepi daun rata (Galingging, 2007 dalam Maulidiah, 2015).

Bawang sabrang memiliki umbi berwarna merah. Umbi bawang sabrang terdapat dibawah tanah berbentuk bulat telur memanjang. Umbi bawang sabrang tidak berbau sama sekali. Umbi bawang sabrang dapat dikonsumsi setelah usia 6 bulan (Maulidiah, 2015).

Bunga bawang sabrang berwarna putih (LIPI, 1978 dalam Maulidiah, 2015). Bunga tersebut berupa bunga tunggal dan terdapat pada ketiak-ketiak daun atas. Dalam 1 rumpun bunga dapat terdiri dari 4 sampai 10 bunga. Bunga bawang sabrang mekar pada sore hari yaitu pukul 5 sampai 7 sore kemudian menutup kembali (Becker, 1968 dalam Maulidiah, 2015). Berikut gambar dari morfologi tanaman bawang sabrang:



Gambar 2.1 Gambar tanaman *Eleutherine palmifolia*; batang (A), umbi (B), bunga (C)

2.1.3 Manfaat Bawang Sabrang

Masyarakat Dayak menggunakan umbi bawang sabrang untuk meningkatkan produksi ASI, pengobatan diabetes, kanker payudara, stroke dan disfungsi seksual (Insanu dkk, 2014). Tanaman ini digunakan oleh beberapa masyarakat sebagai obat cacing (Schultes dan Raffauf, 1990), untuk nyeri menstruasi dan menstruasi yang tidak teratur (Hodge dan Taylor, 1956) serta gangguan pencernaan (Van de Berg, 1984; Lin dkk, 2002). Bawang sabrang juga digunakan sebagai agen pengaborsi dan antiinfertilitas (Weniger dkk, 1982). Di negara bagian Minas Gerais, beberapa populasi di dekat lembah Rio Doce membuat infusa dari umbi bawang sabrang untuk mengobati infeksi pada usus (Alves dkk, 2003).

2.1.4 Kandungan Bawang Sabrang

Allah memerintahkan kita untuk memperhatikan dan mengkaji ciptaanNya, sebagaimana Allah berfirman dalam surah Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (QS. Al-An'am: 99).

Tafsir Al-qur'an Departemen Agama menyebutkan bahwa dalam ayat ini menjelaskan kekuasaan Allah dalam mengatur kehidupan tumbuhan. Kemudian dijelaskan jenis-jenis tumbuhan yang beraneka ragam (Departemen Agama RI, 2010). Allah memerintahkan kita untuk mengkajinya untuk meningkatkan ketaqwaan kita. Pengkajian dapat kita lakukan dengan penelitian. Salah satu penelitian yang bisa dilakukan adalah meneliti kandungan senyawa yang bermanfaat untuk manusia. Senyawa yang bermanfaat untuk manusia telah banyak ditemukan, diantaranya senyawa yang bermanfaat pada tanaman bawang sabrang.

Senyawa yang terdapat dalam bawang sabrang adalah golongan alkaloid, flavonoid, kuinon, fenolik, triterpen, glikosida dan terpen (Firdaus, 2006). Terdapat 3 kelompok besar yang dapat diisolasi dari bawang sabrang yaitu

naphtalene, antraquinone, dan naphtoquinone (Insanu dkk, 2014). Bawang sabrang juga mengandung turunan dari senyawa naphtoquinone yaitu elecanacine, eleutherine, eleutherol dan eleuthernone. Komponen lain yang dilaporkan terdapat bawang sabrang meliputi stigmasterol-3-O- β -D-glucopyridase, asam kadsuric dan stigmasterol (Tabel 2.1). Senyawa dalam bawang sabrang yang dilaporkan memiliki efek sitotoksik adalah 6,8-dihydroxy-3,4-dimethoxy-1-methyl-anthraquinone-2-carboxylic acid methyl ester. Senyawa tersebut dilaporkan dapat menghambat proliferasi sel kanker eritroleukimia K562 dengan IC₅₀ 49.1 μ g/ml (Insanu dkk, 2014).

Tabel 2.1 Senyawa yang Diisolasi dari Bawang Sabrang (Insanu dkk, 2014)

No	Nama Senyawa	Golongan Senyawa	Aktivitas
1	Eleutherol	Naphtalene	Meningkatkan <i>coronary flow</i> di tikus belanda
2	Eleutherine	Naphtoquinone	Meningkatkan <i>coronary flow</i> di tikus belanda Menghambat proliferasi sel K526, IC ₅₀ = 30 μ g/mL Menghambat topoisomerase II, IC ₅₀ = 50 μ g/mL <i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 30 μ g/mL Menghambat RAW 264,7 <i>lipopolysaccharide-activated mouse macrophage cell</i> dengan IC ₅₀ = 11,4 μ M
3	Isoeleutherine	Naphtoquinone	Meningkatkan <i>coronary flow</i> di tikus belanda <i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 30 μ g/mL Menghambat proliferasi sel K526, IC ₅₀ = 33 μ g/mL Menghambat replikasi HIV di limfosit Hg, IC ₅₀ = 8,5 μ g/mL Menghambat RAW 264,7 <i>lipopolysaccharide activated mouse</i>

			<i>macrophage cell</i> dengan IC50= 7,7 μ M
4	4,8-dihydroxy-3-methoxy-1-methyl anthraquinone-2-carboxylic acid methyl ester	Anthraquinone	<i>Pyricularia oryzae</i> MMDC= 55 μ g/mL
5	8-hydroxy-3,4-dimethoxy-1-methylantraquinone-2-carboxylic acid methyl ester	Anthraquinone	<i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 170 μ g/mL
6	3,4,8-trimethoxy-1-methylantraquinone-2-carboxylic acid methyl ester	Anthraquinone	
7	Hongconin	Naphtalene	<i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 130 μ g/mL Menghambat proliferasi sel K562, IC50= 174 μ g/mL Menghambat RAW 264,7 <i>lipopolysaccharide-activated mouse macrophage cell</i> dengan IC50= 19,8 μ M
8	Elecanacin	Naphtoquinone	
9	Isoeleutherol	Naphtalene	Menghambat replikasi HIV, IC50 = 100 μ g/mL
10	(-)-3-[2-(acetyloxy)propyl-1]-2-hydroxy-8-methoxy-1,4-naphtoquinone		
11	Eleutherinol		Menghambat RAW 264,7 <i>lipopolysaccharide-activated mouse macrophage cell</i> dengan IC50 = 34,4 μ M
12	1,5-dihydroxy-3-methylanthraquinone	Naphtaquinone	
13	Dihydroeleutherinol		<i>Pyricularia oryzae</i> MMDC= 60 μ g/mL Menghambat RAW 264,7 <i>lipopolysaccharide-activated mouse macrophage cell</i> dengan IC50 = 21,7 μ M
14	2,5-dimethyl-10-hydroxynaphtopyrone 8-O- β -glucopyranoside	Naphtalene	
15	Eleuthoside A	Naphtalene	
16	Eleuthoside B		

17	Eleuthinone A	Naphtoquinone	
18	Eleuthraquinone A	Anthraquinone	
19	Eleuthraquinone B	Anhraquinone	
20	Eleucanarol	Naphtalene	
21	1,2-dihydroxy-8-methoxy-3-methylanthraquinone	Anthraquinone	
22	Eleutherinoside A	Naphtalene	
23	Eleutherinoside B		
24	1,3,6-trihydroxy-8-methyl-3-methylanthraquinone		<i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 150 µg/mL Menghambat proliferasi K562, IC50= 154 µg/mL
25	β-sitosterol		
26	Kadsuric acid		
27	9,9'-dihydroxy-8,8'-dimethoxy-1'-dimethyl-1H,1H'-[4,4']bis[naphta[2,3-c]funanyl]-3,3'-dione		Aktivitas lemah dalam menghambat pertumbuhan <i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 145,8 µg/mL
28	6,8-dihydroxy-3,4-dimethoxy-1-methyl-anthraquinone-2-carboxylic acid methyl ester		Aktivitas lemah dalam menghambat pertumbuhan <i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 50,2 µg/mL Menghambat proliferasi sel K562 dengan IC50= 49,1 µg/mL
29	2-acetyl-3,6,8-trihydroxy-1-methyl anthraquinone	Anthraquinone	Aktivitas lemah dalam menghambat pertumbuhan <i>Pyricularia oryzae</i> , MMDC= 124,8 µg/mL
30	4-hydroxy-eleutherin		Menghambat proliferasi K562, IC50= 35 µg/mL
31	2,5-dimethyl-10-hydroxynaphtopyrone-8-O-beta-glucopyranoside		
32	Eleuthoside C		
33	(,10-dihydro-8-hydroxy-3,4-dimethoxy-9,10-dioxo-2-anthracenecarboxylic acid methyl ester		
34	Erythrolaccin		

2.2 Ekstraksi Bawang Sabrang

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dalam pelarut. Sempunya yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang akan larut dalam pelarut (Amanda, 2014). Pemilihan metode ekstraksi disesuaikan dengan senyawa aktif yang akan diambil (Baraja, 2008). Metode ekstraksi yang biasa digunakan adalah maserasi, perkolasi, hidrostilasi dan soxhlet (Teddy, 2011). Selain metode tersebut, terdapat metode ekstraksi baru yang lebih efisien, diantaranya adalah metode ekstraksi ultrasonik.

Ultrasonik merupakan energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu 20 kHz sampai 500 MHz (Thompson dan Doraiswamy, 1999 dalam Teddy, 2011). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia (Thompson dan Doraiswamy, 1999 dalam Teddy, 2011). Manfaat gelombang ultrasonik ini diperoleh dari 2 proses utama yaitu *acoustic streaming* dan *acoustic cavitation* (Maria van Iersel, 2008). *Acoustic streaming* adalah gelombang suara yang dipindahkan ke dalam cairan sehingga terbentuk gerakan searah dengan propagasi gelombang (longitudinal) (Dolatowski dkk, 2007). *Acoustic streaming* menyebabkan semakin tipisnya lapisan batas antara cairan dan partikel, sehingga dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut seiring meningkatnya difusibilitas dan solvensi senyawa aktif dalam sel. Pada akhirnya meningkatkan laju perpindahan panas, massa dan

efisiensi ekstraksi (Qudkk, 2013). Sedangkan *acoustic cavitation* dimulai dari kelarutan gas kedalam cairan sama seperti vaporasi parsial cairan, sehingga fase ini disebut fase pembentukan gelembung, kemudian fase pertumbuhan gelembung sampai pecahnya gelembung tersebut. Pada siklus ekspansi (tekanan negatif) akan dihasilkan energi ultrasonik yang cukup kuat, sehingga terjadi pembentukan gelembung dan kavitasi dalam cairan (Özcan, 2006). Ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik pada dinding maupun membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek tersebut menyebabkan penetrasi pelarut lebih baik ke dalam sel dan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif ke pelarut (Teddy, 2011).

Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses ekstraksi. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi jenis komponen aktif bahan yang terekstrak karena masing-masing pelarut mempunyai selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dalam bahan. Menurut Perry (1984), berbagai syarat pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu sebagai berikut: (Chandra, 2015)

- a. Memiliki daya larut dan selektivitas terhadap solut yang tinggi. Pelarut harus dapat melarutkan komponen yang diinginkan sebanyak mungkin dan sesedikit mungkin melarutkan bahan pengotor.
- b. Bersifat inert terhadap bahan baku, sehingga tidak bereaksi dengan komponen yang akan diekstrak.

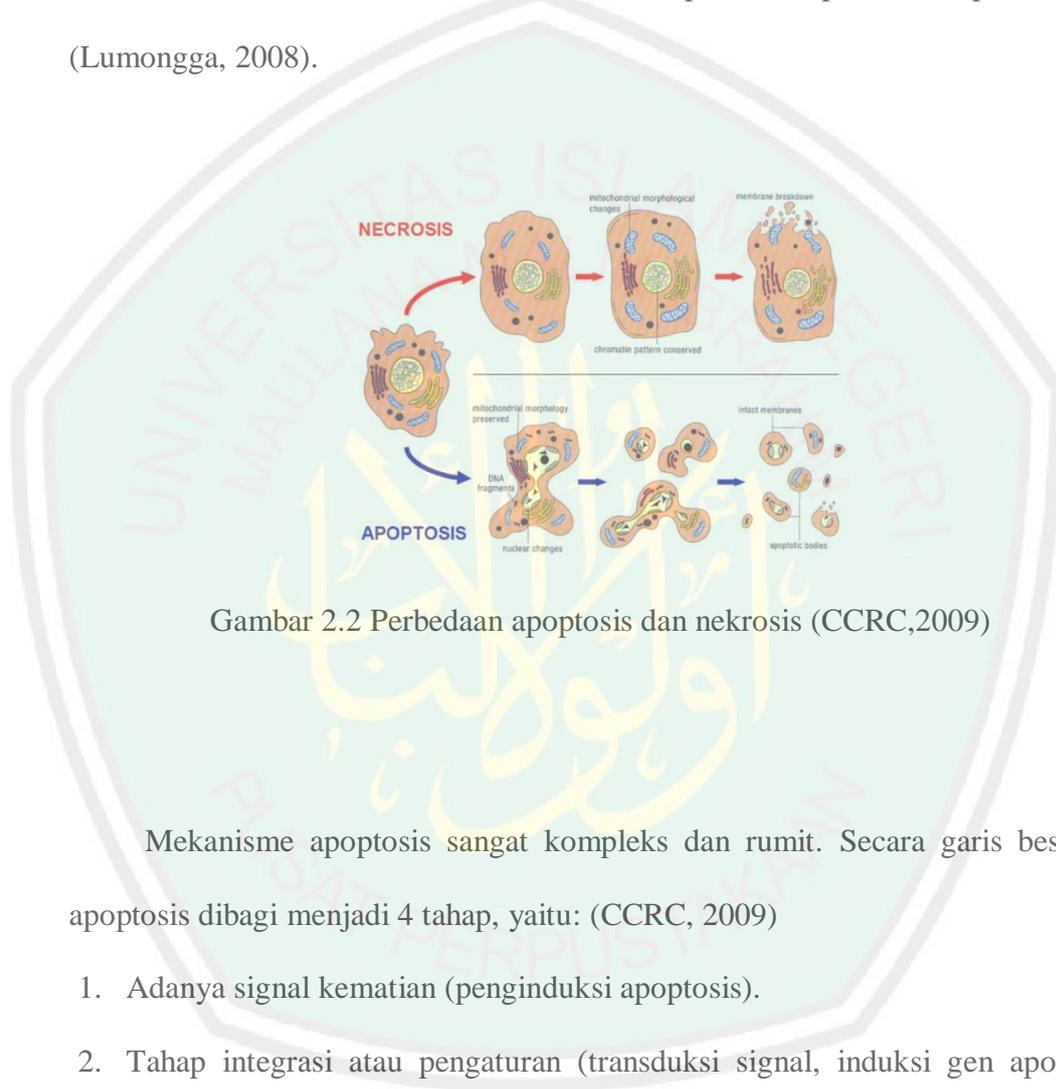
- c. Reaktivitas. Pelarut tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstraksi.
- d. Tidak menyebabkan terbentuknya emulsi.
- e. Tidak korosif.
- f. Tidak beracun.
- g. Tidak mudah terbakar.
- h. Stabil secara kimia dan termal.
- i. Tidak berbahaya bagi lingkungan.
- j. Memiliki viskositas yang rendah, sehingga mudah untuk dialirkan.
- k. Murah dan mudah didapat, serta tersedia dalam jumlah yang besar.
- l. Memiliki titik didih yang cukup rendah agar mudah diuapkan.
- m. Memiliki tegangan permukaan yang cukup rendah.

Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak umbi bawang sabrang adalah pelarut etanol. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol karena mudah melarutkan senyawa yang sesuai dengan cukup cepat, memiliki titik didih yang cukup rendah, inert dan harga terjangkau. Toksisitas pelarut etanol lebih rendah dibandingkan dengan pelarut alkohol lain (Guenther, 2006).

2.3 Tinjauan tentang apoptosis sel

Apoptosis berasal dari bahasa Greek yang memiliki arti gugurnya putik bunga ataupun daun dari batangnya. Apoptosis atau kematian sel terprogram merupakan komponen yang normal pada perkembangan dan pemeliharaan kesehatan pada organisme multiseluler. Selama apoptosis sel mati yang

merupakan respon terhadap berbagai stimulus dikontrol dan diregulasi untuk kemudian difagosit oleh makrofag. Apoptosis berbeda dengan nekrosis. Pada nekrosis terjadi kematian sel tidak terkontrol dan sel yang mati membesar kemudian hancur dan lisis. Nekrosis merupakan respon terhadap inflamasi (Lumongga, 2008).



Gambar 2.2 Perbedaan apoptosis dan nekrosis (CCRC,2009)

Mekanisme apoptosis sangat kompleks dan rumit. Secara garis besarnya apoptosis dibagi menjadi 4 tahap, yaitu: (CCRC, 2009)

1. Adanya signal kematian (penginduksi apoptosis).
2. Tahap integrasi atau pengaturan (transduksi signal, induksi gen apoptosis yang berhubungan, dll)
3. Tahap pelaksanaan apoptosis (degradasi DNA, pembongkaran sel, dll)
4. Fagositosis.

Sel-sel yang mati memberikan sinyal yang diperantarai oleh beberapa gen pengkode protein untuk enzim pencernaan yang disebut caspase. Gen caspase ini

merupakan bagian dari *cysteine protease* yang akan aktif pada perkembangan sel maupun merupakan sinyal untuk aktif pada destruksi sel tersebut (Lumongga, 2008). Telah ditemukan 13 anggota famili caspase pada manusia. Beberapa anggota famili caspase yang terlibat dalam apoptosis dibedakan menjadi 2 golongan, yaitu golongan inisiator dan efektor. Golongan inisiator terdiri dari caspase 8, 9, 10 yang mengandung prodomain yang panjang pada terminal N, fungsinya menginisiasi kematian sel. Golongan efektor terdiri dari caspase 3, 6, 7 yang mengandung prodomain yang pendek dan membelah berbagai substrat yang mati yang pada akhirnya menyebabkan perubahan morfologi dan biokimia yang tampak pada sel yang mengalami apoptosis (CCRC, 2009).

Sebelum terjadi proses kematian sel, sinyal apoptosis dihubungkan dengan *pathway* kematian sel. Penghubungnya adalah regulasi protein. Pada regulasi ini terdapat 2 metode yang dikenali yaitu:

1) *Extrinsic pathway* (di inisiasi oleh kematian reseptor)

Peristiwa apoptosis jalur ekstrinsik dimulai dari adanya pelepasan molekul sinyal yang disebut ligan oleh sel lain tetapi bukan berasal dari sel yang akan mengalami apoptosis. Ligan tersebut berikatan dengan *death receptor* yang terletak pada transmembran sel target yang menginduksi apoptosis. *Death receptor* yang terletak di permukaan sel adalah famili reseptor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), yang meliputi TNF-R1, CD 95 (Fas), dan TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan (TRAIL)-R1 dan R2 (CCRC, 2009).

Ligan yang berikatan dengan reseptor tersebut akan mengakibatkan caspase inisiator 8 setelah membentuk trimer dengan adaptor FADD (*Fas Associated*

Death Domain). Kompleks yang terbentuk antara ligan-reseptor dan FADD disebut DISC (*Death Inducing Signaling Complex*). CD 95, TRAIL-R1 dan R2 terikat dengan FADD, sedangkan TNF-R1 terikat secara tidak langsung melalui molekul adaptor lain, yaitu *TNF-Receptor Associated Death Domain protein* (TRADD) (CCRC, 2009).

2) *Intrinsic pathway*

Stress mitokondria yang menginduksi apoptosis jalur intrinsik disebabkan oleh senyawa kimia atau kehilangan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria dan terjadi pelepasan sitokrom c dari intermembran mitokondria. Protein caspase-8 akan memotong anggota famili Bcl-2 yaitu Bid. Kemudian Bid yang terpotong pada bagian ujungnya akan menginduksi insersi Bax dalam membran mitokondria dan melepaskan molekul proapoptotik seperti sitokrom c, Samc/Diablo, *Apoptosis Inducing Factor* (AIF), dan omi/Htr2. dengan adanya dATP akan terbentuk kompleks antara sitokrom c, APAF1 dan caspase 9 yang disebut apoptosom. Selanjutnya, caspase 9 akan mengaktifkan downstream procaspase-3 (CCRC, 2009).

Protein caspase 3 yang aktif memecah berbagai macam substrat, diantaranya enzim DNA repair seperti *poly-ADP Ribose Polymerase* (PARP) dan DNA protein kinase yaitu protein struktural seluler dan nukleus, termasuk aparatus mitotik inti, lamina nukleus, dan aktin serta endonuklease, seperti *Caspase-Activated Deoxyribonuclease Inhibitor* (ICAD) dan konstituen seluler lainnya. Selain itu, caspase. 3 juga mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan caspase

lainnya, seperti procaspase-6 dan procaspase-7 yang memberikan amplifikasi terhadap kerusakan seluler (CCRC, 2009).

Adanya seluler stres meningkatkan ekspresi dari protein p53 yang mengakibatkan terjadinya *GI arrest* atau apoptosis. Anggota dari *apoptosis stimulating Protein p53* (ASPP) yaitu ASPP 1 dan ASPP 2 secara spesifik menstimulasi fungsi transaktivasi p53 pada promotor gen proapoptotik seperti Bax dan p53 *Inducible Gene3* (PIG 3), tapi tidak pada promotor gen yang menyebabkan *cell cycle arrest*, yaitu p21 dan MDM2 (CCRC, 2009).

2.4 Tinjauan tentang kanker

2.4.1 Deskripsi Kanker

“Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak normal atau terus menerus dan tak terkendali, dapat merusak jaringan sekitarnya serta dapat menjalar ke tempat yang jauh dari asalnya yang disebut metastasis” (Departemen Kesehatan RI, 2009). Dalam keadaan normal, sel akan membelah diri untuk menggantikan sel yang telah mati dan rusak. Sedangkan sel kanker terus membelah diri meskipun tubuh tidak membutuhkannya. Akibat dari pembelahan yang tidak terkontrol ini adalah penumpukan sel yang akan mendesak jaringan normal, sehingga mengganggu organ yang ditempati. Penumpukan sel ini disebut dengan tumor ganas. Selain dapat membelah diri secara cepat, tidak terkendali dan terus menerus, sel kanker juga dapat menyusup ke daerah sekitarnya dan menyebar melalui jaringan ikat, darah sehingga dapat menyerang organ-organ penting serta syaraf tulang belakang (Tadjoedin dkk, 2011 dalam Zulaifah, 2013).

2.4.2 Jenis Kanker

Jenis-jenis kanker yaitu: (Tadjoedin dkk, 2011 dalam Zulaifah, 2013)

1. Karsinoma. Karsinoma adalah kanker yang berasal dari sel yang melapisi permukaan tubuh atau permukaan saluran tubuh, misalnya sel kulit, leher rahim, kolon, rektum, esofagus, sel melanin, testis, kelenjar mukus, ovarium, pankreas dan lambung.
2. Limfoma. Limfoma adalah jenis kanker yang berasal dari jaringan yang membentuk darah, misalnya jaringan *lacteal*, limpa, kelenjar limfa, timus dan sumsum tulang.
3. Leukimia. Leukimia adalah jenis kanker yang tidak membentuk massa tumor, tetapi memenuhi pembuluh darah dan mengganggu fungsi sel darah normal.
4. Sarkoma. Sarkoma adalah satu jenis kanker di jaringan penunjang yang berada di permukaan tubuh, seperti jaringan ikat.
5. Glioma. Glioma adalah kanker pada susunan syaraf, seperti sel-sel glia di susunan syaraf pusat.
6. Karsinoma in situ. Karsinoma in situ adalah sel epitel abnormal yang masih terbatas di daerah tertentu sehingga masih dianggap lesi prainvasif (kelainan/luka yang menyebar).

4.2.3 Proses Karsinogenesis

Kanker dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis kelamin, usia, ras, predisposisi genetik dan pajanan karsinogen lingkungan. Dari berbagai faktor ini, faktor yang paling penting adalah pajanan lingkungan. Pajanan lingkungan dapat berupa pajanan radiasi dan kimiawi. Selain itu, virus telah

dinyatakan sebagai agen etiologik beberapa kanker pada manusia. Namun ekspresi neoplasia yang terinduksi virus kemungkinan juga bergantung pada faktor penjamu dan lingkungan yang memodulasi transformasi (Katzung, 2010).

Transformasi kanker terdiri dari beberapa tahapan (*multi-step process*). Konsep *multi-stage carcinogenesis* pertama kali diperkenalkan oleh Berenblum dan Schubik pada tahun 1948. Saat ini dikenali 3 proses utama karsinogenesis yaitu inisiasi, promosi dan progresi (Devi, 2005).

Inisiasi neoplasia pada dasarnya adalah perubahan irreversibel pada sel somatik target yang sesuai. Inisiasi melibatkan satu atau lebih perubahan seluler yang stabil dan timbul secara spontan atau akibat paparan karsinogen. Inisiasi dianggap sebagai langkah awal dalam proses karsinogenesis, dimana genom seluler mengalami mutasi dan mempunyai potensi untuk berkembang (transformasi) menjadi neoplastik (UNSCEAR, 1993; Cox, 1994). Sel yang terinisiasi dapat mengalami kematian. Jika tidak, maka sel akan masuk ke fase promosi. Pada akhir fase inisiasi belum terlihat perubahan histologi dan biokimia, hanya terlihat nekrosis sel dengan meningkatnya proliferasi sel (Kartawiguna, 2001).

Tahap selanjutnya adalah promosi. Sel yang terinisiasi dapat tenang bila tidak dihidupkan oleh promotor. Promosi adalah proses yang menyebabkan sel terinisiasi berkembang menjadi sel preneoplasma oleh promotor (Kartawiguna, 2001). Contoh promotor adalah DES (*diethylbestrol*). DES adalah estrogen sintetis nonsteroid yang pernah dipakai untuk terapi osteoporosis. Pada tahun 1950 DES menimbulkan epidemi kanker endometrium dan pada tahun 1940-1950

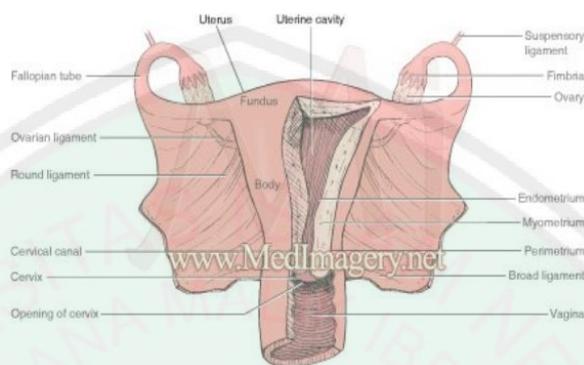
menimbulkan kanker vagina dan serviks pada anak wanita penderita yang menggunakannya untuk terapi abortus (Kartawiguna, 2001). Sel-sel preneoplasma lebih tahan terhadap lingkungan yang tidak mendukung dan kemampuan kloningnya lebih besar. Kebanyakan sel-sel preneoplasma berregresi menjadi sel berdiferensiasi normal tetapi sebagian kecil mengalami perkembangan progresif menjadi sel-sel neoplasma yang irreversibel. Pada akhir fase promosi terdapat gambaran histologi dan biokimia yang abnormal (Kartawiguna, 2001).

Fase terakhir adalah fase progresi. Fase ini berlangsung berbulan-bulan. Pada awal fase ini, sel preneoplasma dalam stadium metaplasia berkembang progresif menjadi stadium displasia sebelum menjadi neoplasma. Pada tingkat metaplasia dan awal displasia masih bisa terjadi regresi atau remisi spontan ke tingkat lebih awal yang frekuensinya menurun dengan penambahan progresivitas lesi. Pada akhir fase progresi gambaran histologi dan klinis menunjukkan keganasan (Kartawiguna, 2001).

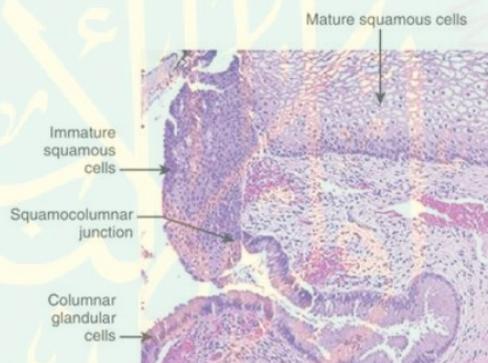
2.5 Tinjauan tentang Serviks

Serviks merupakan bagian terendah dari uterus yang menonjol ke vagina atas (Gambar 2.3). Serviks uteri terdiri dari ektoserviks (porsio vagina eksternal) dan jalur endoserviks. Ektoserviks dapat dilihat pada pemeriksaan vagina dilapisi oleh epitel sel skuamosa matur yang berhubungan dengan dinding vagina. Epitel skuamosa yang terletak di tangan di jalur kecil dan mengarah ke jalur endoservik disebut *external os*. Mukosa kelenjar endoserviks dilapisi oleh sel kolumnar, epitel penghasil musin (gambar 2.4) (Elleson dan Pirog, 2015 dalam Damanik,

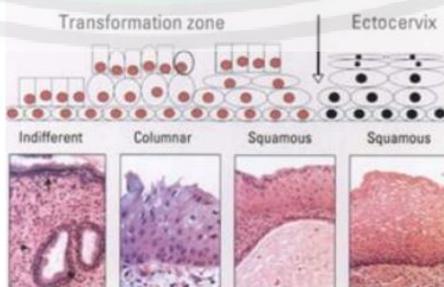
2016). Titik pertemuan antara epitel skuamosa dan kolumbar disebut *squamocolumnar junction* atau zona transformasi (Gambar 2.5) (Nucci dan Crum, 2007 dalam Damanik, 2016).



Gambar 2.3 uterus, serviks dan vagina (Gurevitch, 2009)



Gambar 2.4 Squamocolumnar junction dengan sel matur, epitel skuamosa dengan glikogen, sel-sel skuamosa metaplastik yang immatur, dan epitel kelenjar endoserviks berupa sel kolumnar (Ellenson dan Pirog, 2015).



Gambar 2.5 zona transformasi serviks (Nucci dan Crum, 2007 dalam Damanik, 2016)

Bagian vaginal dari uterus ditutupi oleh epitel gepeng berlapis non-keratin. Epitel tersebut terus menerus mengalami penambahan, pematangan dan pelepasan sel epitel. Perubahan-perubahan tersebut dikarenakan oleh hormon-hormon steroid ovarium. Dengan demikian seluruh ketebalan serviks normal akan digantikan seluruhnya dalam 4-5 hari (Harahap, 1984).

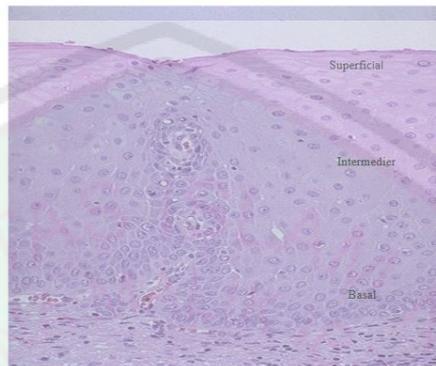
Epitel gepeng serviks yang matang terdiri dari beberapa lapisan sel dan disatukan dengan stroma dibawahnya oleh selaput basal. Lapisan sel yang pertama adalah lapisan basal yang berbatasan dengan stroma. Lapisan ini berfungsi sebagai pembaharu. Lapisan ini disusun oleh satu atau dua lapis sel sel berbentuk lonjong. Sel-sel tersebut mengandung sedikit sitoplasma, inti lonjong, banyak ribosom dan mitokondria (Harahap, 1984).

Lapisan kedua adalah lapisan intermedier. Lapisan ini ditempati oleh sel-sel yang sudah matang. Semakin ke atas, sel-sel semakin matang dan sitoplasma semakin besar. Sedangkan intinya tidak mengalami perubahan ukuran. Pada sel ini terlihat banyak glikogen dalam sitoplasma (Harahap, 1984).

Lapisan ketiga adalah lapisan superfisial. Lapisan ini merupakan sel-sel yang paling matang dengan inti agak meninggi di tengah dan piknotik. Sel berbentuk pipih dengan sitoplasma mengandung banyak glikogen. Pada lapisan ini terdapat karatinosom yang bertanggung jawab atas terjadinya keratinisasi untuk melindungi epitel dari trauma (Harahap, 1984).

Kanal servikalis dan kelenjar serviks ditutupi oleh epitel toraks. Sitoplasma terletak tinggi dan berisi granula halus dan bintik-bintik. Sedangkan inti sel terletak di basal. Lendir endoserviks biasanya lebih banyak dan memuncak

pada saat ovulasi di bawah pengaruh estrogen. Sedangkan di bawah pengaruh progesteron biasanya berkurang dan lebih kental (Natanegara, 2010).



Gambar 2.6 Histologi epitel gepeng serviks (Klatt, 2009 dalam Natanegara, 2010)

2.6 Tinjauan tentang Kanker Serviks

2.6.1 Definisi Kanker Serviks

Kanker serviks merupakan pertumbuhan sel yang abnormal pada serviks. Serviks adalah bagian bawah dari uterus, dimana uterus memiliki 2 bagian yaitu bagian atas adalah badan uterus dan bagian bawah adalah serviks. Serviks menghubungkan badan uterus dengan vagina. Jika ditinjau dari segi histopatologi, kanker serviks terdiri atas berbagai jenis. Bentuk yang sering dijumpai adalah karsinoma sel skuamosa (85%) dan adenokarsinoma (10%) (Crowder, 2001 dalam Rasjidi, 2009).

2.6.2 Etiologi

Proses penting yang menyebabkan terjadinya kanker serviks adalah infeksi oleh HPV. HPV (*Human Papilloma Virus*) merupakan DNA rantai ganda yang

termasuk dalam famili Papillomaviridae (Steben dan Duarte-Franco, 2007 dalam Zulaifah, 2013).

Papillomavirus adalah bagian dari famili Papoviridae. HPV tidak memiliki *envelope* dan berukuran kecil (diameter 55nm). HPV mempunyai kapsid *icosahedral* yang terdiri dari 72 kapsomer. Masing-masing kapsomer setidaknya terdiri dari 2 protein kapsid yaitu L1 (mayor) dan L2 (minor). Setiap kapsomer adalah pentamer protein kapsid mayor (L1). Setiap kapsid virus mempunyai beberapa kopian dari protein kapsid minor (L2). Genom HPV terdiri dari satu molekul DNA untai ganda. Secara fungsional, genom terbagi menjadi 3 daerah. Daerah pertama adalah *noncoding upstream regulatory region* (URR). Region ini terdiri dari promoter inti p97 beserta rangkaian peningkat dan perendam yang mengatur replikasi DNA. Pengaturan replikasi DNA dilakukan dengan mengontrol transkripsi *early region* dan *late region*. URR mengandung paling banyak variasi pada genom virus. Daerah yang kedua adalah *early region*. *Early region* meliputi gen E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, dan E8. Daerah ini terlibat dalam replikasi virus dan onkogenesis. Ekspresi *early gene product* menentukan apakah infeksi HPV aktif, laten atau menyebabkan transformasi ganas. Daerah terakhir adalah *late region*. *Late region* mengkode protein struktural L1 dan L2 untuk kapsid virus. Fungsi dari gen HPV dapat dilihat pada tabel 2.1 (Gomez dan Santos, 2007).

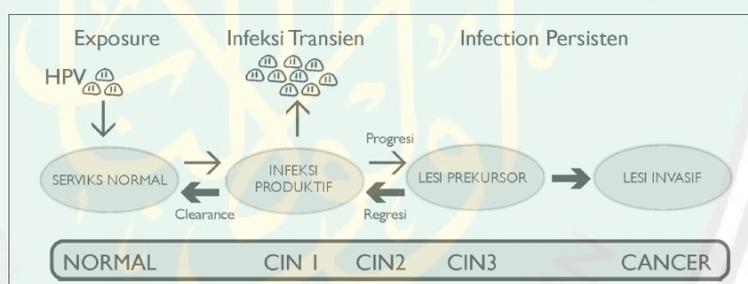
Tabel 2.2 Fungsi gen HPV (Gomez dan Santos, 2007)

Kategori gen	Gen	Fungsi
<i>Early gene</i>	E1	Replikasi virus
	E2	Memodulasi transkripsi dan replikasi
	E3	Tidak diketahui
	E4	Memproduksi infeksi virus
	E5	Digunakan untuk bertransformasi
	E6	Onkoprotein (berinteraksi dengan protein p53)
	E7	Onkoprotein (berinteraksi dengan pRb protein)
	E8	Tidak diketahui
<i>Late gene</i>	L1	Protein kapsid mayor
	L2	Protein kapsid minor

Virus HPV dibedakan menjadi 2 golongan yaitu HPV risiko rendah dan HPV risiko tinggi (tipe 7, 16, 18, 31, 45). Yang membedakan antara HPV risiko tinggi dengan HPV risiko rendah adalah satu asam amino saja. Asam amino tersebut adalah aspartat pada HPV risiko tinggi dan glisin pada HPV risiko rendah dan sedang (Gostout dkk, 1998). Baik tipe risiko tinggi maupun tipe risiko rendah dapat menyebabkan pertumbuhan abnormal pada sel tetapi pada umumnya hanya HPV tipe risiko tinggi yang dapat memicu kanker. Tipe HPV yang sering dijumpai di Indonesia adalah tipe 16 dan 18, sedangkan tipe lain 31, 33, 45 dan lain-lain jarang dijumpai (Departemen Kesehatan RI, 2009).

Seseorang yang sudah terkena infeksi HPV 16 memiliki risiko kemungkinan terkena kanker leher rahim sebesar 5%. Dinyatakan pula bahwa

tidak terdapat perbedaan probabilitas terjadinya kanker serviks pada infeksi HPV-16 dan infeksi HPV-18 baik secara sendiri-sendiri maupun bersamaan (Bosch dkk, 2002). Akan tetapi sifat onkogenik HPV-18 lebih tinggi daripada HPV-16 yang dibuktikan pada sel kultur dimana transformasi HPV-18 adalah 5 kali lebih besar dibandingkan dengan HPV-16. Selain itu, didapatkan pula bahwa respon imun pada HPV-18 dapat meningkatkan virulensi virus dimana mekanismenya belum jelas. HPV-16 berhubungan dengan *squamous cell carcinoma cervix* sedangkan HPV-18 berhubungan dengan *adenocarcinoma cervix*. Prognosis dari adenokarsinoma kanker serviks lebih buruk dibandingkan squamous cell carcinoma (Hacker, 2000).



Gambar 2.7 Perjalanan penyakit kanker serviks (Rasjidi, 2009)

Penderita infeksi HPV umumnya tidak mengalami keluhan/gejala, namun hampir setiap 1 dari 10 orang perempuan yang terinfeksi HPV akan mengalami perubahan menjadi lesi prakanker atau displasia pada jaringan epitel leher rahim. Lesi prakanker dapat terjadi dalam waktu 2-3 tahun setelah infeksi. Apabila lesi tidak diketahui dan tidak diobati dalam waktu 3-17 tahun, dapat berkembang menjadi kanker leher rahim/serviks (Departemen Kesehatan RI, 2009).

2.6.3 Faktor Risiko

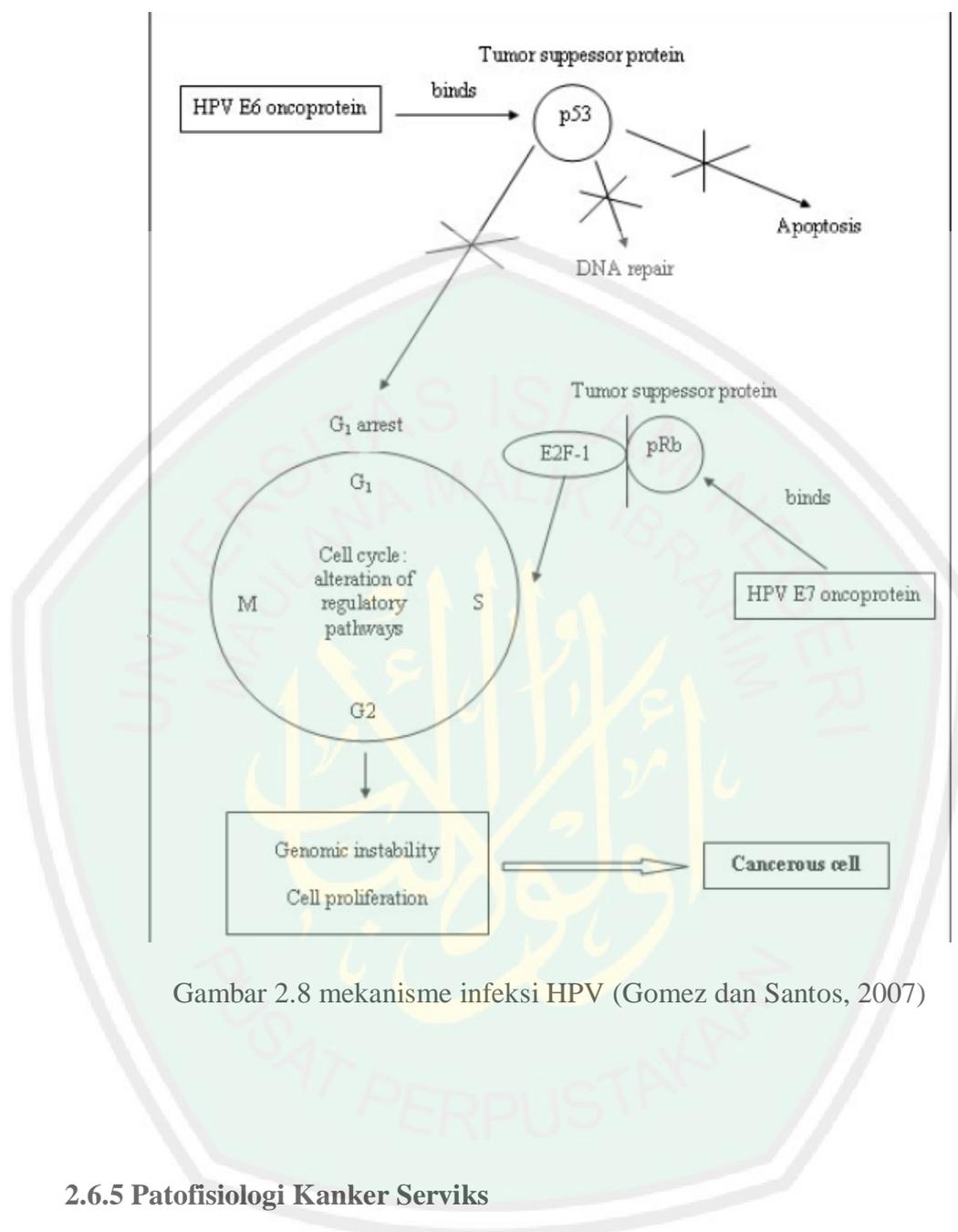
Peluang terjadinya kanker serviks setelah terinfeksi virus HPV dapat diperbesar oleh faktor-faktor risiko sebagai berikut:

1. Aktivitas seksual dibawah umur 20 tahun
2. Memiliki banyak partner seksual
3. Paparan penyakit menular seksual
4. Hasil pap smear sebelumnya yang abnormal
5. Merokok
6. Ibu atau saudara perempuan dengan kanker serviks
7. Imunosupresi: HIV, pemakaian kortikosteroid jangka panjang
(Blumenthal dan McIntosh, 2005)

2.6.4 Patogenesis Kanker Serviks

Transmisi HPV dapat terjadi melalui kontak kulit dengan kulit. Sel yang dapat diinfeksi oleh HPV adalah sel basal dari epitel pipih bertingkat. Tipe sel lain relatif resisten. Ketika HPV memasuki sel basal epitel, DNA HPV akan bereplikasi hingga mencapai ke permukaan epitel. Replikasi virus kurang produktif pada lapisan basal, sehingga virus membentuk dirinya sendiri sebagai sejumlah kecil salinan episom dengan mesin replikasi DNA host untuk mensintesis DNA. Di dalam keratinosit yang telah berdiferensiasi pada lapisan suprabasal epitel, replikasi DNA virus berubah menjadi mode *rolling-circle*, memperbanyak DNA menjadi sejumlah besar salinan, mensintesis protein kapsid sehingga dihasilkan koloni virus (Gomez dan Santos, 2007).

DNA virus terletak pada ekstrakromosom nukleus pada lesi jinak. Pada neoplasia intraepitelial tingkat tinggi dan kanker invasif, DNA HPV berintegrasi dalam genom inang. Integrasi tersebut menyebabkan wilayah E2 terganggu, sehingga fungsinya terganggu. Hal ini menyebabkan penurunan pengaturan transkripsi gen E6 dan E7, sehingga ekspresi gen E6 dan E7 meningkat. Onkoprotein E6 dan E7 HPV beresiko tinggi meregulasi siklus pertumbuhan sel hospes dengan mengikat dan menginaktivasi protein supresor tumor. Protein supresor tumor tersebut adalah protein p53 dan retinoblastoma (Rb) (Gomez dan Santos, 2007). Gen E6 berikatan dengan protein p53 yang berfungsi untuk mengatur fase G1, apoptosis dan perbaikan DNA sehingga aktivitas p53 normal tidak terjadi. Gen E7 berikatan dengan Rb. Pengikatan ini mengganggu kompleks antara pRb dan faktor transkripsi seluler E2F-1, yang menghasilkan pembebasan E2F-1, yang memungkinkan transkripsi gen yang produknya diperlukan agar sel memasuki fase S siklus sel. Hasilnya adalah stimulasi sintesis DNA seluler dan proliferasi sel. Selanjutnya, produk gen E5 menginduksi peningkatan aktivitas kinase protein mitogen yang diaktifkan, sehingga meningkatkan respons seluler terhadap faktor pertumbuhan dan diferensiasi. Hal ini berakibat proliferasi yang terus menerus dan diferensiasi tertunda dari sel inang (Gomez dan Santos, 2007).



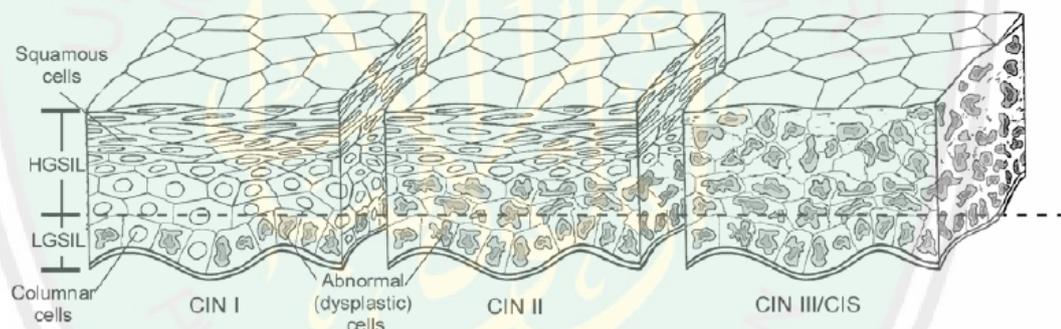
Gambar 2.8 mekanisme infeksi HPV (Gomez dan Santos, 2007)

2.6.5 Patofisiologi Kanker Serviks

Infeksi HPV terjadi pada sejumlah besar wanita yang aktif secara seksual. Namun 90% dari infeksi HPV akan sembuh dengan sendirinya dalam hitungan bulan atau tahun tanpa meninggalkan sisa. Rata-rata hanya 5% dari infeksi HPV yang berakibat pada perkembangan lesi CIN derajat II atau III (lesi prekursor kanker) dalam waktu 3 tahun infeksi. Hanya 20% dari lesi CIN III yang

berkembang menjadi kanker serviks invasif dalam waktu 5 tahun, dan hanya 40% dari lesi CIN III yang berkembang menjadi kanker serviks invasif dalam krun waktu 30 tahun (Skinner dkk, 2012 dalam Zulaifah, 2013).

Eksoserviks pada serviks normal dilapisi epitel pipih. Endoserviks yang dilapisi oleh epitel selapis silindris, berada di kanalis serviks dan terlihat pada ostium serviks. Lesi intraepitelial skuamosa berderajat rendah (LGSIL) atau CIN I, memiliki gambaran hampir sepertiga dari epitelnya merupakan sel displasia. Lesi intraepitelial skuamosa berderajat tinggi (HGSIL) atau CIN II dan CIN III/CIS memiliki gambaran lebih dari sepertiga lapisan epitelnya terdiri dari displasia (Blumenthal dan McIntosh, 2005).



Gambar 2.9 mikroanatomi displasia (Blumenthal dan McIntosh, 2005)

2.6.6 Manifestasi Klinis

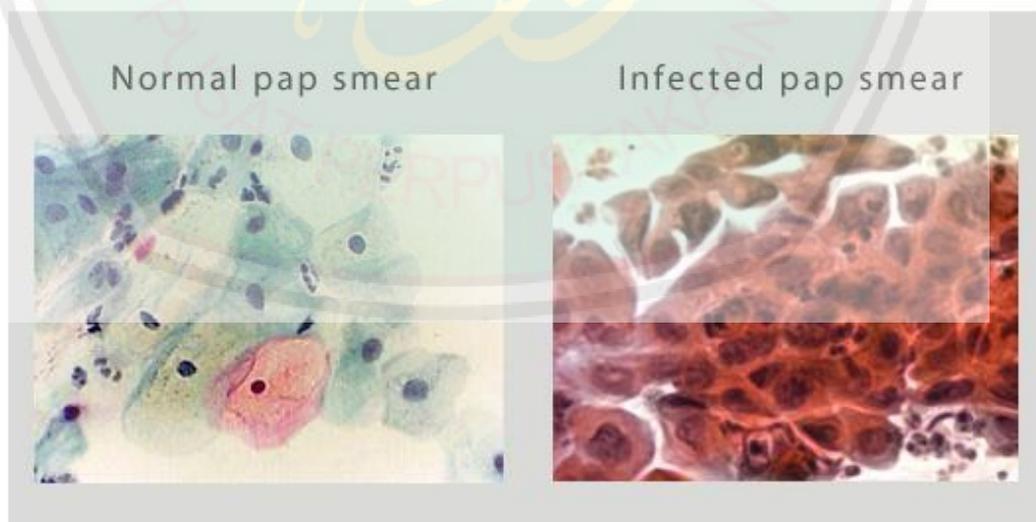
Manifestasi klinis yang paling sering dan paling penting adalah perdarahan irreguler. Manifestasi klinis lainnya yaitu perdarahan pasca senggama, sekret berbau busuk dan kadang bercampur darah, rasa gatal di kemaluan bagian luar dan nyeri punggung bawah (FK Unpad, 2012; Rayburn, 2001; Yoshida dkk, 2012). Pada stadium lanjut, perdarahan terkadang menjadi sangat berat sehingga

dilakukan transfusi darah. Perdarahan berat ini dapat menyebabkan kematian pada pasien usia lanjut (Yoshida dkk, 2012).

2.6.7 Diagnosis

Apabila seseorang dicurigai menderita kanker serviks, maka perlu dilakukan *pap smear* sebagai skrining awal. *Pap smear* adalah prosedur pengambilan sel dari serviks dan vagina untuk kemudian dilihat di mikroskop (Saladin, 2004). Hasil dari pemeriksaan *pap smear* diklasifikasikan dalam 5 skala yaitu: (Saladin, 2004)

1. Kelas I: tidak ada sel abnormal yang terlihat
2. Kelas II: sel abnormal tanda inflamasi, infeksi atau iritasi
3. Kelas III: pertumbuhan sel abnormal sedang tapi tidak ganas (displasia)
4. Kelas IV: sel yang menunjukkan kanker lokal
5. Kelas V: sel yang menunjukkan kanker invasif



Gambar 2.10 Hasil pemeriksaan *pap smear* (Saladin, 2004)

Pap smear dilakukan setiap 3 tahun sekali (Saladin, 2004). Jika pemeriksaan *pap smear* menunjukkan hasil yang abnormal, maka dilakukan biopsi sebagai tes diagnostik (FK Unpad, 2012).

Biopsi adalah mengambil sepotong jaringan hidup dan memeriksa secara mikroskopis dengan tujuan penegakan diagnosa dan mengevaluasi perjalanan penyakit (Wardhani, 2010). Beberapa tipe biopsi yang digunakan untuk diagnosa prekanker serviks atau kanker serviks adalah sebagai berikut: (American Cancer Society, 2012)

1. *Biopsi colposcopic*: serviks diperiksa menggunakan *colposcope* untuk menemukan area abnormal. Area abnormal tersebut akan dihilangkan sekitar 1/8 inch pada permukaan serviks. Prosedur biopsi dapat menyebabkan kram ringan, nyeri dan sedikit perdarahan sehingga anestesi lokal biasa digunakan sebelum melakukan biopsi.
2. *Endocervical scraping*: *Endocervical scraping* dilakukan jika zona transformasi (area yang beresiko terkena infeksi HPV dan prekanker) tidak terlihat dengan *colposcope*. *Endocervical scraping* menggunakan alat yang sempit untuk dimasukkan ke dalam kanal endoserviks. Alat ini disebut *urette*. *Curette* digunakan untuk mengambil jaringan kanal serviks yang selanjutnya akan dikirim ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan. Biopsi jenis ini juga dapat menimbulkan kram, nyeri dan sedikit perdarahan.
3. *Biopsi cone (conization)* : Dasar cone dibentuk oleh eksoserviks (bagian luar serviks) dan apeks cone berasal dari kanal endoserviks. Zona

transformasi (batas endoserviks dan eksoserviks) merupakan area serviks yang sering menjadi awal terbentuknya prekanker dan kanker. Zona transformasi juga termasuk dalam spesimen cone. Biopsi cone juga dapat digunakan sebagai pengobatan untuk menghilangkan beberapa prekanker dan stadium awal kanker. Biopsi cone tidak pernah mencegah kehamilan, tetapi jika jumlah jaringan yang telah dihilangkan banyak, wanita beresiko tinggi melahirkan bayi prematur. Terdapat dua metode yang biasa digunakan untuk biopsi cone yaitu *loop electrosurgical excisional procedure* (LEEP) dan biopsi *cone cold knife*.

Untuk mengetahui stadium dan metastasis dari kanker serviks secara pasti maka dapat dilakukan beberapa pemeriksaan penunjang yaitu: (American Cancer Society, 2012)

1. *Cytoscopy* dan *protoscopy*
2. *Chest X-Ray*
3. *CT Scan*
4. *Magnetic Resonance Imaging* (MRI)
5. *Intravenous urography*
6. *Position emission tomography*

2.6.8 Stadium Kanker Serviks

Berikut adalah tingkat keparahan (stadium) kanker serviks menurut *American Joint Commite on Cancer*:

Tumor Primer

TNM categories	FIGO stages	Definition
TX		Tumor tidak dapat dinilai
TO		Tidak ada bukti tumor primer
Tis	I	Karsinoma in situ (karsinoma invasif)
T1	I	Karsinoma serviks mencapai uterus
T1a	IA	Karsinoma invasif terdiagnosa hanya secara mikroskopis. Invasi stroma dengan kedalaman maksimal 5 mm yang diukur dari dasar epitel dan menyebar secara horisonttal selebar 7 mm atau kurang, keterlibatan vaskular, vena, limfatik tidak mempengaruhi klasifikasi
T1a1	IA1	Invasi stroma dengan kedalaman ≤ 3 mm dan menyebar secara horisontal ≤ 7 mm
T1a1	IA2	Invasi stroma > 3 mm dan < 5 mm dengan penyebaran secara horisontal ≤ 7 mm
T1b	IB	Secara klinis lesi terlihat pada serviks dan lesi secara mikroskopis dan lebih besar daripada T1a/IA2
T1b1	IB1	Lesi terlihat ≤ 4 cm pada dimensi yang paling besar
T1b2	IB2	Lesi terlihat > 4 cm pada dimensi yang paling besar
T2	II	Karsinoma serviks menginvasi uterus tetapi tidak menginvasi dinding pelvis atau sepertiga bagian bawah vagina

T2a1	IIA1	Secara klinis lesi terlihat \leq 4 cm
T2a2	IIA2	Secara klinis lesi $>$ 4 cm
T2b	IIB	Tumor dengan invasi parametrial
T3	III	Tumor menyebar ke dinding pelvis dan/atau melibatkan sepertiga bagian bawah vagina, dan/atau menyebabkan hidronefrosis atau ginjal tidak berfungsi
T3a	IIIA	Tumor melibatkan sepertiga bawah vagina, tidak menyebar ke dinding pelvis
T3b	IIIB	Tumor menyebar ke dinding pelvis dan/atau menyebabkan hidronefrosis atau ginjal tidak berfungsi
T4	IV4	Tumor menginvasi mukosa dinding kandung kemih atau rektum, dan/atau menyebar ke pelvis (bullous edema tidak cukup untuk mengklasifikasikan tumor sebagai stadium T4)

Limfonodus Regional (N)

TNM categories	FIGO stages	Definition
NX		Limfonodus regional tidak dapat dinilai
NO		Tidak ada metastasis ke limfonodus regional
N1	IIIB	Metastasis ke limfonodus regional

Metastasis Jauh (M)

TNM categories	FIGO stages	Definition

MO		Tidak terdapat metastasis yang jauh
M1	IVB	Metastasis telah mencapai jarak yang jauh (meliputi penyebaran ke peritonium, melibatkan supraclavicular, mediastenal, atau limfonodus paraaorta, paru, hati atau tulang)

Tabel 2.3 Stadium Kanker Serviks (AJCC, 2010)

ANATOMIC STAGE/PROGNOSTIC GROUPS (FIGO 2008)			
Stage 0*	Tis	N0	M0
Stage I	T1	N0	M0
Stage IA	T1a	N0	M0
Stage IA1	T1a1	N0	M0
Stage IA2	T1a2	N0	M0
Stage IB	T1b	N0	M0
Stage IB1	T1b1	N0	M0
Stage IB2	T1b2	N0	M0
Stage II	T2	N0	M0
Stage IIA	T2a	N0	M0
Stage IIA1	T2a1	N0	M0
Stage IIA2	T2a2	N0	M0
Stage IIB	T2b	N0	M0
Stage III	T3	N0	M0
Stage IIIA	T3a	N0	M0
Stage IIIB	T3b	Any N	M0
	T1-3	N1	M0
Stage IVA	T4	Any N	M0
Stage IVB	Any T	Any N	M1

2.6.9 Terapi

Terapi untuk kanker serviks terdiri dari 2 macam yaitu: (Zulaifa, 2013)

1. Terapi Pembedahan

Pembedahan dapat memperpanjang waktu ovarium untuk berfungsi jika dilakukan ketika penyakit pada tahap awal. Perpanjangan waktu ovarium untuk fungsi dapat menghindarkan dari menopause muda. Pembedahan dapat

memberikan efek pemendekan dan fibrosis vagina yang lebih ringan pada fungsi seksual jika dibandingkan dengan radioterapi radikal. Pembedahan juga membuat status nodus limfatikus dapat dinilai secara akurat. Pembedahan merupakan pilihan terapi yang terbaik pada wanita muda yang tidak memiliki kontraindikasi (Zulaifa, 2013).

a. Histerektomi radikal (RH)

RH meliputi pengangkatan uterus, serviks, jaringan parametrial dan vagina atas. RH biasa dikombinasi dengan limfadenektomi pelvis. Kelas RH ditentukan oleh luas jaringan parametrial yang diangkat.

b. Histerektomi radikal vagina – laparoskopik (LVRH)

LVRH merupakan alternatif terapi yang paling aman dan efektif untuk terapi kanker serviks stadium IB1. Lamanya rawat inap pasien dengan LVRH lebih singkat dibanding pasien setelah RH

c. *Total pelvic exeteration*

2. Terapi Non-pembedahan

Terapi non-pembedahan terdiri dari: (Zulaifa, 2013)

a. *Concurrent chemoradiotherapy*

Concurrent chemoradiotherapy lebih baik daripada hanya radiasi pada pasien yang telah dipertimbangkan cocok untuk melakukan terapi ini. Kemoradioterapi untuk kanker serviks berhubungan dengan peningkatan toksisitas hematologi dan gastrointestinal akut

b. Kemoradioterapi atau Radioterapi Ajuvan

Radioterapi ajuvan mengurangi kekambuhan lokal pada pasien kanker serviks setelah pembedahan.

c. Brakiterapi

Brakiterapi merupakan radioterapi gelombang pendek yang dihantarkan dengan insersi aplikator menuju uterus melalui vagina.

d. Kemoterapi neoajuvan

e. Pengobatan anemia

f. Pengobatan komplikasi yang diinduksi radiasi

g. Terapi penggantian hormon (*Hormone Replacement Therapy* / HRT)

2.6.10 Pencegahan Kanker Serviks

Pencegahan kanker serviks terdiri dari 2 macam yaitu pencegahan primer, sekunder dan tersier. Pencegahan primer merupakan Pencegahan kanker serviks yang terlihat efektif adalah dengan vaksinasi HPV. Vaksin terbuat dari partikel inaktivasi virus yang tidak infeksi tapi bersifat imunogenik. Administrasi vaksin kuadrivalen HPV melawan tipe 16, 18, 6 dan 11. Tetapi karena tidak semua kanker serviks hanya disebabkan oleh tipe 16, 18, 11 dan 6 maka wanita tetap bisa menderita kanker serviks (Fauci dkk, 2008). Pencegahan sekunder yang bisa dilakukan adalah dengan melakukan pemeriksaan *pap smear*. Pemeriksaan *pap smear* didasarkan pada resiko pasiennya yaitu pasien resiko tinggi dan sedang. Sedangkan pencegahan tersier berupa pengendalian gaya hidup. Diantaranya bentuk pengendalian gaya hidup adalah: (Diananda, 2009)

1. Waspadaai gejalanya seperti pendarahan, terutama setelah melakukan aktivitas seksual.
2. Tidak berperilaku seksual yang berisiko untuk terinfeksi HPV seperti tidak berganti-ganti pasangan dan tidak melakukan hubungan seksual pada usia dini (kurang dari 18 tahun).
3. Hindari merokok. Wanita sebaiknya tidak merokok, karena dapat merangsang timbulnya sel-sel kanker melalui zat nikotin yang terkandung dalam rokok.
4. Hindari mencuci vagina dengan obat antiseptik maupun deodoran karena mengakibatkan iritasi di serviks yang merangsang terjadinya kanker.
5. Hindari pemakaian bedak (talk) pada vagina.
6. Lakukan diet rendah lemak. Lemak memproduksi hormon estrogen, sementara endometrium yang sering terpapar hormon estrogen mudah berubah menjadi kanker.
7. Penuhi kebutuhan vitamin C.

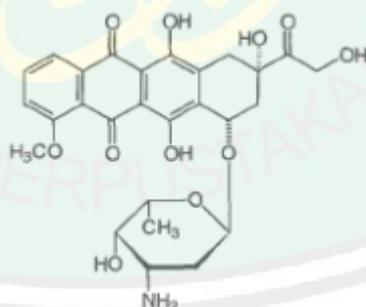
2.7 Tinjauan tentang kultur sel kanker serviks

“Sel kultur (*cell line*) adalah sel yang dapat berproliferasi pada media kultur secara *in vitro*. Sel kultur dapat diambil dari jaringan asal atau memperbanyak sel yang sudah ada” (Rosdiana, 2017). Kultur sel banyak digunakan dalam penelitian tingkat *in vitro* seperti penelitian dalam uji senyawa atau ekstrak untuk penemuan obat baru. Sel kultur juga disebut dengan *continous cell line*. *Continous cell line*

sering dipakai dalam penelitian kanker *in vitro* karena memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas tinggi, mudah penanganannya dan mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall, 2003 dalam Rosdiana, 2017).

Kultur sel kanker serviks HeLa atau HeLa *cell line* berasal dari sel epitel kanker serviks Henrietta Lack. Henrietta Lack merupakan wanita penderita kanker serviks yang meninggal pada tahun 1951. Kultur sel ini digunakan sebagai model sel kanker untuk mempelajari sinyal transduksi seluler. Sel HeLa merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur karena sel ini cukup aman. Sel HeLa dapat membelah secara tidak terbatas sehingga bersifat immortal. Strain-strain baru dari sel HeLa berasal dari keturunan yang sama (Rositadkk,2012).

2.8 Doksorubisin



Gambar 2.11 Struktur doksorubisin (Smith dkk, 2000 dalam Ranasasmita, 2008)

Doksorubisin termasuk antibiotik antrasiklin. Antibiotik ini dihasilkan oleh jamur *Streptococcus peucetius* var. *caesius*. Antibiotik antrasiklin memiliki struktur cincin tetrasiklin dengan gula tidak lazim, daunosamin, terikat melalui

ikatan glikosidik, bagian kuinon dan hidrokuinon yang membuatnya berfungsi sebagai senyawa penerima dan pemberi elektron. Pembeda doksorubisin dengan antibiotik golongan antrasiklin lain adalah gugus hidroksi tunggal pada C-14. Hal ini menyebabkan perbedaan penggunaan klinis. Doksorubisin menunjukkan aktivitas yang lebih luas terhadap neoplasma dibandingkan dengan antibiotik antrasiklin lain. “Obat ini telah menunjukkan aktivitas pada karsinoma endometrium, testis, prostat, serviks, serta kepala dan leher, juga pada mieloma sel plasma” (Gilman, 2012). Terdapat 4 mekanisme utama dari doksorubisin sebagai agen sitotoksik yaitu (1) inhibisi topoisomerase, (2) ikatan afinitas tinggi dengan DNA melalui interkalasi, sehingga menghasilkan blokade sintesis DNA dan RNA, dan pemotongan untaian DNA, (3) pengikatan dengan membran sel untuk mengganggu fluiditas dan transpor ion, dan (4) pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses reduksi yang diperantarai enzim bergantung besi (Katzung, 2010). Doksorubisin mengikat enzim yang berikatan dengan DNA, ikatan tersebut dapat menambah pasangan basa DNA untai ganda. Doksorubisin juga mengikat banyak target, diantaranya enzim topoisomerase I dan II. Ikatan tersebut mengakibatkan beberapa efek sitotoksik terjadi bersamaan dengan antiproliferasi. Hal ini menyebabkan kerusakan DNA (Tacar, 2012).

Doksorubisin tersedia dalam bentuk infus intravena. Pemberian dilakukan dalam dosis tunggal secara cepat dan diulang setelah 21 hari. Dosis yang dianjurkan adalah 60 sampai 75 mg/m². Pemberian harus dilakukan secara hati-

hati untuk mencegah ekstrasvasi karena pelepasan lokal yang parah dan nekrosis jaringan dapat terjadi (Gilman, 2012).

Toksisitas yang membatasi dosis doksorubisin adalah mielosupresi, neutropenia dan trombositopenia (neutropenia lebih sering dijumpai dibanding trombositopenia). Mekanisme radikal bebas pada doksorubisin juga menyebabkan kardiotoxsisitas. Terdapat 2 bentuk kardiotoxsisitas yaitu bentuk kronik dan bentuk akut. Bentuk akut muncul pada 2-3 hari pertama bersifat selintas dan tidak bergejala pada banyak kasus. Bentuk akut ditandai dengan aritmia, gangguan konduksi, perubahan elektrokardiografi lain, perikarditis dan miokarditis. Sedangkan bentuk kronik menyebabkan kardiomiopati, sehingga berpotensi menyebabkan gagal jantung (Katzung, 2010).

2.9 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel dengan tujuan untuk mendeteksi adanya aktivitas neoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1992 dalam Sitorus, 2013). Uji sitotoksitas pada kultur sel merupakan salah satu cara untuk mendapatkan obat sitotoksik. Metode ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Freshney, 1992).

Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi suatu senyawa yang dapat menghambat 50% proliferasi sel. Nilai ini menunjukkan ketoksikan dari senyawa yang diuji dan potensi senyawa tersebut sebagai agen sitotoksik. Semakin besar nilai dari IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Anggrianti, 2008). Akhir dari uji

sitotoksik adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Djajanegara dan Wahyudi, 2009).

Uji sitotoksik dapat dilakukan dengan beberapa uji, salah satunya adalah MTT. Metode MTT (*Microculture Tetrazolium*) banyak dimanfaatkan untuk menyelidiki mekanisme aktivasi sel dan kerusakan. Pengujian MTT dilakukan secara kolorimetri (Godwin dkk, 1995). Prinsip dari metode MTT adalah reduksi reagen MTT menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang masih terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel hidup (Junaidi, 2005). “Kristal formazan memberikan warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader*” (Junaidi, 2005).

MTT assay merupakan metode yang penggunaannya lebih banyak digunakan dibandingkan dengan metode lainnya yaitu metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*). *MTT assay* yang memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle dan Griffiths, 2000 dalam Anggrianti, 2008).

2.10 Uji Apoptosis

“Fluoresitometri merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menganalisa jenis sel yang terdapat dalam suatu populasi sel” (CCRC, 2014). Sel dilabel fluoresen, dilewatkan celah sempit dan ditembak sinar. Populasi sel yang sejenis (misal sel kanker yang diberi senyawa sitotoksik) dapat dilakukan analisis terhadap fase-fase daur sel, sel yang mengalami apoptosis dan sel yang

mengalami poliploidi. Masing-masing jenis sel tersebut akan memiliki perbedaan jumlah set kromosom. Jumlah set kromosom pada fase G₀/G₁ 2 set, fase S 3 set dan fase G₂/M sebanyak 4 set kromosom. Jumlah set kromosom sebanding dengan intensitas sinyal optik yang diberikan, karena kemampuan fluoresen berinterkalasi pada DNA semakin besar. Pada sel yang mengalami apoptosis, kromosom telah mengalami fragmentasi sehingga intensitas fluoresen sangat lemah. Sedangkan pada sel poliploid, intensitas yang diberikan sangat kuat karena jumlah set kromosom lebih dari 4 (CCRC, 2014).

“Flowsitometri merupakan teknologi yang secara simultan mampu menghitung dan mengkarakterisasi berbagai macam sifat fisika dari partikel tunggal (biasanya sel)” (Koolman dkk, 1994 dalam Indradmojo, 2016). Flowsitometri dapat menganalisa sel atau suspensi partikel dari ukuran 0,2-150 μm . Flowsitometri dapat digunakan untuk mendeteksi adanya perubahan morfologi sel yang mengalami apoptosis menggunakan *nuclear staining* dan menghitung jumlah sel yang mengalami apoptosis menggunakan flowsitometri Annexin V (Koolman dkk, 1994 dalam Indradmojo, 2016).

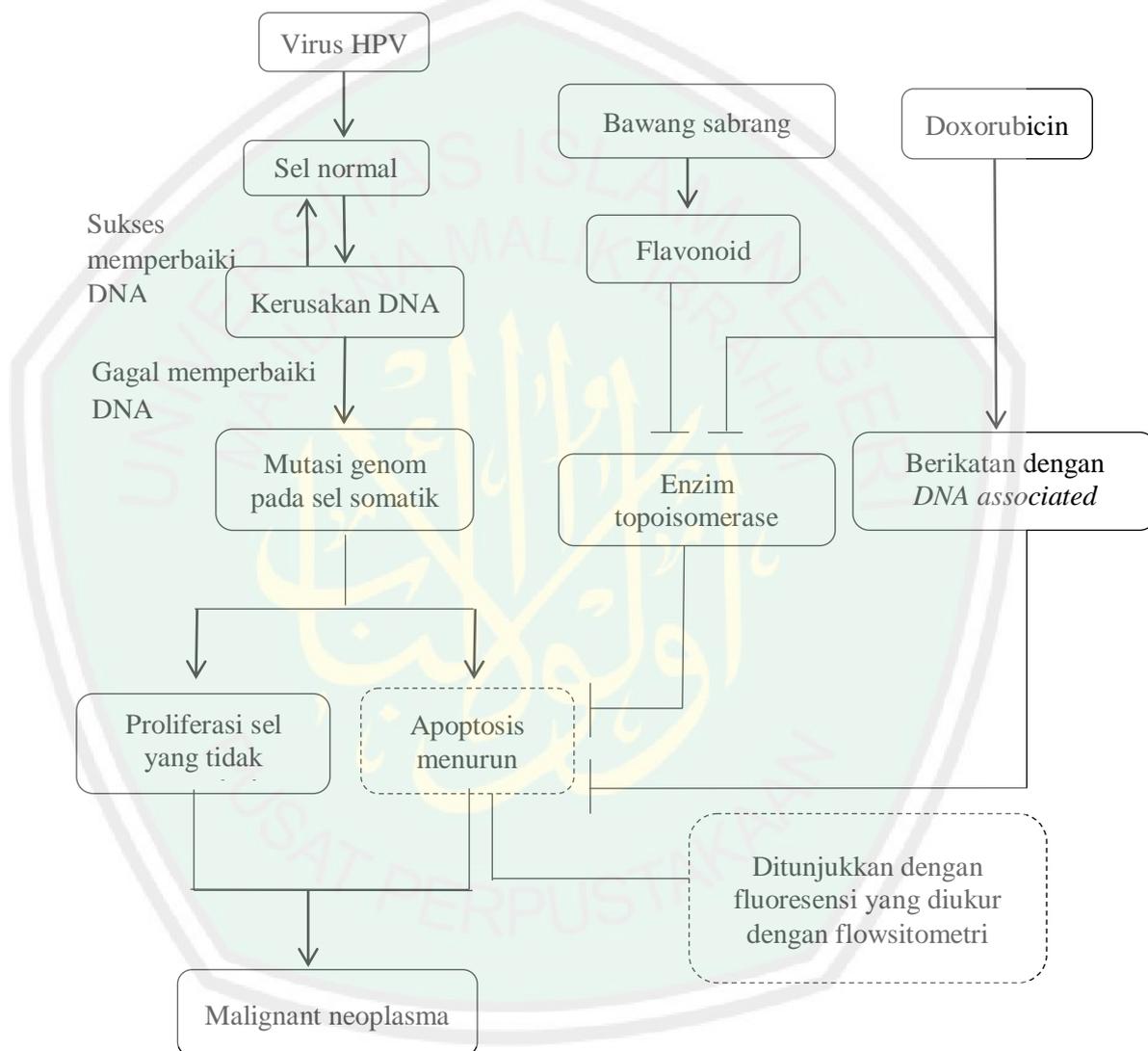


Gambar 2.12 Flowsitometer FACS-Calibur (CCRC, 2014)

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan:

→ = memicu

⋯ yang diteliti

⊥ = menghambat

□ = bagan yang tidak diteliti

Kanker serviks terjadi karena infeksi *Human Papilloma Virus*. Virus ini menyerang epitel permukaan serviks pada sel basal zona transformasi mengakibatkan kerusakan pada DNA. Jika kerusakan dapat diperbaiki maka sel akan kembali normal. Sebaliknya jika kerusakan sel tidak dapat diperbaiki, maka sel akan mengalami mutasi gen somatik. Mutasi tersebut terjadi pada gen yang berfungsi untuk perbaikan DNA serta gen yang berfungsi mengatur pertumbuhan dan apoptosis sel. Mutasi tersebut menyebabkan aktivasi *growth promoting oncogen*, inaktivasi *tumor suppressor gene* dan perubahan pada gen yang meregulasi apoptosis. Sehingga terjadi proliferasi sel yang tidak teregulasi dan apoptosis menurun sampai terjadi kanker ganas (*malignant neoplasma*).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara modern dan tradisional. Pengobatan kanker dengan cara modern meliputi radiasi, pembedahan dan kemoterapi. Kemoterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan obat-obatan. Salah satu obat yang paling sering digunakan adalah doksorubisin. Doksorubisin termasuk dalam golongan antibiotik tetrasiklin. Mekanisme kerja dari doksorubisin adalah dengan mengikat enzim yang berikatan dengan DNA, ikatan tersebut dapat menambah pasangan basa DNA untai ganda. Doksorubisin juga mengikat banyak target, diantaranya enzim topoisomerase I dan II. Ikatan tersebut mengakibatkan beberapa efek sitotoksik terjadi bersamaan dengan antiproliferasi. Hal ini menyebabkan kerusakan DNA. Doksorubisin juga mempengaruhi membran sel secara langsung dengan mengikat protein plasma yang menyebabkan pengurangan elektron enzimatik doksorubisin. Ini dapat menyebabkan pembentukan spesies radikal bebas hidroksil yang sangat reaktif.

Mekanisme radikal bebas ini telah diketahui bertanggungjawab pada kardi toksisitas akibat doksorubisin. Efek samping lain yang mungkin terjadi adalah mielosupresi dan trombositopenia, sehingga penggunaan doksorubisin dibatasi dengan dosis 550 mg/m². Selain itu, penggunaan jangka panjang doksorubisin juga dapat menyebabkan resistensi. Hal ini disebabkan oleh ekspresi berlebih dari P-glikoprotein (Pgp). Resistensi dapat meningkatkan dosis terapi yang disebut dengan fenomena *Multi Drug Resistance* (MDR). Banyak pendekatan yang dilakukan untuk mengurangi fenomena MDR. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah penggunaan kombinasi kemoterapi dengan agen kemoprevensi yang bersifat non-toksik atau lebih tidak toksik. Bahan alami yang ideal digunakan sebagai agen kemoprevensi adalah bahan alami yang berefek sinergis dengan agen kemoterapi, sehingga dosis agen kemoterapi yang dipakai dapat diturunkan sebagai upaya menghindari efek samping serta membantu percepatan penyembuhan kanker.

Bawang sabrang mempunyai potensi sebagai agen kemoprevensi karena bawang sabrang mengandung flavonoid dan naphthaquinon. Flavonoid dapat menghambat ekspresi dari enzim topoisomerase yang berperan dalam skringing katalisis dan relaksasi DNA. Penghambatan enzim topoisomerase dapat menyebabkan kerusakan dan dilanjutkan dengan proses apoptosis. Dari segi mekanisme kerja, bawang sabrang memiliki mekanisme kerja yang sama dengan doksorubisin, sehingga diperkirakan dapat memiliki efek yang sinergis.

3.2 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Kombinasi ekstrak etanol tanaman bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dan doksorubisin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa
2. Ekstrak etanol bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dikombinasikan dengan doksorubisin dapat meningkatkan apoptosis pada sel kanker serviks HeLa.

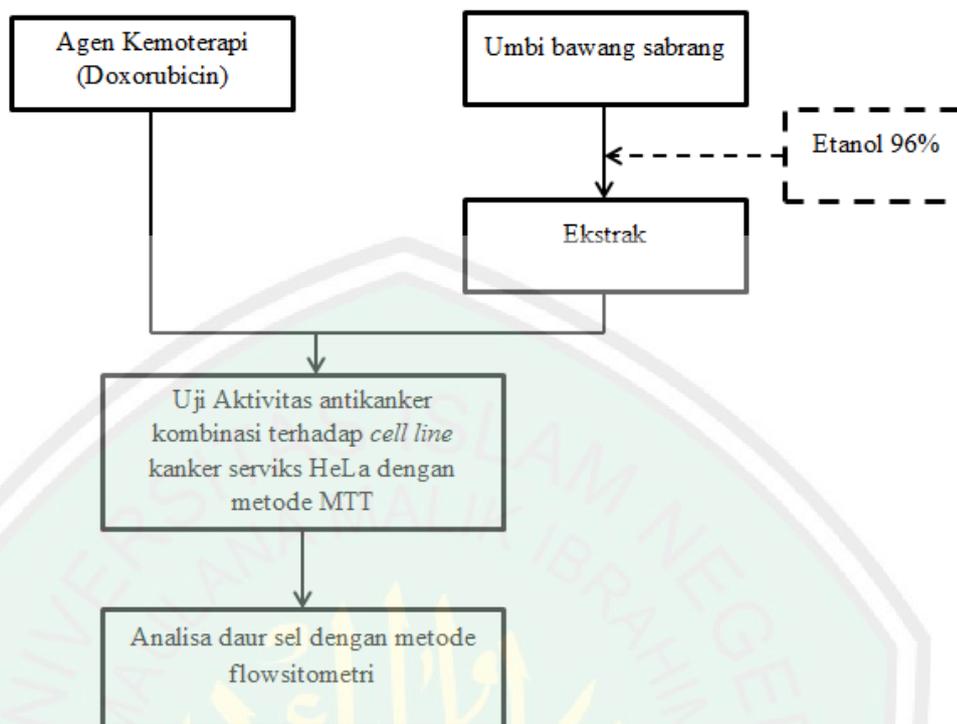


BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan *true experimental design* yaitu penelitian eksperimental murni dengan membandingkan hasil yang didapatkan setelah perlakuan pada kontrol positif dan kontrol negatif. Perlakuan terhadap semua sampel dilakukan secara bersamaan dan dilanjutkan dengan pengamatan yang juga dilakukan secara bersama-sama dengan menggunakan jenis *Post test Only Control Group Design* (Notoatmodjo, 2002). Populasi dalam penelitian ini adalah spesies bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*(L.) Merr), dengan sampel bawang sabrang yang didapat dari Materia Medika Batu. Adapun skema rancangan penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema Penelitian

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Mei 2017. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

- Ekstrak Bawang Sabrang.
- Doksorubisin.

b. Variabel Tergantung

- Intensitas warna. Intensitas warna yang dihasilkan oleh interaksi antara reagen dengan sel ditangkap oleh ELISA *reader* dan diubah menjadi absorbansi. Absorbansi tersebut digunakan untuk mengetahui viabilitas sel.
- Prosentase sel. Prosentase sel ditunjukkan dalam 4 kuadran, yaitu LL (*Lower Left*), LR (*Lower Right*), UL (*Upper Left*), dan UR (*Upper Right*). Kuadran LL menunjukkan persen sel yang hidup, kuadran LR menunjukkan persen sel yang mengalami *early apoptosis*, kuadran UL menunjukkan persen sel yang mengalami nekrosis, kuadran UR menunjukkan persen sel yang mengalami *late apoptosis*.

c. Variabel Kontrol

- Metode yang digunakan adalah MTT dan Flowsitometri

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

- Ekstrak bawang sabrang : bagian dari tanaman bawang sabrang yang digunakan adalah umbi. Umbi bawang sabrang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu, Jawa Timur. Dilakukan ekstraksi di Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Farmasi dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96%.

- b. Dokсорubisin : Dokсорubisin termasuk agen kemoterapi golongan antibiotik antrasiklin. Antibiotik ini dihasilkan oleh jamur *Streptococcus peucetius* var. *caesius*. Perbedaan dokсорubisin dengan antibiotik golongan antrasiklin lain adalah gugus hidroksi tunggal pada C-14. Dokсорubisin menunjukkan aktivitas yang lebih luas terhadap neoplasma dibandingkan dengan antibiotik antrasiklin lain.
- c. Sel line kanker serviks HeLa : sel diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Centre* (CCRC), Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Sel HeLa berasal dari sel epitel kanker serviks Henrietta Lack. Sel HeLa bersifat immortal dan cukup aman sehingga banyak digunakan untuk kepentingan kultur (Rositadkk,2012).
- d. Apoptosis: mekanisme kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi.
- e. MTT : metode yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker pada sel dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji ini didasarkan pada reaksi antara reagen MTT dengan mitokondria sel (Doyle dan Griffiths, 2000 dalam Anggrianti, 2008)
- f. Flowsitometri : “suatu teknik yang digunakan untuk menganalisa jenis sel yang terdapat dalam suatu populasi sel” (CCRC, 2014). Sel dilabel fluoresen, dilewatkan celah sempit dan ditembak sinar. Sinar tersebut berfluoresensi dan ditangkap oleh detektor.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Alat utama yang diperlukan dalam penelitian ini adalah evaporator, ELISA reader, tangki nitrogen cair, CO₂-Jacketed Incubator, mikroskop fase kontras, *Laminar Air Flow cabinet* (NuAire), *flowcytometer* (BD FACSCalibur).

4.4.2 Bahan

a. Bahan Uji

Bahan yang akan digunakan penelitian ini adalah *Eleutherine palmifolia* yang diambil dari kota Batu Jawa Timur.

b. Bahan untuk Ekstraksi

Pelarut yang akan digunakan untuk tahap ekstraksi maserasi adalah etanol 96%.

c. Bahan untuk Kultur Sel

Sel kanker yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sel *line* kanker leher rahim HeLa, sel tersebut akan diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Centre* (CCRC), Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

d. Bahan Uji Sitotoksik

Bahan yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah Dimetil sulfoksida (DMSO), 0,025% tripsin, *Phosphate buffer saline* (PBS), Reagen MTT dan Doksorubisin.

e. Bahan untuk Apoptosis

Bahan yang digunakan untuk apoptosis adalah larutan *propidium iodide* (PI), Annexin dan filter.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman akan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

4.5.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah umbi dari bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*). Umbi bawang sabrang yang digunakan sebanyak 4 kg. Umbi bawang sabrang dicuci hingga bersih, kemudian dipotong kecil-kecil. Umbi yang sudah dipotong dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40⁰C sampai kering. Selanjutnya potongan umbi diblender hingga berbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Serbuk halus tersebut kemudian diekstraksi.

4.5.3 Analisa Kadar Air Simplisia Bawang Sabrang

Alat *moisture analyzer* dihidupkan dan ditara. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam alat sebanyak 0,5 gram. Alat ditutup dan ditunggu hingga proses analisa selesai.

4.5.4 Ekstraksi Bawang Sabrang

Ekstraksi serbuk simplisia bawang sabrang dilakukan dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:20. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik (Handayani dkk, 2016). 25 gram simplisia diekstraksi dengan 500 ml etanol. 500 ml etanol dibagi menjadi 3 bagian yaitu 200 ml, 150 ml dan 150 ml. simplisia dimasukkan kedalam erlenmeyer dengan bagian pertama etanol (200 ml) dan diekstraksi selama 2 menit dengan 3 kali pengulangan. Setelah selesai diekstraksi,

difiltrasi dan simplisia diekstraksi dengan bagian kedua dan ketiga etanol dengan cara yang sama. Filtrat dikumpulkan. Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dalam oven.

4.5.5 Uji Sitotoksik Kombinasi dengan Metode MTT (CCRC, 2009)

4.5.5.1 Penyiapan Sel (CCRC, 2009)

Sel kanker serviks HeLa dikeluarkan dari *freezer* dan dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit hingga mencair. Kemudian sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 ml media RPMI dan diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 30°C dengan 5% CO₂. Setelah diinkubasi, disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker dengan media. Diamati menggunakan mikroskop, bila sel dalam *culture dish* mencapai 70-85% dilakukan panen sel.

Panen sel dilakukan dengan cara mencuci sel dengan PBS sebanyak 2 kali. Kemudian ditambahkan Tripsin-EDTA dan diinkubasi selama 3 menit. Ditambahkan media DMEM 5 ml untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

4.5.5.2 Penghitungan Sel Kanker (CCRC, 2009)

Panen sel diambil sebanyak 10 µL dan dipipetkan ke dalam *hematocytometer*. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop inverted. Jumlah sel diketahui dengan perhitungan:

$$\text{Jumlah sel yang dihitung/ml} = \frac{\Sigma \text{sel kamar A} + \Sigma \text{sel kamar B} + \Sigma \text{sel kamar C} + \Sigma \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4$$

4.5.5.3 Peletakan Sel pada 96-wellplate (CCRC, 2009)

Jumlah panen yang ditransfer dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Jumlah ml panen sel yang ditransfer} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung/ml}}$$

Sel diletakkan dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan ke dalam 96-wellplate, 6 sumuran bagian kanan bawah dikosongi untuk kontrol media. Kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam.

4.5.5.4 Pemberian Larutan Sampel pada 96-wellplate (CCRC, 2009)

Larutan sampel dibuat dengan melarutkan ekstrak bawang sabrang dan doxorubicin dalam DMSO. Masing-masing larutan dibuat dalam konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC₅₀, $\frac{1}{4}$ IC₅₀, $\frac{3}{8}$ IC₅₀ dan $\frac{1}{8}$ IC₅₀. Diketahui IC₅₀ dari ekstrak bawang sabrang adalah 40,36 µg/ml (Mutiah dkk, 2016). Konsentrasi doksorubisin yang dipakai adalah 50, 100, 150 dan 200 nM (Mubarok dkk, 2008). Sel diambil dari inkubator dan media sel dibuang dengan cara 96-wellplate dibalikkan diatas tempat pembuangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan cairan. 100 µL PBS ke dalam sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali. Kemudian larutan sampel dimasukkan ke dalam 96-wellplate dengan desain sebagai berikut.

BS : DX												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	$\frac{1}{2}$ IC50			$\frac{1}{2}$ IC50 BS : $\frac{1}{2}$ IC50 DX			$\frac{1}{2}$ IC50 BS : $\frac{1}{4}$ IC50 DX			KOSONG		
B	$\frac{3}{8}$ IC50			$\frac{3}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{2}$ IC50 DX			$\frac{3}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{4}$ IC50 DX					
C	$\frac{1}{4}$ IC50			$\frac{1}{4}$ IC50 BS : $\frac{1}{2}$ IC50 DX			$\frac{1}{4}$ IC50 BS : $\frac{1}{4}$ IC50 DX					
D	$\frac{1}{8}$ IC50			$\frac{1}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{2}$ IC50 DX			$\frac{1}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{4}$ IC50 DX					
E	$\frac{1}{2}$ IC50			$\frac{1}{2}$ IC50 BS : $\frac{3}{8}$ IC50 DX			$\frac{1}{2}$ IC50 BS : $\frac{1}{8}$ IC50DX			KONTROL SEL		
F	$\frac{3}{8}$ IC50			$\frac{3}{8}$ IC50 BS : $\frac{3}{8}$ IC50 DX			$\frac{3}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{8}$ IC50DX					
G	$\frac{1}{4}$ IC50			$\frac{1}{4}$ IC50 BS : $\frac{3}{8}$ IC50 DX			$\frac{1}{4}$ IC50 BS : $\frac{1}{8}$ IC50DX			KONTROL MEDIA		
H	$\frac{1}{8}$ IC50			$\frac{1}{8}$ IC50 BS : $\frac{3}{8}$ IC50 DX			$\frac{1}{8}$ IC50 BS : $\frac{1}{8}$ IC50DX					

Gambar 4.2 desain *wellplate* untuk uji sitotoksik kombinasi

Keterangan: BS = bawang sabrang

DX = doxorubicin

4.5.5.5 Pemberian Larutan MTT (CCRC, 2009)

Media sel dibuang dan dicuci dengan PBS. Larutan MTT ditambahkan sebanyak 100 μ L ke setiap sumuran. Kemudian diinkubasi kembali selama 3-4 jam sampai terbentuk formazan. Setelah formazan terbentuk, kondisi sel diamati dengan mikroskop inverted dan ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl.

Plate dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi semalam di tempat gelap. Kemudian dianalisa dengan ELISA reader.

4.5.6 Analisa Apoptosis Sel dengan Flowsitometri (Nur Azizah, 2015)

Sel diambil dari inkubator CO₂, diamati kondisi sel. Sel dipanen sesuai dengan protokol panen. Jumlah sel dihitung. Jumlah sel yang dibutuhkan untuk 6 well plate adalah 5×10^5 sel/sumuran (5×10^5 sel/1000 μ L). Sel ditransfer ke dalam sumuran 6 well plate, masing-masing 1000 μ l (untuk perlakuan dan untuk kontrol sel). Keadaan sel diamati di mikroskop untuk melihat distribusi sel. Sel diinkubasi di dalam inkubator selama semalam (agar sel pulih kembali setelah panen). Setelah sel normal kembali, seri konsentrasi sampel dan agen kemoterapi dibuat untuk perlakuan. Plate yang telah berisi sel diambil dari inkubator. Media sel dibuang dengan menggunakan pipet Pasteur secara perlahan-lahan. Dicuci dengan 500 μ l PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel. PBS dibuang dengan pipet Pasteur secara perlahan-lahan. Dimasukkan 500 μ l seri konsentrasi sampel ke dalam sumuran. Kemudian tambahkan 500 μ l seri konsentrasi doksorubisin untuk kombinasi. Ditambahkan 1000 μ l MK ke dalam sumuran sebagai kontrol sel. Diinkubasi di dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Menjelang akhir waktu inkubasi, kondisi sel diamati.

Siapkan 2 eppendorf untuk 1 jenis perlakuan. Ambil media dari sumuran dengan mikropipet 1 ml, transfer ke eppendorf I, jika kurang masukkan ke eppendorf II. Sentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Buang media dengan cara dituang. Isikan masing-masing 500 μ l PBS ke dalam sumuran. Ambil PBS dengan mikropipet dan transfer ke dalam eppendorf I. Sentrifus dengan

kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Buang PBS dengan cara dituang. Ulangi pencucian dengan PBS (tahap 5-8) sekali lagi . Tambahkan 150 µl tripsin-EDTA 0,25%, inkubasi di inkubator selama 3 menit. Tambahkan masing-masing 1 ml MK, resuspensi sampai sel lepas satu per satu, amati di bawah mikroskop. MK untuk menginaktivasi tripsin. Setelah sel terlepas satu-satu, transfer sel ke eppendorf I dan/atau II. Tambahkan kembali 500 µl PBS ke dalam sumuran untuk mengambil sisa sel, kemudian transfer ke dalam eppendorf II. Sentrifus semua eppendorf dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Buang MK/PBS dengan cara dituang, tambahkan dan resuspen pellet sel dengan 500 µl PBS dingin. Gabungkan suspensi sel dalam kedua eppendorf ke dalam eppendorf I. Bilas eppendorf kosong dengan PBS, transfer ke eppendorf I. Sentrifus eppendorf I dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Buang PBS dengan cara dituang. Tambahkan reagen flowsitometri masing-masing 400 µl, resuspen dengan homogen. Bungkus tiap eppendorf dengan alufoil. Beri penandaan pada bagian atas eppendorf. Inkubasi di waterbath 37°C, 10 menit. Untuk mengaktivasi RNAase. Resuspen lagi sebelum ditransfer ke *flowcyto-tube*. Transfer suspensi sel ke dalam *flowcyto-tube* melalui filter (kain nylon/kain kaca) menggunakan mikropipet 1 ml.

4.7 Analisis Data

4.7.1 Analisis Data Hasil Uji Sitotoksik Kombinasi dengan Metode MTT

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup.:

$$\text{Prosentase (\%) sel hidup} = \frac{(\text{abs. perlakuan} - \text{abs. kontrol media})}{(\text{abs. kontrol sel} - \text{abs. kontrol media})} \times 100\%$$

Keterangan: Abs : absorbansi

Prosentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai persamaan yang digunakan untuk menghitung IC50. Sitotoksitas kombinasi ditetapkan dengan menghitung indeks interaksi antara agen kemoterapi dengan kemopreventif, menggunakan persamaan:

$$\text{Combination Index/CI} = (D)1/(Dx)1 + (D)2/(Dx)2$$

Dimana D1 dan D2 adalah konsentrasi sampel yang digunakan dalam perlakuan kombinasi. (Dx)1 dan (Dx)2 adalah konsentrasi tunggal yang dapat menghasilkan efek sebesar yang diberikan perlakuan kombinasi (Reynold dan Maurer, 2005). Angka CI atau Combination Index yang diperoleh diinterpretasikan sebagai berikut: < 0,1 efek sinergis sangat kuat 0,1 – 0,3 efek sinergis kuat 0,3 – 0,7 efek sinergis ringan – sedang 0,7 – 0,9 efek sinergis ringan – sedang 0,9 – 1,1 mendekati efek aditif 1,1 – 1,45 efek antagonis ringan – sedang 1,45 – 3,3 efek antagonis > 3,3 efek antagonis kuat – sangat kuat.

4.6.2 Analisis Data Apoptosis Sel dengan *flowcytometry* (Nur Azizah, 2015)

Analisis data dilakukan dengan program cell quest untuk melihat persentase sel hidup, apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis. Dari hasil percobaan dibandingkan antara sel HeLayang diinduksi dengan kombinasi bawang sabrang dan doksorubisin dengan perlakuan tunggal doksorubisin, perlakuan tunggal bawang sabrang dan kontrol sel. Perbandingan dilakukan dengan menggunakan uji Anova *one way* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc* Tukey's HSD.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang sabrang. Bawang Sabrang diperoleh dari Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur. Bagian dari bawang sabrang yang digunakan adalah bagian umbi. Dilakukan preparasi pada sampel bawang sabrang agar didapat simplisia yang siap untuk diekstraksi. Proses preparasi terdiri dari pencucian, pengeringan dan penyerbukan.

Proses pertama adalah pencucian. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan pengotor berupa tanah, kotoran maupun debu yang menempel pada permukaan umbi. Pencucian dilakukan dengan air mengalir. Setelah umbi bawang sabrang bersih, dilakukan proses pemotongan umbi menjadi bagian yang lebih kecil. Proses pemotongan ini dilakukan dengan tujuan mempercepat proses pengeringan. Pengeringan umbi bawang sabrang dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 40⁰C sampai umbi kering. Pada penelitian ini, umbi bawang kering pada hari ketujuh. Proses pengeringan dilakukan dengan tujuan menghilangkan kadar air pada umbi sehingga proses penyerbukan menjadi lebih mudah. Selanjutnya umbi yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan blender. Tujuan dari proses penyerbukan adalah memperbesar luas permukaan umbi. Serbuk yang diperoleh sebanyak 1,2 kg disebut dengan serbuk simplisia bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). Serbuk tersebut berwarna merah muda. Kemudian serbuk bawang sabrang diayak dengan menggunakan

ayakan 100 mesh. Pengayakan ini dilakukan untuk menyamakan ukuran serbuk sehingga mempermudah proses ekstraksi. Serbuk bawang yang sudah diayak diambil 125 gram untuk dilakukan proses ekstraksi.

5.2 Penentuan Kadar Air Simplisia

Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui kadar air pada simplisia. Kumala, 2007 dalam Khodijah, 2017 menyatakan bahwa kadar air dalam sampel yang tinggi menyebabkan sulitnya penguapan pelarut karena pelarut sudah tercampur dengan air, sehingga titik didihnya berbeda. Prinsip dari penentuan kadar air adalah banyaknya air yang menguap ketika dilakukan pemanasan (Naibaho, 1996 dalam Ginting, 2008). Analisa kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer*. *Moisture analyzer* merupakan satu alat praktis untuk menentukan kadar air yang dilengkapi dengan neraca analitis untuk menentukan berat sampel. Pemanasan dilakukan hingga suhu 110⁰C sehingga kandungan air dapat menguap secara sempurna kemudian diserap oleh besi pemanas yang terdapat dalam tutup alat. Alat ini menghasilkan data berupa % (persen) kadar air (Ginting, 2008).

Tabel 5.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Bawang Sabrang

Ulangan	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
1	7,52	7,378 ± 0,124
2	7,30	
3	7,31	

Kadar air simplisia yang diperoleh dari uji sebesar $7,378 \pm 0,124$. Kadar air simplisia tersebut telah memenuhi persyaratan dari BPOM, yakni kadar air dari simplisia tidak boleh lebih dari atau sama dengan 10% ($\geq 10\%$) (BPOM, 2014). Kadar air di bawah 10% dapat mencegah terjadinya reaksi hidrolisis dan pertumbuhan mikroba pada serbuk simplisia (Puspawati dkk, 2013).

5.3 Ekstraksi Bawang Sabrang

Ekstraksi simplisia bawang sabrang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak bawang sabrang. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhrani, 2014). Ekstraksi bawang sabrang dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Metode ultrasonik merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut dengan bantuan gelombang ultrasonik. Pelarut yang digunakan sesuai dengan kepolaran senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia (*like dissolves like*) (Khopkar, 2008). Gelombang ultrasonik mampu meningkatkan difusi pelarut dalam suatu zat, dimana pengaruh gelombang kavitasi yang dihasilkan tidak hanya disekitar partikel tetapi juga langsung ke titik pusat zat tersebut (Ji dkk, 2006). Keuntungan utama dari ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi konvensional yaitu efisiensi lebih besar dan waktu operasinya lebih singkat. Selain itu ekstraksi konvensional biasanya memberikan laju perpindahan yang rendah (Garcia, 2004 dalam Fuadi, 2012).

Tabel 5.2 Hasil maserasi ekstrak etanol 96 % umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

Pelarut	Serbuk + pelarut yang digunakan	Perubahan Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Etanol 96 %	125,58 g + 2,5 L	Merah	Merah pekat ke hitam	9,9519g	7,9247%

Ekstrak pekat yang diperoleh dihitung rendemennya. Rendemen digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui seberapa besar produk yang dihasilkan (Warsono dkk, 2013). Pada penelitian ini didapat rendemen sebanyak 7,9247%. Jumlah rendemen tersebut lebih banyak dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Yuswi dengan judul Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan Metode Ultrasonik Bath (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). Penelitian ini menggunakan metode ultrasonik dengan lama waktu ekstraksi 30 menit dan perbandingan pelarut 1:7. Rendemen yang didapat adalah $7,69 \pm 0,17\%$. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen ekstrak bawang sabrang dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah ukuran bahan, waktu ekstraksi, jenis pelarut dan perbandingan antara pelarut dengan bahan (Hartuti dan Supardan, 2013).

5.4 Uji Sitotoksik Kombinasi dengan Metode MTT

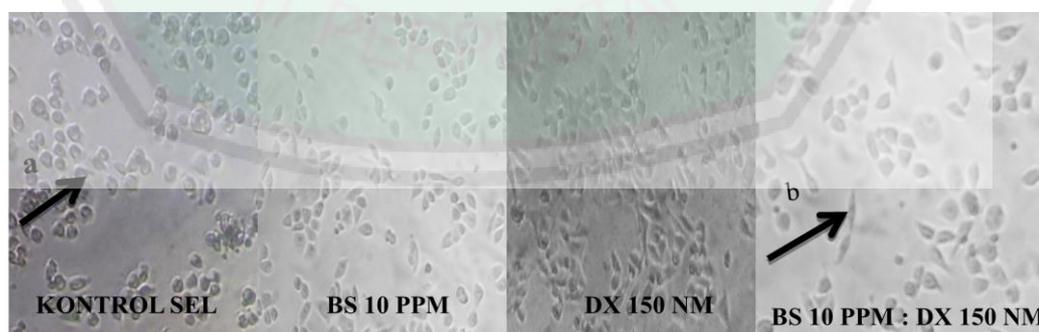
Uji sitotoksik kombinasi dilakukan untuk mengetahui aktivitas antikanker dari kombinasi 2 sampel. Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin. Variasi konsentrasi dari masing-masing sampel yaitu

$1/8$ IC₅₀, $1/4$ IC₅₀, $3/8$ IC₅₀ dan $1/2$ IC₅₀ (Mubarok, 2008). Uji Sitotoksik kombinasi menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium*). Alasan penggunaan metode MTT dalam uji sitotoksik kombinasi ini adalah relatif cepat, sensitif, akurat dan hasilnya bisa digunakan untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle dan Griffiths, 2000 dalam Anggrianti, 2008). Dasar uji enzimatis MTT adalah dengan menganalisa banyaknya sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer Saline*) berwarna biru (Doyle dan Griffiths, 2000 dalam Anggrianti, 2008).

Uji sitotoksik dilakukan pada sel kanker serviks HeLa. Pemakaian sel HeLa dalam penelitian karena sel ini merupakan *continous cell line* yang tumbuh semi melekat sehingga dapat dipakai untuk mewakili sel-sel lain yang sejenis (Khotimah, 2004 dalam Djajanegara & Wahyudi, 2009). Selain itu, sel HeLa cepat tumbuh dan mudah penanganannya (Anggrianti, 2008). Media yang digunakan untuk kultur sel adalah media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) berserum. DMEM merupakan modifikasi dari *Basal Medium Eagle* (BME) yang mengandung empat kali lebih banyak konsentrasi asam amino dan vitamin. Kadar glukosa dalam media tersebut tinggi sehingga dimungkinkan dapat mempercepat pertumbuhan sel tumor. DMEM juga mengandung antibiotik yaitu

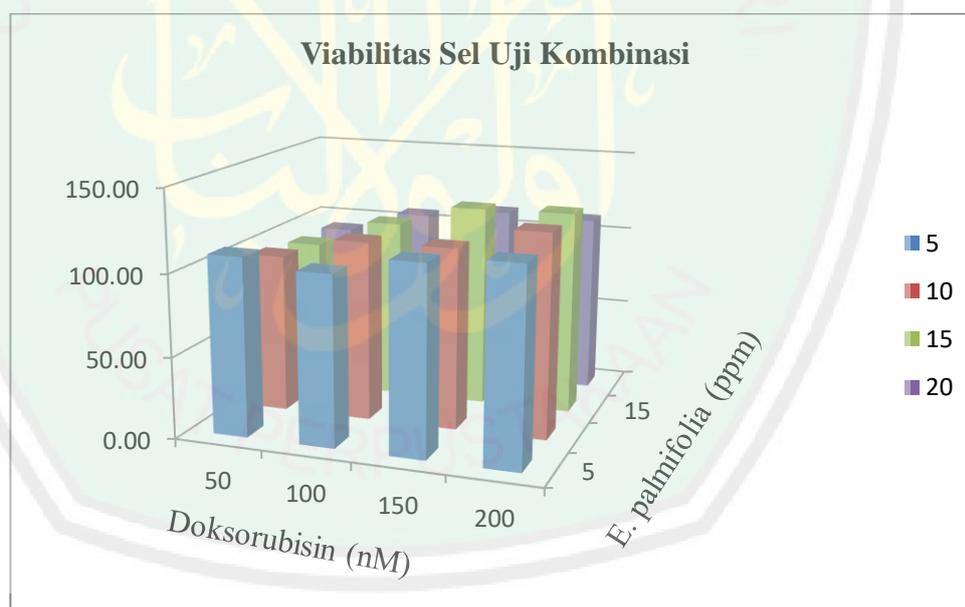
penisilin-streptomisin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Antibiotik tersebut bersifat tidak toksik dan berfungsi untuk mencegah terjadinya kontaminasi (Maruti dkk, 2011). Serum yang ditambahkan adalah FBS (*Fetal Bovine Serum*). FBS mengandung hormon yang dapat memacu pertumbuhan sel, albumin sebagai protein transpor, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan dan mineral sebagai kofaktor enzim (Freshney, 2000).

Uji sitotoksik kombinasi menggunakan 96-wellplate. Sel terlebih dahulu dipanen dan dihitung dengan *hemacytometer*. Sampel pertama yaitu ekstrak bawang sabrang diencerkan sebanyak 1 mg dalam 100 μL DMSO sehingga didapat larutan 100.000 ppm. Kemudian diencerkan dalam konsentrasi 40, 30, 20 dan 10 ppm. Dokсорubisin diencerkan dalam konsentrasi 400, 300, 200 dan 100 nM. Seri konsentrasi tersebut diberikan pada sel dalam bentuk sampel tunggal dan kombinasi. Masing-masing seri konsentrasi diulang sebanyak tiga kali. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mencari dosis terbaik dalam uji sitotoksik. Penampakan sel setelah diberi perlakuan dan diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Penampakan sel HeLa setelah inkubasi 24 jam pada perbesaran 10^4 : Kondisi sel: a adalah sel yang masih hidup dan b adalah sel yang sudah mati.

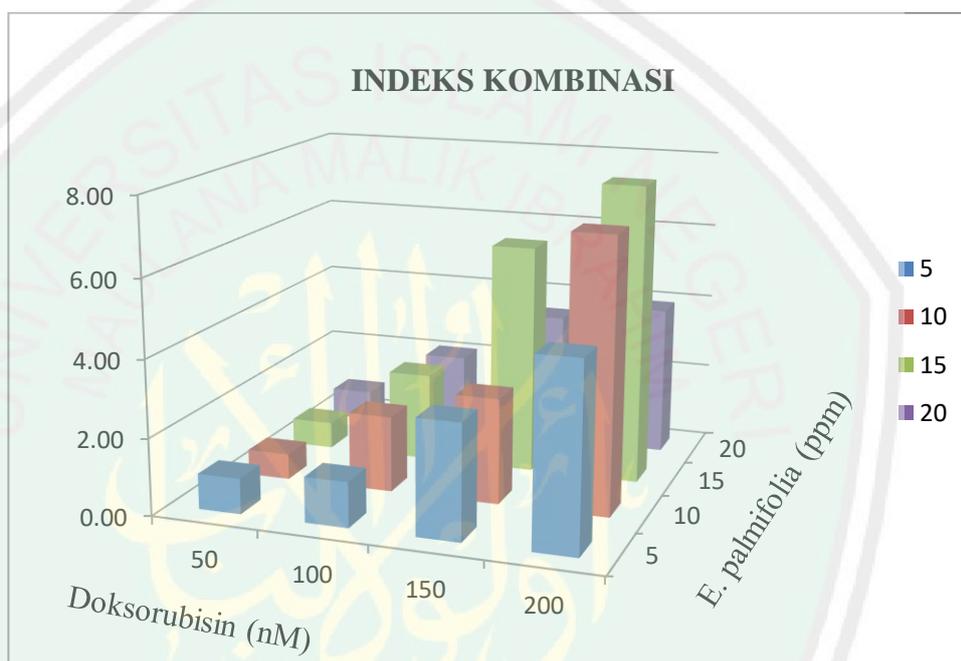
Sel HeLa memiliki morfologi sel hidup berbentuk bulat dengan dinding sel yang bersinar dan menempel pada *tissue culture* bagian bawah. Sel mampu melakukan metabolisme dengan memanfaatkan nutrisi pada media. Sedangkan sel HeLa yang mati berwarna gelap dan tidak menempel pada dasar *plate*. Sel juga tidak melakukan metabolisme karena sel yang mati kehilangan kemampuannya untuk mempertahankan dan memberikan energi bagi fungsi metabolik dan pertumbuhan sel (Pebriana dkk, 2008). Kemudian sel diberi reagen MTT dan diinkubasi selama 24 jam untuk kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan *ELISA reader*. Pembacaan absorbansi dilakukan untuk mengetahui viabilitas sel.



Gambar 5.3 Viabilitas sel pada uji kombinasi

Viabilitas sel adalah jumlah sel yang hidup pada masing-masing kombinasi. Viabilitas sel paling kecil adalah kombinasi bawang sabrang dengan konsentrasi 20 ppm dan doksorubisin dengan konsentrasi 50 nM. Sedangkan yang

paling besar adalah kombinasi bawang sabrang dengan konsentrasi 15 ppm dan doksorubisin dengan konsentrasi 200 nM. Setelah viabilitas sel diketahui, dapat dihitung indeks kombinasi. Indeks kombinasi merupakan metode umum yang digunakan untuk mengevaluasi kombinasi obat (CCRC, 2009). Indeks kombinasi dihitung dan ditampilkan dalam gambar 5.4.



Gambar 5.3 Indeks Kombinasi

Grafik yang disajikan pada gambar 5.3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka indeks kombinasi yang dihasilkan juga semakin besar. Grafik tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak bawang sabrang memberikan kurva yang non-linier. Sebuah kurva dikatakan non-linier jika kurva berbentuk U atau U terbalik. Kurva non-linier menunjukkan adanya *non-monotonic dose response*. Ada beberapa penyebab *non-monotonic dose response*, diantaranya adalah i) sitotoksitas ini berhubungan dengan pengamatan bahwa hormon dapat

bersifat sitotoksik pada dosis tinggi dan belum mengubah titik akhir biologis pada dosis rendah; ii) selektivitas reseptor - afinitas terhadap reseptor berbeda untuk setiap zat, misalnya flavonoid pada dosis rendah mengikat hampir secara eksklusif pada reseptor estrogen (ER), tetapi juga dapat berikatan dengan reseptor hormon lainnya meskipun ligasi ini lemah sehingga diperlukan dosis flavonoid yang lebih tinggi; iii) kompetisi reseptor - EDC bersaing dengan hormon alami ke tempat pengikatan reseptor (Ramos, 2017). Selanjutnya klasifikasi efek dari hasil perhitungan indeks kombinasi dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil perhitungan indeks kombinasi

No	Kombinasi		viabilitas sel	CI	kategori efek
	Bawang sabrang	Doxorubisin			
1	5	50	109,42 ± 6,96	0,92	Aditif
2	5	100	103,89 ± 8,8	1,18	Antagonis ringan-sedang
3	5	150	114,86 ± 0,45	2,98	Antagonis
4	5	200	118,83 ± 4,85	4,79	Antagonis kuat
5	10	50	97,76 ± 13,64	0,67	Sinergis
6	10	100	110,76 ± 2,37	1,98	Antagonis
7	10	150	111,21 ± 8,18	2,75	Antagonis
8	10	200	124,66 ± 2,37	7,07	Antagonis kuat
9	15	50	94,02 ± 18,7	0,70	Sinergis
10	15	100	111,21 ± 5,62	2,32	Antagonis
11	15	150	124,36 ± 2,7	5,99	Antagonis
12	15	200	125,11 ± 7,65	7,78	Antagonis
13	20	50	93,12 ± 9,79	0,80	Sinergis ringan
14	20	100	106,73 ± 2,94	2,09	Antagonis
15	20	150	112,11 ± 1,55	3,49	Antagonis kuat
16	20	200	110,61 ± 4,26	3,93	Antagonis kuat

Hasil perhitungan kombinasi didapat bahwa kombinasi yang bersifat sinergis didapat pada 2 kombinasi yaitu 1) kombinasi bawang sabrang 10 ppm dengan doksorubisin 50 nM; dan 2) kombinasi bawang sabrang 15 ppm dengan

doksorubisin 50 nM. Kombinasi yang bersifat sinergis ringan diperoleh dari kombinasi bawang sabrang 20 ppm dengan doksorubisin 50 nM sedangkan kombinasi yang bersifat aditif diperoleh dari kombinasi bawang sabrang 5 ppm dan doksorubisin 50 nM. Untuk kombinasi yang lain bersifat antagonis. Hal ini dapat terjadi karena perbandingan konsentrasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin yang besar atau resistensi sel terhadap doksorubisin (Ramadhani, 2014).

Mekanisme doksorubisin dalam menginduksi efek sitotoksik adalah dengan interkalasi DNA dan menghambat enzim topoisomerase II (Bruynzel dkk, 2007). Interkalasi DNA dilakukan dengan menghambat DNA atau RNA polimerase sehingga replikasi DNA dan transkripsi RNA terhenti. Penghambatan enzim topoisomerase II juga menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA tersebut memicu apoptosis (Tacar, 2012).

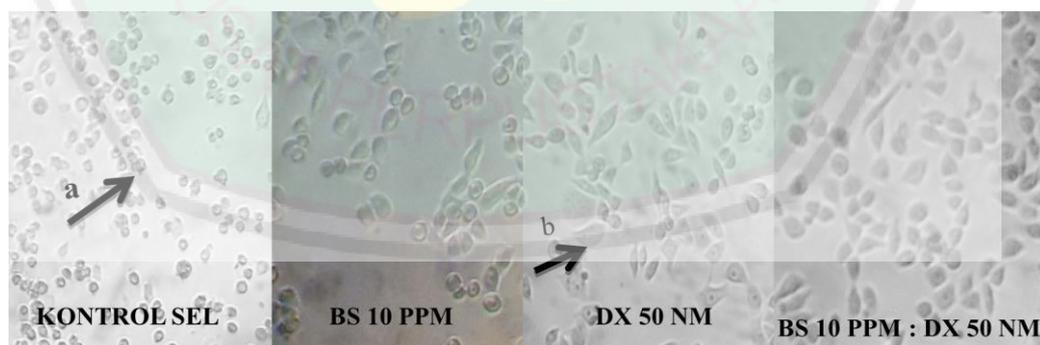
Bawang sabrang mengandung beberapa senyawa, diantaranya flavonoid (Firdaus, 2006). Senyawa flavonoid dapat menghasilkan efek antikanker, yaitu meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi sel. Efek tersebut dapat dihasilkan melalui interaksinya dengan enzim metabolisme fase 1 (sitokrom p450). Interaksi tersebut melindungi sel dari aktivasi karsinogen (Katyal, 2014). Senyawa flavonoid lain yang ketika dikombinasikan dengan doksorubisin bersifat aditif diantaranya flavonoid sintetik K4 (Aliabadi dkk, 2012). Ekstrak bawang sabrang juga memberikan efek antagonis jika dikombinasikan dengan metotreksat pada sel T47D (Putri dkk, 2018).

5.5 Uji Apoptosis

Uji apoptosis dilakukan dengan metode flowsitometri. Prinsip dari metode flowsitometri adalah setiap sel ditembak dengan sinar laser yang dapat mengaktifkan senyawa fluoresensi dalam sel. Setiap sinyal sinar yang disebarkan maupun difluoresensikan akan diubah menjadi impuls listrik sehingga terdeteksi dan tersimpan sebagai data dalam komputer.

Sampel yang digunakan dalam uji ini adalah kombinasi konsentrasi bawang sabrang dan doksorubisin yang memiliki indeks kombinasi (CI) terbaik. Indeks kombinasi terbaik dimiliki oleh kombinasi bawang sabrang dengan konsentrasi 10 ppm dan doksorubisin dengan konsentrasi 50 nM. Media yang digunakan untuk kultur sel adalah media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) berserum.

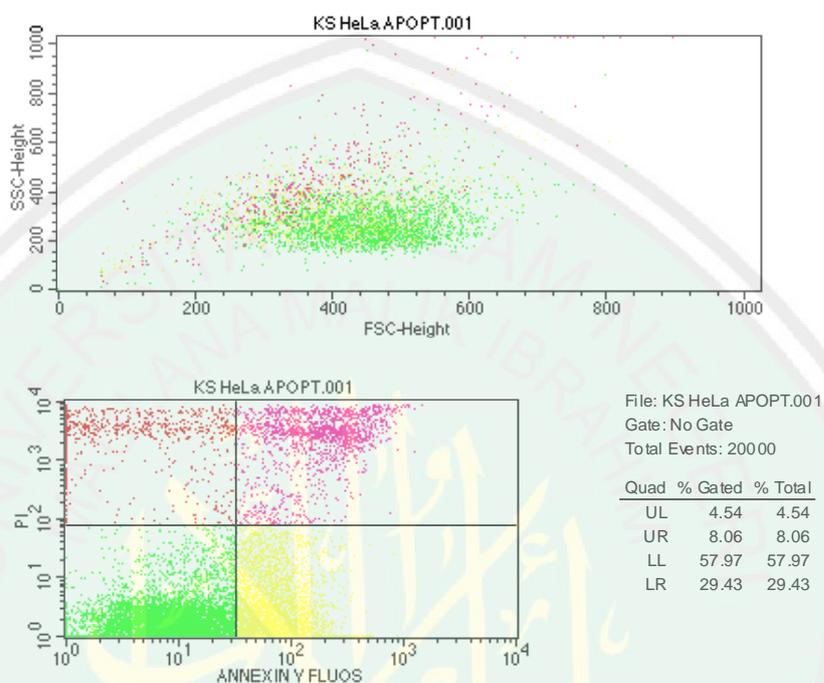
Sel yang digunakan dalam uji apoptosis adalah sel HeLa. Sel tersebut diberi perlakuan dan diinkubasi selama 4 jam. Penampakan sel setelah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada gambar 5.4.



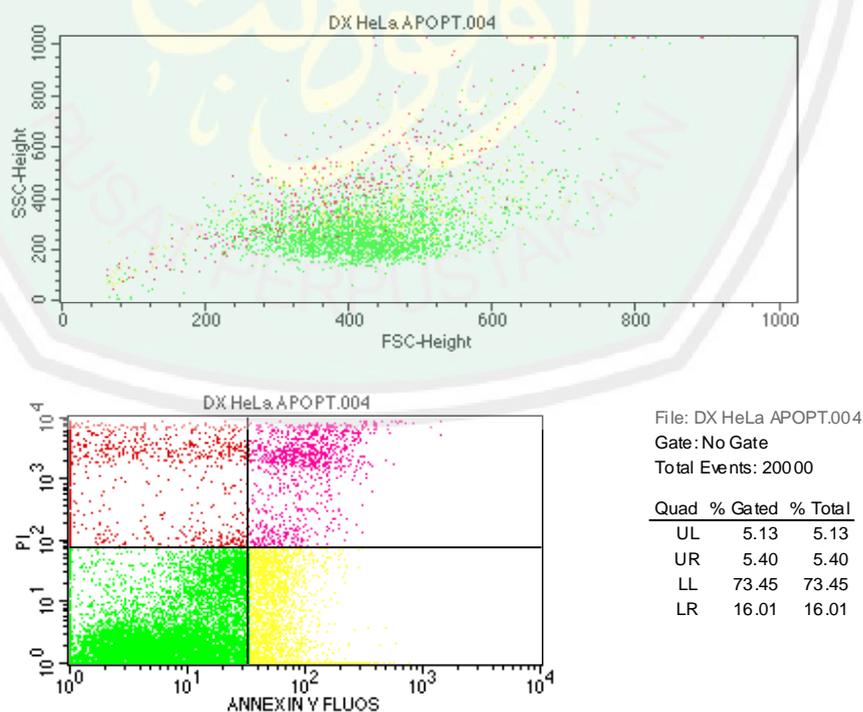
Gambar 5.4 Penampakan sel HeLa setelah treatment: Kondisi sel: a adalah sel yang masih hidup dan b adalah sel yang sudah mati..

Sel HeLa tersebut kemudian dipindahkan ke dalam konikel-konikel untuk diuji apoptosis menggunakan alat flowsitometer. Hasil dari uji apoptosis adalah sebagai berikut:

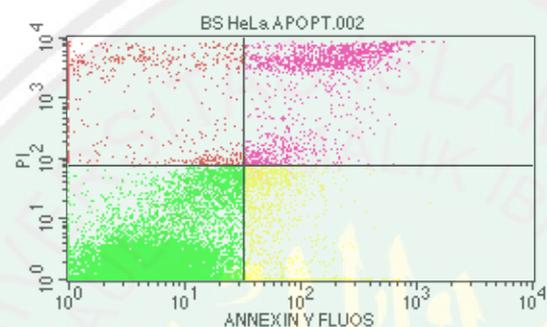
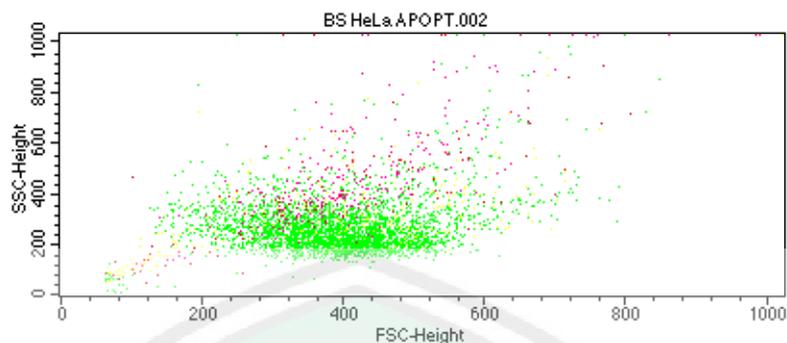
A



B



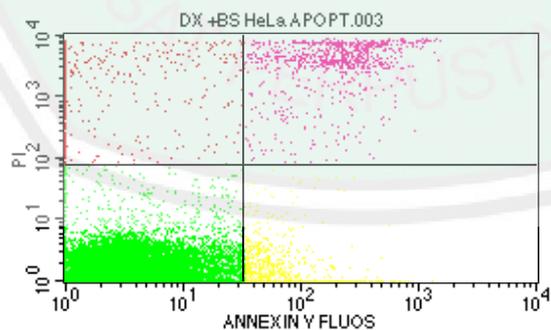
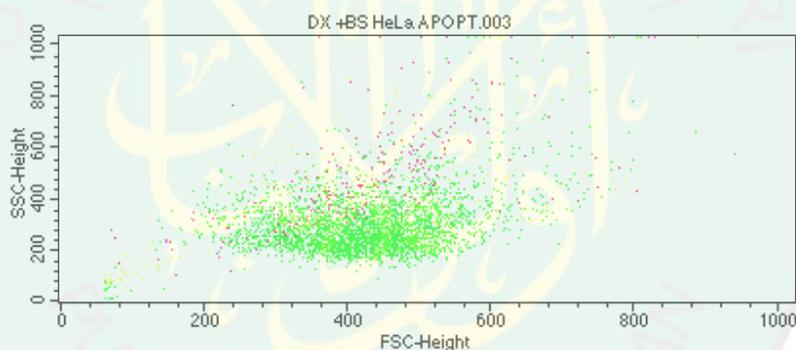
C



File: BS HeLa APOPT.002
Gate: No Gate
Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	3.68	3.68
UR	7.19	7.19
LL	81.58	81.58
LR	7.56	7.56

D

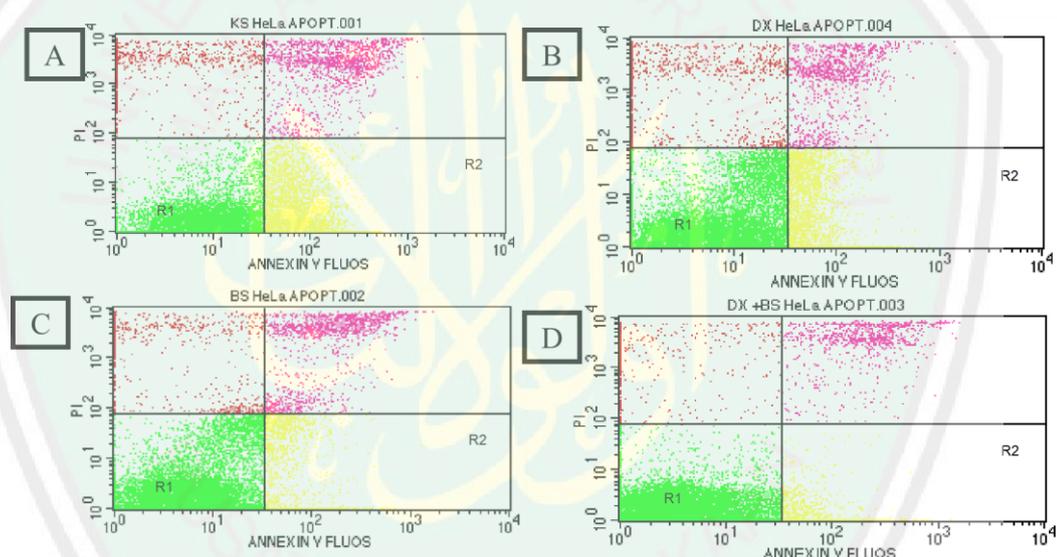


File: DX +BS HeLa APOPT.01
Gate: No Gate
Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	2.57	2.57
UR	4.45	4.45
LL	85.94	85.94
LR	7.04	7.04

Gambar 5.5 Hasil persebaran sel: a) kontrol sel; b) setelah diinduksi doksorubisin tunggal konsentrasi 5 nM; c) setelah diinduksi bawang sabrang tunggal konsentrasi 10 ppm; d) setelah diinduksi kombinasi bawang sabrang konsentrasi 10 ppm dan doksorubisin konsentrasi 5 nM

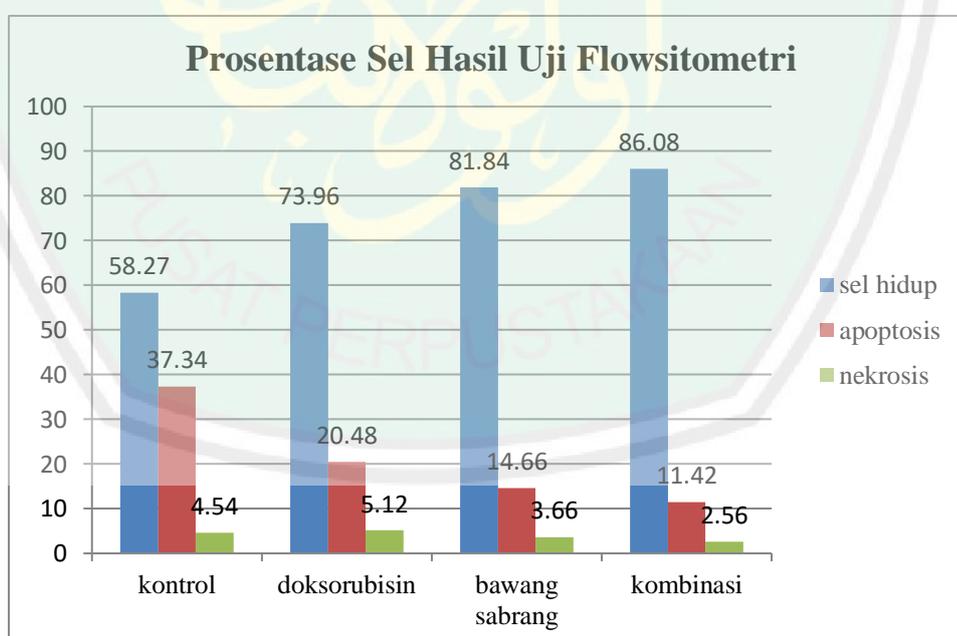
Hasil persebaran sel menunjukkan kondisi sel yang mengalami perlakuan. Hasil persebaran sel terbagi menjadi 4 kuadran, yaitu LL (*Lower Left*), LR (*Lower Right*), UL (*Upper Left*), dan UR (*Upper Right*). Kuadran LL menunjukkan persen sel yang hidup, kuadran LR menunjukkan persen sel yang mengalami *early apoptosis*, kuadran UL menunjukkan persen sel yang mengalami nekrosis, kuadran UR menunjukkan persen sel yang mengalami *late apoptosis* (Rollando, 2017). Hasil persebaran sel tersebut kemudian dipisahkan dengan metode *cell quest*.



Gambar 5.6 Hasil pemisahan warna oleh metode *cell quest* pada hasil uji flowsitometri: a) kontrol sel; b) setelah diinduksi doksorubisin tunggal konsentrasi 5 nM; c) setelah diinduksi bawang sabrang tunggal konsentrasi 10 ppm; d) setelah diinduksi kombinasi bawang sabrang konsentrasi 10 ppm dan doksorubisin konsentrasi 5 nM

Hasil pemisahan warna oleh metode *cell quest* diperoleh 4 macam warna yaitu merah, merah muda, kuning dan hijau. Masing-masing warna

mempresentasikan keadaan sel. Merah menunjukkan sel yang nekrosis, merah muda menunjukkan sel yang apoptosis akhir, kuning menunjukkan sel yang apoptosis awal dan hijau menunjukkan sel yang masih hidup. Warna tersebut dibentuk oleh sel yang memancarkan epi-fluoresensi lalu ditangkap oleh sinar UV. Epi-fluoresensi tersebut dihasilkan oleh sel yang berikatan dengan Annexin V atau PI. Sel yang hidup akan berfluoresensi hijau pada panjang gelombang 488 nm sampai 525 nm dengan absorbansi maksimal pada gelombang 490 nm. Pada apoptosis awal, sel akan berfluoresensi kuning dengan intensitas lemah pada panjang gelombang 536 nm sampai 617 nm. Sedangkan sel yang mengalami nekrosis akan berfluoresensi merah pada panjang gelombang 650 nm sampai 700 nm. Pada panjang gelombang yang sama, sel yang mengalami apoptosis akhir, berfluoresensi merah muda (Susianti, 2016).



Gambar 5.7 Grafik persebaran sel hasil uji flowsitometri

Tabel 5.4 Hasil Uji ANOVA *one way*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35610.518	11	3237.320	3.237E7	.000
Within Groups	.002	24	.000		
Total	35610.520	35			

Data hasil analisa apoptosis diuji menggunakan SPSS 16 for windows. Data dianalisa menggunakan uji ANOVA *one way*. Hasil nilai signifikansi uji ANOVA *one way* adalah 0,00 yang menandakan bahwa terdapat beda nyata pada masing-masing sampel. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa prosentase sel hidup dari sel yang diinduksi kombinasi lebih besar dibandingkan sel yang diinduksi perlakuan tunggal. Sedangkan prosentase sel yang mengalami apoptosis dan nekrosis pada kombinasi lebih sedikit dibanding perlakuan tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin tidak dapat meningkatkan apoptosis sel kanker serviks HeLa. Peristiwa tersebut diperkirakan dapat terjadi karena adanya Fe dalam hemoprotein sel (Kadri, 2012). Doksorubisin akan bereaksi dengan Fe membentuk kompleks kompleks doksorubisin-Fe. Struktur kuinon dalam doksorubisin dapat teroksidasi menjadi radikal semikuinon. Radikal semikuinon akan bereaksi dengan oksigen untuk membentuk superoksida dan hidrogen peroksida. Superoksida dan hidrogen peroksida dapat berubah menjadi radikal hidroksil yang sangat reaktif dengan adanya kompleks doksorubisin-Fe (Yang, 2014). Senyawa radikal hidroksil yang sangat reaktif tersebut akan berikatan dengan flavonoid yang merupakan

antioksidan alami (Ren dkk, 2003). Ikatan ini menyebabkan tidak terjadinya mekanisme apoptosis.

Indikator dalam uji ini adalah fosfatidilserin yang dimiliki oleh sel. Pada sel hidup normal, fosfatidilserin (PS) terletak pada permukaan sitoplasmik pada sel membran sehingga reagen Annexin V tidak dapat berikatan dengan PS. Selama induksi apoptosis, terjadi perubahan pada membran plasma termasuk perubahan fosfolipid, permeabilitas dan lipid membran (Wikanta, 2012). Hal ini menyebabkan PS berpindah posisi dari membran internal menuju membran eksternal dan berikatan dengan Annexin V. Annexin V merupakan protein yang berafinitas tinggi terhadap fosfolipid yang bermuatan negatif dengan adanya ion Ca^{2+} . Apoptosis akhir ditandai dengan fragmentasi DNA dan reagen Annexin V serta PI dapat mengidentifikasi peristiwa tersebut (Azizah, 2015).

5.6 Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Bawang Sabrang dan Doksorubisin terhadap Apoptosis Sel Kanker Serviks HeLa dalam Perspektif Islam

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin dapat mempengaruhi apoptosis sel kanker serviks HeLa. Doksorubisin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang memiliki spektrum aktivitas paling luas. Tetapi efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan doksorubisin juga cukup besar, kardiomiopati merupakan efek samping yang paling fatal (Ekowati dkk, 2013). Salah satu pemecahan dari beberapa masalah tersebut adalah dengan menggunakan agen kemoprevensi yang

bersifat non-toksik atau lebih tidak toksik dari agen kemoterapi yang digunakan. Salah satu sumber agen kemoprevensi adalah tumbuhan.

Allah menciptakan tumbuhan dengan berbagai manfaat yang terkandung. Hal ini telah disebutkan dalam Al-qur'an surah Luqman (31) ayat 10 sebagai berikut:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسِيًّا أَن تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا
مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik (QS. Luqman (31): 10).*

Lafadz *كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* menurut tafsir Jalalain berarti segala jenis tumbuh-tumbuhan baik. Segala jenis tumbuh-tumbuhan yang baik dari jenis tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan dengan tumbuhan yang bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah sebagai agen kemoprevensi. Salah satu agen kemoprevensi yang ditemukan adalah bawang sabrang. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bawang sabrang dapat digunakan sebagai antikanker (Muti'ah, 2017; Suwarso, 2014). Dalam penelitian ini digunakan kombinasi dengan beberapa konsentrasi yang berbeda dengan tujuan didapat indeks kombinasi yang paling kecil. Namun perbedaan konsentrasi tersebut memberikan beda yang nyata terhadap prosentase sel HeLa yang masih hidup. Hal ini menunjukkan bahwa Allah telah mengatur semua yang Dia ciptakan dengan kadarnya masing-masing sesuai dalam firman Allah surah Al-Hijr ayat 21 sebagai berikut:

وَأِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ

Artinya: *Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya, dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran tertentu (QS. Al-Hijr (15): 21).*

Makna ayat *مَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ* menurut Al-Kalbi dalam tafsir Al-

Qurtubi adalah Allah tidak menurunkan sesuatu selain kehendakNya dan kebutuhan makhlukNya. Allah menurunkannya dengan kadar yang sesuai, tidak lebih maupun kurang. Kadar atau konsentrasi yang sesuai itulah yang harus dikaji dan dipelajari untuk memperoleh manfaat yang maksimal. Dalam penelitian ini digunakan variasi konsentrasi kombinasi sebanyak 16 variasi.

Hasil uji kombinasi ditunjukkan dalam indeks kombinasi. Indeks kombinasi menunjukkan apakah kombinasi tersebut bersifat sinergis, aditif atau antagonis. Indeks kombinasi yang diharapkan adalah sinergis. Sinergis berarti 2 bahan tersebut tidak saling melemahkan efek. Efek sinergis dapat dicapai jika tidak ada komponen dalam obat yang bersifat antagonis dan diperoleh konsentrasi yang tepat. Konsentrasi yang tepat merupakan salah satu kunci karena Allah telah menetapkan ukuran untuk semua ciptaan-Nya. Hal ini disebutkan dalam firman Allah surat Al-Furqon (25) ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ

كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: *“Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”.*

Menurut Tafsir Departemen Agama RI, Allah menyatakan bahwa Dialah Pencipta segala sesuatu sesuai dengan hikmah kebijaksanaan-Nya dan mengaturnya menurut kehendak dan Ilmu-Nya. Allah menetapkan ukuran bagi semua makhluk-Nya. Dalam tafsir Jalalain disebutkan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu dan menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya secara tepat dan sempurna. Ukuran tersebut juga berlaku dalam penetapan kategori efek dari kombinasi bawang sabrang dan doksorubisin. Variasi konsentrasi dengan indeks kombinasi terbaik diperoleh pada konsentrasi 50 nM doksorubisin dan 10 ppm ekstrak bawang sabrang. Indeks kombinasi terbaik yaitu 0,67 yang termasuk efek sinergis.

Kemudian dilanjutkan dengan uji menggunakan metode flowsitometri untuk mengetahui pengaruh kombinasi terhadap apoptosis sel kanker serviks HeLa. Hasil dari uji tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin memberikan pengaruh yang nyata terhadap apoptosis sel kanker serviks HeLa. Tetapi hasil dari uji tersebut menunjukkan bahwa prosentase sel hidup dari konsentrasi kombinasi lebih banyak daripada konsentrasi tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin tidak dapat meningkatkan apoptosis sel kanker serviks HeLa. Efek tersebut diduga diakibatkan oleh adanya senyawa lain dalam ekstrak bawang sabrang yang bersifat antagonis dengan doksorubisin.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin dalam menghambat sel kanker serviks HeLa memberikan efek sinergis, sinergis ringan, aditif, antagonis ringan, antagonis dan antagonis kuat. Efek sinergis didapat pada kombinasi bawang sabrang 10ppm: doksorubisin 50 nM dan kombinasi bawang sabrang 15 ppm: doksorubisin 50 nM.
2. Prosentase sel yang mengalami apoptosis pada sel yang diinduksi ekstrak bawang sabrang yang dikombinasikan dengan doksorubisin sebesar 11,42%, sedangkan pada sel yang diinduksi doksorubisin tunggal sebesar 20,48% dan pada sel yang diinduksi ekstrak bawang sabrang sebesar 14,66%. Hal ini menunjukkan kombinasi ekstrak bawang sabrang dan doksorubisin tidak dapat meningkatkan apoptosis sel kanker serviks HeLa.

6.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, peneliti menyarankan untuk mengkombinasikan bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dengan agen kemoterapi lain. Alternatif lain yang bisa ditempuh yaitu mengkombinasikan doksorubisin dengan agen kempreventif lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [American Cancer Society] American Cancer Society. 2012. Testing for Cervical Cancer. *A Cancer Journal for Clinician* Volume (62) 3: 147-172.
- [AJCC] American Joint Commite on Cancer. 2010. *Cancer Staging Manual* 7th Edition. New York: Springer.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2009. *Apoptosis*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2009. *Doksorubisin*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2009. *Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2014. *Preparasi Sampel dengan Metode Flowsitometri*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- [Depag] Departemen Agama RI. 2010. *Al-Qur'an dan Tafsirnya (Edisi yang Disempurnakan)*. Jakarta: Penerbit Lentera Abadi.
- [Depkes] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [FK Unpad] Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. 2012. *Obstetri Patologi: Ilmu Kesehatan Reproduksi* Edisi 3. Jakarta: Penerbit EGC.
- [KPKN] Komite Penanggulangan Kanker Nasional. 2015. *Panduan Pelayanan Klinis Kanker Serviks*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [LIPI] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 1978. *Tumbuhan Obat*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- [UNSCEAR] United Nation Scientific Committe on the Effect of Atomic Radiation. 1993. Source and Effect of Ionizing Radiation. *Report to the General Assembly*. New York: United Nations.
- [WHO] *World Health Organization*. 2014. *World Cancer Report 2014*. Geneva: WHO Press.

Abuddinata. 2002. *Tafsir Ayat-Ayat Pendidikan*. Jakarta: Raja Grafindo.

Aliabadi, Hajjat S., Mosavi, Hossein., Mirian, Mina., Kakhki, Saeed dan Zarghi, Afshin. 2012. The Citotoxic and Synergistic Effects of Flavonoid Derivatives on Doxorubicin Citotoxicity in HeLa, MDA-MB-23, and HT-29 Cancer Cells. *Iranian Journal of Toxicology* Volume 5 (15): 558-564.

Alves, Tania MD. Zani, Charlos L dan Kloos, Helmut. 2003. Eleutherinone: a Novel Fungitoxic Napthaquinone from *Eleutherine bulbosa* (Iridaceae). *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* Volume 98 (5): 709-712.

Amanda, F. Rezeki. 2014. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dalam Menghambat Petumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.

Anggrianti, Padi. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70 % Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) terhadap Sel HeLa. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Badri, Cholid. 2006. Penanggulangan Kanker di Indonesia: Peran Nanotechnology dalam Diagnosis dan Terapi. *Jurnal Sains Materi Indonesia* Edisi Khusus Oktober: 11-14.

Balachandran S., Kentish S.E., Mawson R., Ashokkumar M. 2006. Ultrasonic Enhancement of the Supercritical Extraction from Ginger. *Ultrasonics Sonochemistry* Vol. 13: 471-479.

Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Becker, C.A., dan R. C. Bachuizen van den brink. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. Volume III Angiospermae Famili 191-238, Adenda et Corrigen Da General Index To Volumes I-III, Wolter-Noordhofft N.V, Groningen Netherlands.

Blumenthal, Paul D., dan McIntosh, Noel. 2005. *Cervical Cancer Prevention: Guidelines for Low-Resource Settings*. Maryland: Jhpiego.

Bosch, FX., Lorincz, A., Munoz, N., Meijer, CJ., dan Shah KV. 2002. The Causal Relation Between Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Journal of Clinical Pathology* Volume 55 (4): 244-265

Bruton, L., Lazo, J. S., dan Parker, K. L., 2005, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange.

- Bruynzeel, AME., El Hassan, MA Abou., Torun, E., Bast, A., van der Vigh, WJF., dan Krut, FAE. 2007. Caspase-dependent and -independent suppression of Apoptosis by MonoHER in Doxorubicin Treated Cells. *British Journal of Cancer* Volume 96: 450-456.
- Burdall, E.S., Hanby M.A., Landsdown, R.J.M., dan Speirs, V. 2003. Breast Cancer Cell Line: Friends or Foe? *Breast Cancer Res.* Volume 5: 89-95.
- Chandra, A. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun *Stevia rebaudiana* dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* Volume 1 (1): 114-119.
- Conze, Dietrich., Weiss, Linda., Regen, Patricia S., Bhushan, Alok., Weaver, Donald., Johnson, Peter., dan Rincon, Mercedes.2001. Autocrine Production of Interleukin 6 Causes Multidrug Resistance in Breast Cancer Cells. *Cancer Research* Volume 61 (24): 8851-8858.
- Cox, R. 1994. Mechanism of Radiation Oncogenesis. *International Journal of Radiation Biology* Volume 65: 57-64.
- Crowder S, Lee C, dan Santoso JT. Cervical Cancer. Dalam: Santoso JT, Coleman RL (eds). 2001. *Handbook of Gynaecology Oncology*. 1st Ed. New York: Mc Graw Hill.
- Crum C.P, Luska L.R, Nucci M.R, 2011. 'Adenocarcinoma, Carcinosarcoma, and Other Epithelial Tumors of the Endometrium', In: Crum C.P, Nucci M.R, LEE K.R (ed.) *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology*. Second ed. Philadelphia: Elsevier.
- Damanik, Efrisca. 2016. Hubungan Positif Tingkat Ekspresi HER2/neu dengan Derajat Diferensiasi Squamous Cell Carcinoma Serviks Uteri. *Skripsi*. Badung: Universitas Udayana
- Diananda, R. 2009. *Panduan Lengkap Mengenai Kanker*. Yogyakarta: Mirza Media Pustaka
- Djajanegara, Ira dan Wahyudi, Priyo. 2009. Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Etanol Biji Mimba (*Azadirachta indica*). *Biosfera* Volume 26 (2): 59-64
- Devi, P. Uma. 2005. Basic of Carcinogenesis. *Health Administrator* Volume 17 (1): 16-24
- Dolatowski, Z.J., J. Stadnik, dan D. Stasiak. 2007. Applications of Ultrasound in Food Technology. *Acta Science Polymer Technology* Vol 6(3): 89-99.
- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Willey and Sons Ltd.

- Ekowati, H., Sarmoko, dan Widiastuti, R. 2013. Combination of Three Species of Zingiberaceae Prevents Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity. *Universa Medicina* Volume 32(1): 11-19.
- Ellenson L.H, dan Pirog E.C, 2015. The Female Genital Tract. In: Kumar, Abbas, Aster (ed.) *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 9th Edition ed. Philadelphia,: Elsevier.
- Fauci, Anthony. Braunwald, Eugene. Kasper, Dennis. Hauser, Stephen dan J, Longo. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 17th Edition. New York: McGraw Hill.
- Firdaus, R. 2006. Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Metanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.). *Skripsi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Freshney, R.I. 1992. *Culture of Epithelial Cells*. New York: Wiley-Liss.
- Fuadi, Anwar. 2012. Ultrasonik sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe. *Jurnal Teknologi* Vol 122 (1): 14-21
- Galingging, R. Y. 2007. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan* Volume 15 (3): 2-4.
- Garcia, J.L.L., dan Castro M.D.L., 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to the Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal of Chromatography* Ed. 1034: 237-242.
- Gilman, A.G. 2010. *Dasar Farmakologi dan Terapi* Edisi 10 Volume 3. Alih bahasa: Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ginting, Putri Maharani. 2008. Penentuan Kadar Air Inti Sawit pada Kernel Silo Menggunakan Alat *Moisture Analyzer* di PTPN III PKS Rambutan Tebing Tinggi. *Karya Ilmiah*. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Godwin, CJ., Holt, SJ., Downes, S., dan Marshal, NJ. 1995. Microculture Tetrazolium Assay: a Comparison Between Two New Tetrazolium Slts, XTT and MTS. *Journal of Immunology Methods* Volume 179 (1): 95-103.
- Gomez, Daniel Tena dan Santos, Juana Lopez. 2007. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Pathogenesis and Epidemiology. *Communicating Current Research and Educational Topic and Trends in Applied Microbiology* A Mendez Vilaz Ed: 680-688.

- Gostout, BS., Podratz, KC., McGovern, RM., and Persing, DH. 1998. Cervical Cancer in Older Women: A Molecular Analysis of Human Papillomavirus Types, HLA Types, and p53 Mutations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* Volume 179 (1):56–61.
- Hacker, NF. 2000. *Cervical Cancer Practical Gynaecologic Oncology* 5th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Handayani, Hana., Sriherfyna, Feronika H., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Volume 4 (1): 262-272
- Harahap, R. 1984. *Kanker Ginekologik*. Jakarta: Gramedia.
- Hartuti, Sri dan Supardan, Muhammad D. 2013. Optimasi Ekstraksi Gelombang Ultrasonik untuk Produksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Agritech* Volume 33 (4): 415-423
- Hodge WH dan Taylor D. 1996. The Ethnobotany of the Island of Caribs of Dominica. *Webbia* Volume 12: 513-644
- Imai, Y., Ishikawa, E., Asada, S., dan Sugimoto, Y. 2005. Estrogen-Mediated Post Transcriptional Down-Regulation of Breast Cancer Resistance Protein/ABCG2. *Cancer Research* Volume 65 (2): 596-604.
- Indradmojo, Christyaji. 2015. Aktivitas Antikanker dan Mekanisme Farmakologi Ekstrak dan Fraksi Benalu Nangka (*Macrosolen cochinchinensis*) pada Sel Kanker Payudara. *Laporan Penelitian Kompetitif Dosen*
- Insanu, Muhammad. Kusmardiyani, Siti., dan Hartanti, Rika. 2014. Recent Studies on Phytochemicals and Pharmacological Effects of *Eleutherine americana* Merr. *Procedia Chemistry* Volume 13: 221-228.
- Istighfari J, Riris dan Meiyanto, Edy. 2007. Ko-Kemoterapi Ekstrak Etanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dan Doxorubicin pada Sel Kanker Payudara. *Majalah Farmasi Indonesia* Volume 18 (2): 81-87.
- Ji. J., Lu X., Cai M., dan Xu Z., 2006. Improvement of Leaching Process of Geniposide with Ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* Vol. 11: 43-48.
- Kadri, Husni. 2012. Hemoprotein dalam Tubuh Manusia. *Jurnal Kesehatan Andalas* Volume 1 (1): 22-30.
- Kartawiguna, Elna. 2001. Faktor-faktor yang Berperan dalam Karsinogenesis. *Jurnal Kedokteran Trisakti* Volume 20 (1): 16-26.

- Katyal, Priya., Bhardwaj, Neha dan Khajuria, Robinka. 2014. Flavonoids and Their Potential as Anticancer Agents: Biosynthesis, Metabolism and Regulation. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Volume 3 (6): 2188-2216.
- Katzung, Bertram G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik* Edisi 10. Alih bahasa: dr. Aryandhito dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Khodijah, Siti. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Payudara dan Identifikasi Senyawa Aktif Akar dan Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* (L.)). *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Khotimah, K. 2004. Uji Sitotoksitas dan Antiproliferasi Fraksi Petroleum Eter dan Fraksi Etanol Kulit Batang Kamboja (*Plumeria acuminata*) terhadap Sel HeLa. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Klatt, E. 2009. *The Internet Pathology Laboratory for Medical Education*. Macon: Mercer University School of Medicine. Diakses pada 23 November 2009. <http://library.med.utah.edu/WebPath/jpeg4/FEM003.jpg>
- Koolman, Jan., dan Rohm, K. Heinrich. 1994. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia* diterjemahkan oleh Septelia Inawati Wanadi. Jakarta: Hipokrates.
- Kumala, I. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscoreae hispida*), Rerak (*Sapindus rerak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan Institut Teknologi Bogor.
- J, Lin. T, Puckree dan TP, Mvelase. 2002. Anti-diarrhoeal Evaluation of Some Medicinal Plants used by Zulu Traditional Healers. *Journal of Ethnopharmacology* Vol 79: 53-56
- Junaidi, S. 2005. Isolasi dan Uji Sitotoksitas Senyawa Alkaloid dari Spon Koleksi No MD-02c yang Diambil dari Taman Laut Bunaken terhadap sel HeLa dan sel Vero. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Li, S., et al. 2010. Effects of Ultrasonic-assistant Extraction Parameters on Total Flavones Yield of *Selaginella doederleinii* and its Antioxidant Activity. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol 4(17): 1743–1750.
- Lumongga, Fitriani. 2008. *Apoptosis*. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Maharani, Sabrina. 2009. *Kanker: Mengenal 13 Jenis Kanker*. Yogyakarta: Penerbit Kata Hati.

- Maria van Iersel, M. 2008. Sensible Sonochemistry. *Dissertation*. Eindhoven: Eindhoven University of Technology.
- Maruti, Astrid Ayu., Amalia, Fikri dan Meiyanto, Edi. 2015. Synergistic Effect of Arecoline in Combination with Doxorubicin on HeLa Cervical Cancer Cells. *Indonesia Journal of Cancer Chemoprevention* Volume 6 (2): 64-70.
- Maulidiah. 2015. Pertumbuhan Tunas dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) dengan Penambahan IAA dan Kinetin pada Media MS (*Murashige and Skoog*). *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Moitra, Karobi. 2015. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer Stem Cells. *BioMed Research International* Volume 2015: 1-8.
- Mosmann, T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxic and Antimicrobial Assay, *Journal Of Immunologi Methods* Volume 65 (1-2): 55-63.
- Mubarok, M. F., Arum, D., Wulandari, A., Jenie, R.I., Septiyani, E.P., dan Meiyanto. E. 2008. Peningkatan Aktivitas Sitotoksik Doksorubisin terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Menggunakan Ekstrak Etanolik Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm. F). *Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI*: 1-8.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* Volume 7 (2): 361-367.
- Mutiah, Roihatul., Listiyana, Anik dan Suryadinata, Arief. 2017. Aktivitas dan Mekanisme Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (*Macrosolen cochinchensis*) dan Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*(L.) Merr.) pada Sel Kanker Serviks HeLa. *Traditional Medicine Journal* Volume 22 (3): 146-152.
- Naibaho, P. M. 1996. *Teknologi Pengolahan Kelapa Sawit* Edisi Keempat. Medan: Pusat Pengolahan Kelapa Sawit.
- Natanegara, S. Ageng. 2010. Sensitivitas dan Spesifisitas pemeriksaan Pap Smear dalam Mengenal Lesi Prakanker Serviks di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek Tahun 2009. *Skripsi*. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Noor, R., Astuti, I., dan Mustofa. 2014. Citotoxicity of a-terpineol in Hela Cell Line and its Effect to Apoptosis and Cell Cycle. *Journal of Medical Science* Volume 46 (1): 1-9.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Novak *et al.* 2008. Ultrasound Extracted Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Analytica Chimica Acta* Volume 630: 107–115.
- Nucci, MR., dan Crum, CP. 2007. Redefining Early Cervical Neoplasia: Recent Progress. *Advance Anatomy and Pathology* Volume 14:1–10.
- Nur Azizah, Marhamah. 2015. Penentuan Potensi Induksi Apoptosis Tilirosida dari Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* Lamk.) terhadap Sel T47D dengan Metode *Flowcytometry*. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Özcan, E. 2006. Ultrasound Assisted Extraction of Phenolics from Grape Pomace. *Thesis*. Middle East: School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University.
- Pebriana, R.B., Wardhani, B.W.K., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, S. dan Meiyanto E. 2008, Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacu Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmakon* Volume 9 (1): 21–26.
- Peres *et al.* 2006. Comparison of Soxhlet, Ultrasound-assisted and Pressurized Liquid Extraction of Terpenes, Fatty Acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Journal of Chromatography* Volume 1105: 115–118.
- Perry, R.H. 1984. *Perry's Chemical Engineers' Handbook* 6 ed. New York: Mc.Graw Hill Book Company, Inc.
- Puspawati, Ririn. Adirestu, Putranti dan Menawanti, Rizka. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume 1 (1) : 31-37
- Putri, N.A., dan Haryoto. 2018. Uji Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) dan Biji Sirsak (*Annona muricata*) dengan Metotreksat terhadap Sel T47D. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Qu, Chenling., Yu, Songcheng., Luo, Li., Zhao, Yan dan Huang, Yawei. 2013. Optimization of Ultrasonic Extraction of Polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. By Response Surface Methodology. *Chemistry Central Journal* Volume 7:1-7
- Ramadhani, Aulanisa. 2014. Potensi Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) dengan Dokso-rubisin terhadap Sel Kanker Hela, Sel Kanker Widr, dan Sel Kanker T47D secara

- In Vitro. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Ramos, C.I Martires. 2017. Evaluation of Bisphenol a Genotoxicity and Interference on Doxorubicin Effects in Hep-2 and MRC-5 Cell Lines. *Disertation*. Lisboa: Universidade De Lisboa.
- Ranasasmita, Raafqi. 2008. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun *Aglaia Elliptica Blume* pada Tikus Betina yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(α)Antrasena. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Rasjidi, Imam. 2009. Epidemiologi Kanker Serviks. *Indonesian Journal of Cancer* Volume 3 (2): 103-108.
- Rayburn, William dan Carey, J. Christopher. 2001. Obstetri dan Ginekologi. Alih bahasa: Prof. Dr. H. TMA Chalik, DGO, Sp. OG. Jakarta: Widya Medika.
- Ren, Wenyong., Qiao, Zhenhua., Wang, Hongwei., Zu, Lei dan Zhang, Li. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews* Volume 23 (4): 519-534.
- Reynold, CP dan Maurer BJ. 2005. Evaluating Response to Antineoplastic Drug Combination in Tissue Culture Models. *Methods in Molecular Medicine* Volume 110: 173-183.
- Rollando, Rollando dan Prillianti, Kestriilia R. 2017. Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.) Menginduksi Apoptosis dan Siklus Sel pada Sel Kanker Payudara T47D. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community* Volume 14 (1): 1-14.
- Rosdiana, Anisa., dan Hadisaputri, Y. Elsa. 2016. Studi Pustaka tentang Prosedur Kultur Sel. *Farmaka* Vol 14 (1): 1-22.
- Rosita, Andrea Thea., Wijayanti, Titi Ratna., Widayanti, Esti dan Hermawan, Adam. 2012. Sel Hela. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Saladin, Kenneth S. 2004. *Anatomy and Physiology: The Unity of Form and Function* 3rd Edition. New York: The McGraw-Hill Company.
- Sarmoko. 2012. Peningkatan Sensitivitas Sel MCF Doksorubisin oleh MCF-7/Dox terhadap Hesperetin Melalui Penghambatan Ekspresi P-Glikoprotein. *Tesis*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Schultes, RE dan Raffauf, RF. 1990. *The Healing Forest Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia*. Portland: Dioscorides Press.

- Sherwood, Lauralee. 2010. *Human Physiology: From Cell to System* 7th Edition. California: Brook/Cole.
- Shihab, M. Q. 2009. *Tafsir al Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an* Jilid II. Jakarta: Lentera Hati.
- Sitorus, Stevani. 2013. Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol *Angiopteris angustifolia* C. Presl terhadap Kultur Sel Kanker Payudara (MCF-7 Cell Line) secara *In Vitro*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Skinner, Halcyon G., Gangnon, Ronald E., Litzelman, Kristin., Johnson, Ruth A., Chari, Suresh A., Petersen, Gloria M., dan Boardman, Lisa A. 2012. Telomer Length and Pancreatic Cancer: a Case-Control Study. *Cancer Epidemiology Prev*. Volume 21 (1): 2095-2100.
- Smith, A.D., Datta. S.P., Smith, G.H., Campbell, P.N., Bentley, R., dan McKenzie, H.A. 2000. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*. Revised Edition. London: Oxford University Press Inc.
- Steben, M. dan Duarte-Franco, E. 2007. Human Papillomavirus Infection: Epidemiologi and Pathophysiology. *Gynecologic Oncology* 107 S2-S5.
- Susianti. 2016. Efek Timoquinon terhadap Apoptosis pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal kedokteran Universitas Lampung*. Vol 1 (2): 267-271.
- Suwarso, Edi. 2014. The Apoptosis Effects of Ethylacetate Extract of *Eleutherine palmifolia*(L.) Merr. Against T47D Cells. *International Journal of PharmTech Research* Volume 7 (3): 535-539.
- Tacar, Oktay., Sriamornsak, Pornsak dan Das, Crispin R. 2012. Doxorubicin: an Update on Anticancer Molecular Action, Toxicity and Novel Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* Volume 65: 157-170.
- Tadjoedin, Hilman., Harryanto, Ary., Toruan, Toman., Muthalib, Abdul., Kosasih, Agus., Supandiman, Iman dkk. 2011. Multiple Myeloma in Indonesia. *Indonesian Journal of Cancer* Volume 5 (2): 76-81.
- Teddy, Budi Suwandy. 2011. Pemodelan Proses Ekstraksi Ultrasonik Oleresin dan Cinnamaldehyde dari Kayu Manis. *Thesis*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Thompson, L. H., dan L. K. Doraiswamy. 1999. Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* Volume 38: 1215–1249.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatohyta)*. Yogyakarta:

Gadjah Mada University Press.

- Ulum, Miftahul. 2011. Konsep Ulul Albab Q.S Ali-Imran Ayat 190-195 dan Relevansinya dengan Tujuan Pendidikan Islam. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo.
- Van de Berg, MA. 1984. Ve-o-peso: The ethnobotany of an Amazonian Market in Prance and Kallunk. *Advance in Economic Botany, Ethnobotany in the Neotropic*. New York: New York Botanical Garden.
- Wardani, Savitri Restu. 2010. *Biopsi dalam Bidang Dermatologi*. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.
- Warsono, Lukas Budi., Atmaka, Windi dan Amanto, Bambang Sigit. 2013. Ekstraksi Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) dari Kulit Biji Mete dengan Menggunakan Metode Pengepresan. *Jurnal Teknosains Pangan* Volume 2 (2): 84-92.
- Weniger B, Haag-Berrurier M dan Anton. 1982. Plants of Haiti used as antifertility agents. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 6: 67-84.
- Wikanta, Thamrin., Rasyidin, Mahanie., Rahayu, Lestari dan Pratitis, Asri.2012. Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis dari Ekstrak Etil Asetat *Ulva fasciata* Delile terhadap Sel CaSki dan Sel MCF-7. *Jurnal Perikanan* Volume 7 (2): 87-96.
- Wong, HL., R, Bendayan., AM, Rauth., HY, Xue., dan K, Babakhanian. 2006. A Mechanistic Study of Enhanced Doxorubicin Uptake and Retention in Multidrug Resistant Breast Cancer Cells Using A Polymer-Lipid Hybrid Nanoparticle System. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* Volume 317(3): 1372-1381.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia*. Malang: Indeks.
- Yang, Fan., Teves, SS., Kemp, CJ. Dan Henikofl, Steven. 2014. Doxorubicin, DNA Torsion and Chromatin Dynamics. *Biochim Biophys Acta* Volume 1845 (1): 84-89.
- Yoshida, Kenji. Sasaki, Ryohei. Nishimura, Hideki. Miyawaki, Daisuke dan Sugimura, Kazuro. 2012. Cervical Cancer Treatment in Aging Woman. *Topics on Cervical Cancer with an Advocacy for Prevention*. Rijeka: InTech.
- Yuswi, Nusa RC. 2017. Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan Metode Ultrasonik Bath (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Volume 5 (1): 71-79.
- Zulaifah, Zakiya. 2013. Pengaruh Ekstrak Batang Benalu Mangga (*Dendrophloe*

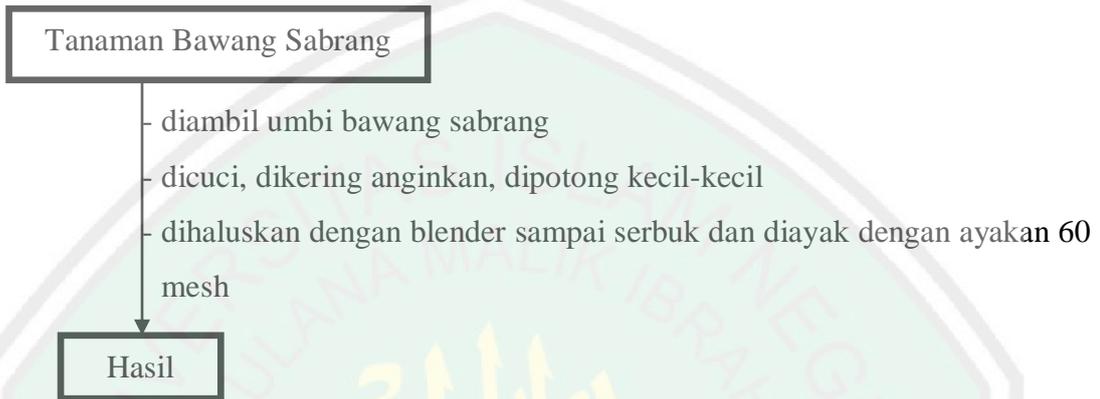
pentandra) terhadap Peningkatan Jumlah Sel Kanker Serviks (Sel HeLa) yang Mengandung Protein Caspase-3 Aktif. *Skripsi*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.



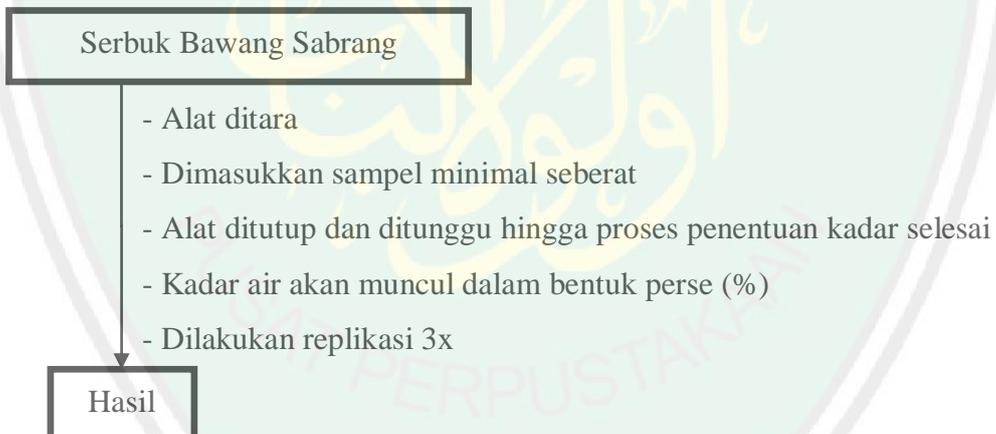
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

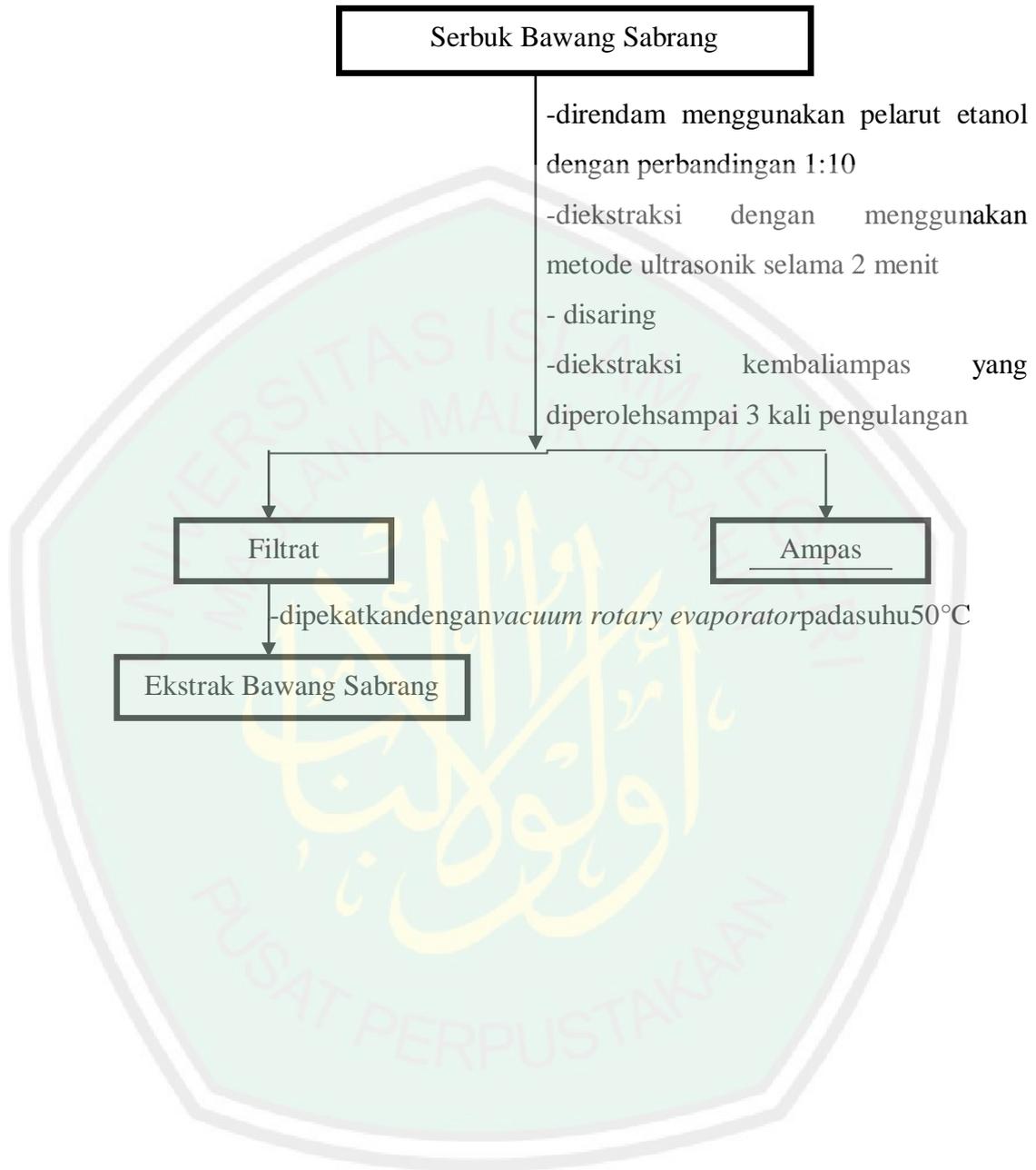
L.1.1 Preparasi Sampel



L.1.2 Analisa Kadar Air

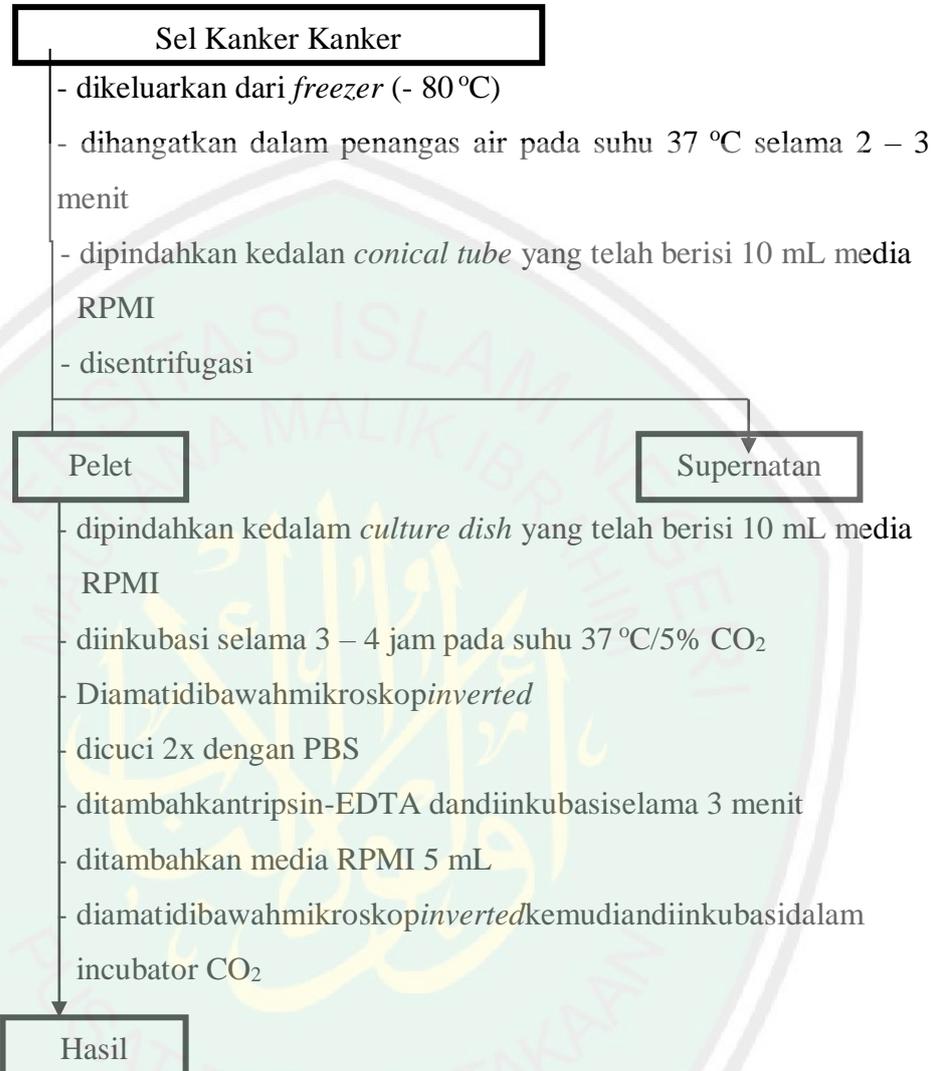


L.1.3 Ekstraksi Komponen Aktif

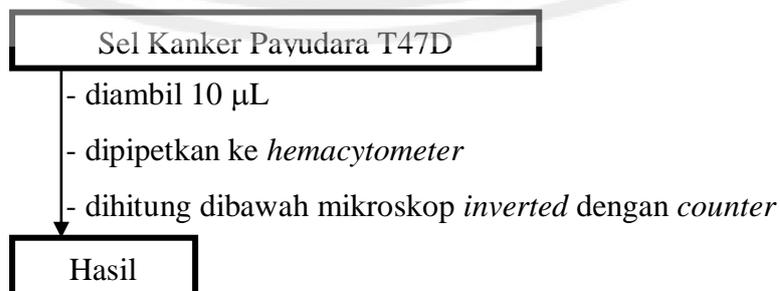


L.1.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

L.1.4.1 Penyiapan Sel



L.1.4.2 Penghitungan Sel Kanker



L.1.4.3 Peletakan Sel pada *Plate*

Sel Kanker Payudara T47D

- diletakkan sel dan media RPMI sesuai perhitungan kedalam *plate 96-well*. Disisakan 12 sumuran bagian bawah untuk control sel dan media
- diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂

Hasil

L.1.4.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*

Ekstrak Bawang Sabrang

- ditimbang 0.82 g dan dimasukkan dalam wadah
- dilarutkan masing-masing dalam 2 mL DMSO
- diambil sel dari inkubator
- dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180°
- dimasukkan 100 µL PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- dimasukkan sampel sebanyak 100 µL dengan perbandingan seperti yang ada di *well-plate mapping*
- dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sampel sebanyak 3x
- diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

L.1.4.6 Pemberian Larutan MTT

Sel Kanker Serviks HeLa

- dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali kontrol sel
- diinkubasi selama 3 – 4 jam didalam inkubator
- apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*
- ditambahkan *stopper* SDS 10 % dalam 0,1 N HCl
- dibungkus *plate* dengan aluminium foil
- diinkubasi kembali ditempat gelap (suhu ruangan) semalam
- dibaca nilai absorbansi dengan ELISA *reader*

Hasil

L.1.5 Analisa Apoptosis Sel dengan Metode Flowsitometri

Kombinasi terbaik ekstrak bawang
sabrang dan doksorubisin

- dilarutkan dalam DMSO
- sumuran dicuci dengan 1000 μ L PBS, kemudian PBS diambil dan dipindahkan ke dalam konikel
- masing-masing sumuran ditambahkan dengan 200 μ L tripsin-EDTA 0.25% dan diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 37⁰C.
- Masing-masing sumuran dimasukkan 1000 μ L media kultur (RPMI) dengan mikropipet lalu diresuspensi
- Sel diamati dengan mikroskop.
- Media kultur yang berada disumuran dipindahkan ke dalam konikel.
- Konikel disentrifus pada 600 rpm selama 5 menit.
- Media dibuang dan ditambahkan 500 μ L PBS.
- Pellet tersebut dipindahkan ke dalam eppendorf dan disentrifus pada 2000 rpm selama 3 menit
- Media dibuang dan dimasukkan 100 μ L reagen Annexin V-PI ke dalam tabung eppendorf dan buffer sebanyak 350 μ L.
- Diinkubasi selama 10 menit
- Suspensi sel dipindahkan ke flowsito tube dan siap diinjeksi ke dalam flowsitometri.

Hasil

Lampiran 2 Uji Kadar Air Simplisia Umbi Bawang Sabrang

a. Ulangan 1

Jumlah sampel : 0,536 gram

%MC : 7,09 %

b. Ulangan 2

Jumlah sampel : 0,534 gram

%MC : 7,30 %

c. Ulangan 3

Jumlah sampel : 0,542 gram

%MC : 7,01 %

$$\begin{aligned} \text{Kadar air simplisia} &= \frac{\text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3}}{3} \\ &= \frac{7,01 + 7,09 + 7,30}{3} \\ &= 7,13 \% \end{aligned}$$

Lampiran 3 Hasil Ekstraksi Bawang Sabrang

Dari simplisia bawang sabrang sebanyak 125,58 gram didapat ekstrak sebanyak 9,9519 g. Rendemen dari ekstrak tersebut adalah:

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{ekstrak yang diperoleh}}{\text{simplisia yang diekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{9,9519}{125,58} \times 100\% \\ &= 7,9247\%\end{aligned}$$



Lampiran 4 Uji Sitotoksik Kombinasi

L.4.1 Perhitungan Sel Uji Sitotoksik Kombinasi

a. Jumlah sel yang dihitung

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel yang dihitung} &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B}}{2} \times 10^4 \\ &= \frac{149+151}{2} \times 10^4 \\ &= 150 \times 10^4 / \text{mL} \end{aligned}$$

b. Volume panen sel yang ditransfer

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 150.10^4 = 10 \times 10^5$$

$$1,5 V1 = 0,1 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,7 \text{ mL ad } 10 \text{ ml}$$

L.4.2 Perhitungan Seri Konsentrasi Ekstrak Bawang Sabrang

Bawang sabrang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 1 ml DMSO dan diaduk dengan menggunakan vortex, sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 100.000 ppm

$$\text{Stok I} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$= 100.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Stok 2} = 10.000 \text{ ppm dalam } 100 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100.000 = 100.10.000$$

$$V1 = 10 \mu\text{l (ditambah MK } 90 \mu\text{l)}$$

$$\text{Konsentrasi } 40 \text{ ppm} = 2,5 \text{ ml}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.10.000 = 2500 \cdot 40$$

$$V1 = 10 \mu\text{l (ditambah } 2,4 \text{ ml MK)}$$

$$\text{Konsentrasi } 30 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.40 = 1000 \cdot 30$$

$$V1 = 750 \mu\text{l (ditambah 750 } \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi 20 ppm} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.40 = 20.1000$$

$$V1 = 500 \mu\text{l (ditambah 500 } \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi 10 ppm} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.40 = 1000.10$$

$$V1 = 250 \mu\text{l (ditambah 750 } \mu\text{l MK)}$$

L.4.3 Perhitungan Seri Konsentrasi Doksorubisin

Doksorubisin tersedia dalam 2 mg/ml.

$$\text{Stok doxo} = 2 \text{ mg/ml}$$

$$= \frac{\text{massa terlarut (mg)}}{BM \text{ doxo}} \times \frac{1000}{\text{zat pelarut}}$$

$$= \frac{2}{543,5} \times \frac{1000}{1}$$

$$= 3.679.720 \text{ nM}$$

$$\text{Stok 2} = 500.000 \text{ nM sebanyak } 100 \mu\text{L}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.3.679.720 = 100.500.000$$

$$V1 = 13.64 \mu\text{l (ditambah } 86.4 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Stok 3} = 50.000 \text{ nM sebanyak } 100 \mu\text{L}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.500.000 = 100.50.000$$

$$V1 = 10 \mu\text{l (ditambah } 90 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Stok 4} = 400 \text{ nM sebanyak } 2.5 \text{ mL}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.50.000 = 2500.400$$

$$V1 = 20 \mu\text{l (ditambah } 2.480 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi 300 nM} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.400 = 1000 \cdot 300$$

$$V1 = 750 \mu\text{l (ditambah } 750 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi } 200 \text{ nM} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.400 = 1000 \cdot 200$$

$$V1 = 500 \mu\text{l (ditambah } 500 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi } 100 \text{ nM} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1.400 = 1000 \cdot 100$$

$$V1 = 250 \mu\text{l (ditambah } 750 \mu\text{l MK)}$$

L.4.4 Hasil Uji Sitotoksik Kombinasi

	Blank Mean	Std. Dev.			
	0.000	0.000			
			1	2	3
A	0.287	0.293	0.338		
B	0.099	0.119	0.155		
C	0.148	0.147	0.175		
D	0.167	0.204	0.196		
E	0.171	0.180	0.201		
F	0.122	0.179	0.227		
G	0.128	0.060	0.061		
H	0.033	0.034	0.035		
			4	5	6
A	0.320	0.328	0.315		
B	0.330	0.319	0.344		
C	0.324	0.332	0.334		
D	0.292	0.326	0.326		
E	0.267	0.295	0.310		
F	0.232	0.291	0.355		
G	0.252	0.295	0.356		
H	0.328	0.311	0.342		
			7	8	9
A	0.330	0.339	0.320		
B	0.357	0.381	0.348		
C	0.355	0.365	0.363		
D	0.357	0.336	0.351		
E	0.335	0.335	0.329		
F	0.366	0.354	0.361		
G	0.340	0.310	0.343		
H	0.339	0.338	0.340		
			10	11	12
A	0.340	0.346	0.354		
B	0.359	0.398	0.401		
C	0.374	0.403	0.426		
D	0.365	0.341	0.367		
E	0.334	0.336	0.363		
F	0.343	0.344	0.353		
G	0.336	0.352	0.334		
H	0.301	0.331	0.324		

L.4.5 Perhitungan Uji Kombinasi Menggunakan *Microsoft Excel*

a. Viabilitas Sel Uji Kombinasi

Bawang Sabrang (ppm)	Doksorubisin (nM)				
	0	50	100	150	200
0	100	117,19	118,24	115,55	105,68
5	118,24	109,42	103,89	114,80	118,83
10	135,87	97,76	110,76	111,21	124,66
15	142,60	94,02	111,21	124,36	125,11
20	123,17	93,12	106,73	112,11	110,61

b. IC50 tunggal

Doksorubisin Tunggal

$$y = -42,004x + 188,53$$

Bawang Sabrang (ppm)	Doksorubisin (nM)			
	50	100	150	200
5	76,465	103,546	56,931	45,632
10	144,889	71,029	69,304	33,150
15	177,829	69,304	33,698	32,345
20	186,790	88,617	65,979	71,613

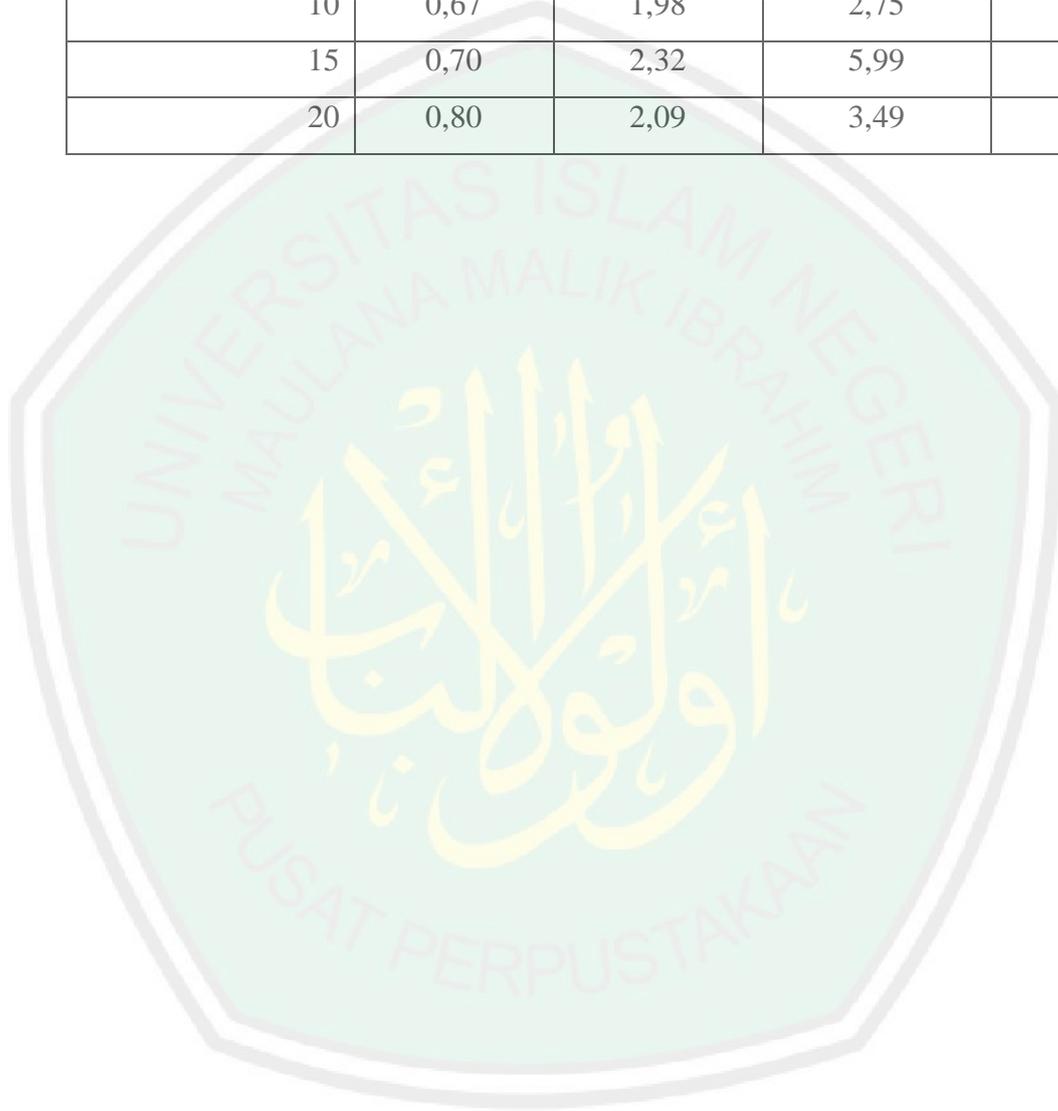
Bawang Sabrang Tunggal

$$y = -53,393x + 177,11$$

Bawang Sabrang (ppm)	Doksorubisin (nM)			
	50	100	150	200
5	18,528	23,518	14,691	12,344
10	30,633	17,484	17,149	9,600
15	35,990	17,149	9,725	9,416
20	37,409	20,807	16,498	17,597

Indeks Kombinasi

Bawang Sabrang (ppm)	Doksorubisin (nM)			
	50	100	150	200
5	0,92	1,18	2,98	4,79
10	0,67	1,98	2,75	7,07
15	0,70	2,32	5,99	7,78
20	0,80	2,09	3,49	3,93



Lampiran 5 Uji Apoptosis

L.5.1 Perhitungan Sel Uji Apoptosis

a. Jumlah sel yang dihitung

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel yang dihitung} &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B}}{2} \times 10^4 \\ &= \frac{149 + 151}{2} \times 10^4 \\ &= 150 \times 10^4 / \text{mL} \end{aligned}$$

b. Volume panen sel yang ditransfer

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 150.10^4 = 5 \times 5.10^5$$

$$15 V1 = 25 \text{ mL}$$

$$V1 = 1,67 \text{ mL ad } 5 \text{ ml}$$

L.5.2 Perhitungan Seri Konsentrasi Ekstrak Bawang Sabrang

Bawang sabrang sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 1 ml DMSO dan diaduk dengan menggunakan vortex, sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 100.000 ppm

$$\text{Stok I} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$= 100.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Stok 2} = 10.000 \text{ ppm dalam } 100 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100.000 = 100.10.000$$

$$V1 = 10 \mu\text{l (ditambah MK } 90 \mu\text{l)}$$

$$\text{Konsentrasi } 40 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.10.000 = 1000 . 40$$

$$V1 = 4 \mu\text{l (ditambah } 996 \mu\text{l MK)}$$

$$\text{Konsentrasi } 20 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{l}$$

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1. 40 = 20. 1000$$

$$V1 = 500 \mu\text{l (ditambah } 500 \mu\text{l MK)}$$

L.5.3 Perhitungan Seri Konsentrasi Dokсорubisin

Dokсорubisin tersedia dalam 2 mg/ml.

$$\begin{aligned} \text{Stok doxo} &= 2 \text{ mg/ml} \\ &= \frac{\text{massa terlarut (mg)}}{BM \text{ doxo}} \times \frac{1000}{\text{zat pelarut}} \\ &= \frac{2}{543,5} \times \frac{1000}{1} \\ &= 3.679.720 \text{ nM} \end{aligned}$$

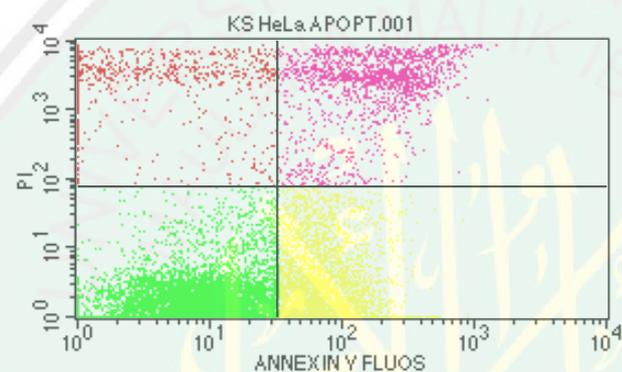
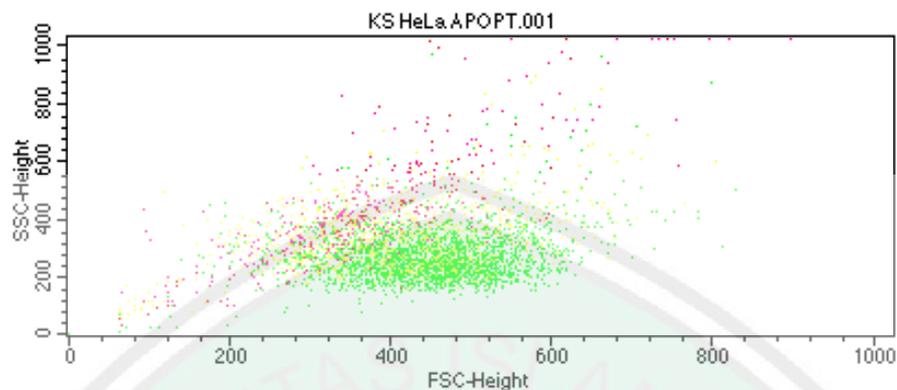
$$\begin{aligned} \text{Stok 2} &= 500.000 \text{ nM sebanyak } 100 \mu\text{L} \\ V1.M1 &= V2 . M2 \\ V1. 3.679.720 &= 100. 500.000 \\ V1 &= 13.64 \mu\text{l (ditambah } 86.4 \mu\text{l MK)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Stok 3} &= 50.000 \text{ nM sebanyak } 100 \mu\text{L} \\ V1.M1 &= V2 . M2 \\ V1. 500.000 &= 100. 50.000 \\ V1 &= 10 \mu\text{l (ditambah } 90 \mu\text{l MK)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Stok 4} &= 400 \text{ nM sebanyak } 2.5 \text{ mL} \\ V1.M1 &= V2.M2 \\ V1.10.000 &= 1000 . 40 \\ V1 &= 4 \mu\text{l (ditambah } 996 \mu\text{l MK)} \end{aligned}$$

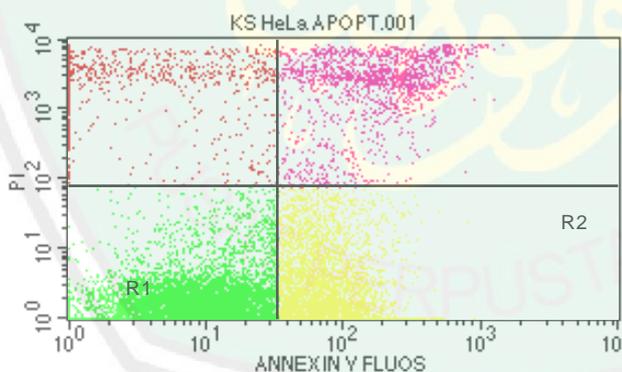
$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 100 \text{ nM} &= 1000 \mu\text{l} \\ V1.M1 &= V2 . M2 \\ V1. 400 &= 1000. 100 \\ V1 &= 250 \mu\text{l (ditambah } 750 \mu\text{l MK)} \end{aligned}$$

L.5.4 Hasil Uji Apoptosis



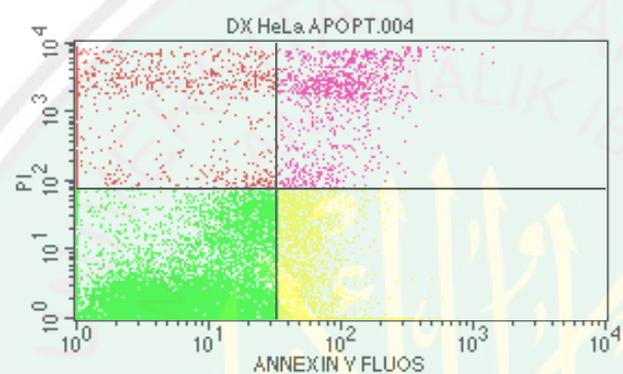
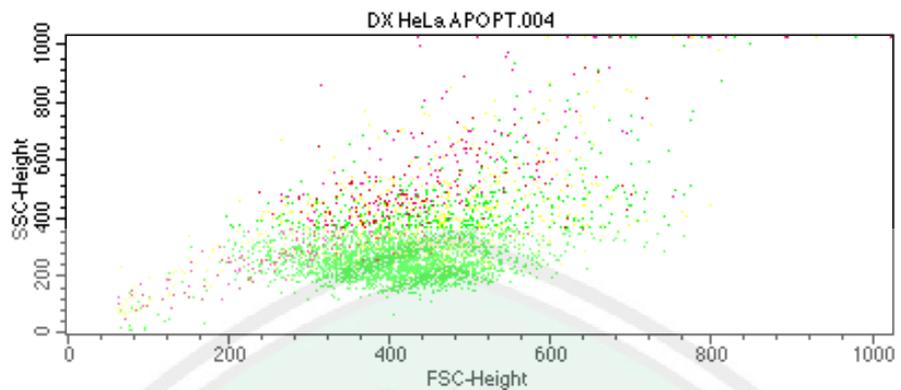
File: KS HeLa APOPT.001
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	4.54	4.54
UR	8.06	8.06
LL	57.97	57.97
LR	29.43	29.43



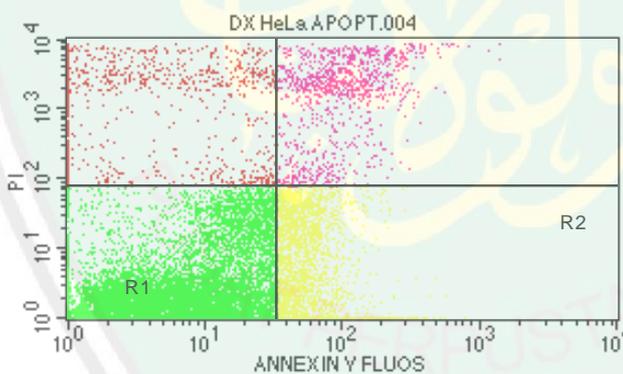
File: KS HeLa APOPT.001
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Region	% Gated	% Total
R1	58.27	58.27
R2	29.29	29.29
R3	8.05	8.05
R4	4.54	4.54



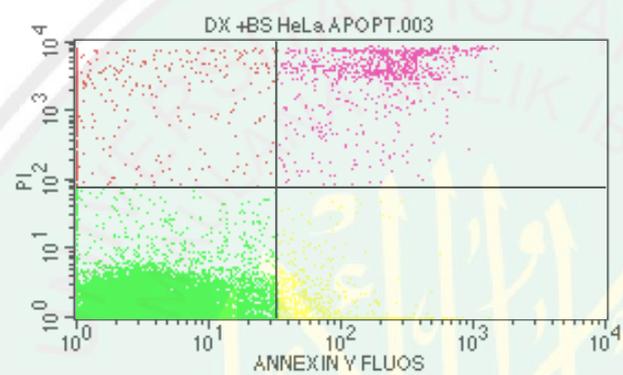
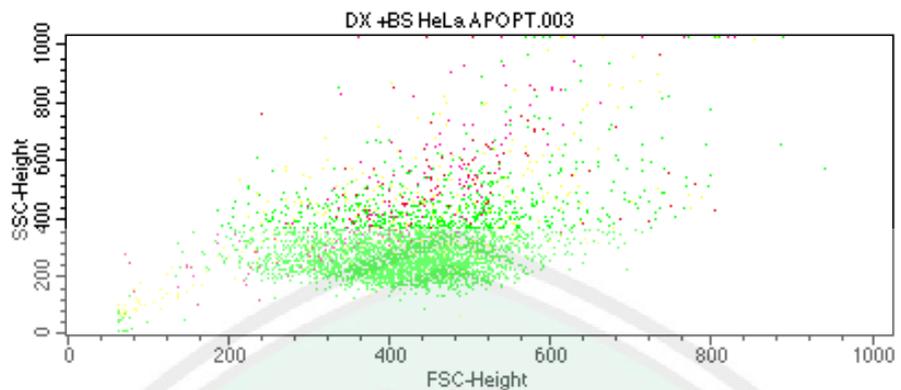
File: DX HeLa APOPT.004
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	5.13	5.13
UR	5.40	5.40
LL	73.45	73.45
LR	16.01	16.01



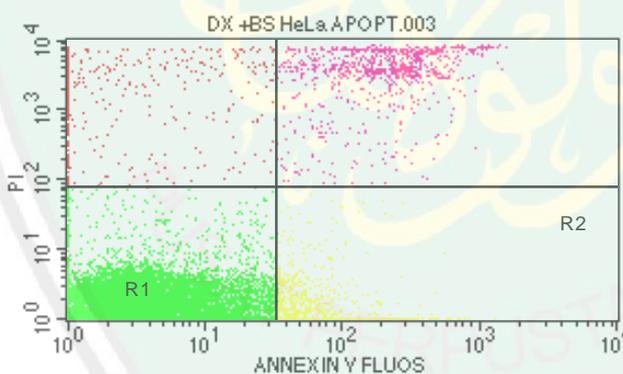
File: DX HeLa APOPT.004
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Region	% Gated	% Total
R1	73.96	73.96
R2	15.86	15.86
R3	5.33	5.33
R4	5.12	5.12



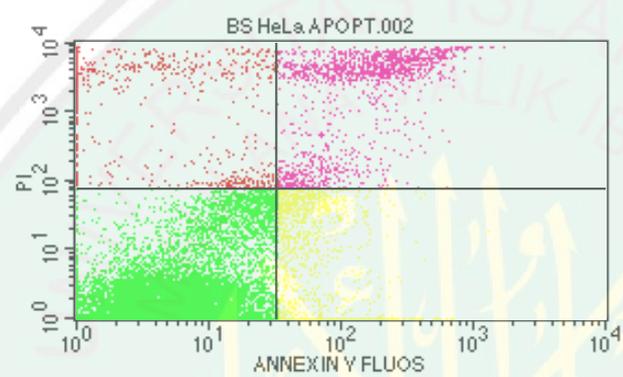
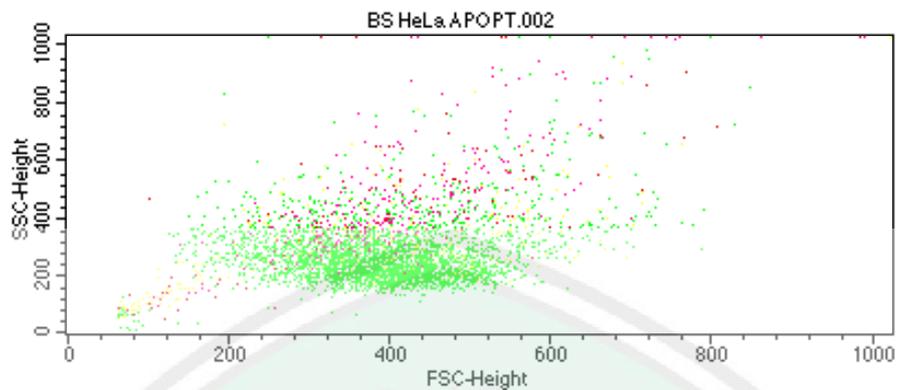
File: DX +BS HeLa APOPT.0
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	2.57	2.57
UR	4.45	4.45
LL	85.94	85.94
LR	7.04	7.04



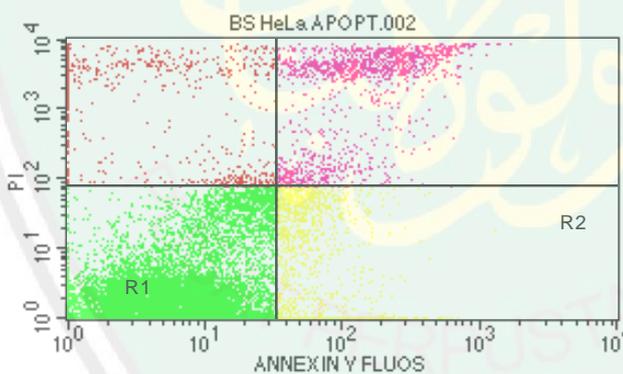
File: DX +BS HeLa APOPT.003
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Region	% Gated	% Total
R1	86.08	86.08
R2	6.97	6.97
R3	4.45	4.45
R4	2.56	2.56



File: BS HeLa APOPT.002
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Quad	% Gated	% Total
UL	3.68	3.68
UR	7.19	7.19
LL	81.58	81.58
LR	7.56	7.56



File: BS HeLa APOPT.002
 Gate: No Gate
 Total Events: 20000

Region	% Gated	% Total
R1	81.84	81.84
R2	7.55	7.55
R3	7.11	7.11
R4	3.66	3.66

L.5.5 Hasil Uji ANOVA One Way

Tests of Normality

PERLAKUAN		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PROSENTASE_SEL	SEL HIDUP KS	.260	2	.			
	APOPTOSIS KS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	NEKROSIS KS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	SEL HIDUP DX	.175	3	.	1.000	3	1.000
	APOPTOSIS DX	.175	3	.	1.000	3	1.000
	NEKROSIS DX	.175	3	.	1.000	3	1.000
	SEL HIDUP BS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	APOPTOSIS BS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	NEKROSIS BS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	SEL HIDUP DX BS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	APOPTOSIS DX BS	.175	3	.	1.000	3	1.000
	NEKROSIS DX BS	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

PROSENTASE_SEL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.000	11	24	1.000

ANOVA

PROSENTASE_SEL

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35610.518	11	3237.320	3.237E7	.000
Within Groups	.002	24	.000		
Total	35610.520	35			

Multiple Comparisons

PROSENTASE_SEL

Tukey HSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SEL HIDUP KS	APOPTOSIS KS	20.93000*	.00816	.000	20.9006	20.9594
	NEKROSIS KS	53.73000*	.00816	.000	53.7006	53.7594
	SEL HIDUP DX	-15.69000*	.00816	.000	-15.7194	-15.6606
	APOPTOSIS DX	37.79000*	.00816	.000	37.7606	37.8194
	NEKROSIS DX	53.15000*	.00816	.000	53.1206	53.1794
	SEL HIDUP BS	-23.57000*	.00816	.000	-23.5994	-23.5406
	APOPTOSIS BS	43.61000*	.00816	.000	43.5806	43.6394
	NEKROSIS BS	54.61000*	.00816	.000	54.5806	54.6394
	SEL HIDUP DX BS	-27.81000*	.00816	.000	-27.8394	-27.7806
	APOPTOSIS DX BS	46.85000*	.00816	.000	46.8206	46.8794
	NEKROSIS DX BS	55.71000*	.00816	.000	55.6806	55.7394
APOPTOSIS KS	SEL HIDUP KS	-20.93000*	.00816	.000	-20.9594	-20.9006
	NEKROSIS KS	32.80000*	.00816	.000	32.7706	32.8294
	SEL HIDUP DX	-36.62000*	.00816	.000	-36.6494	-36.5906
	APOPTOSIS DX	16.86000*	.00816	.000	16.8306	16.8894
	NEKROSIS DX	32.22000*	.00816	.000	32.1906	32.2494

	SEL HIDUP BS	-44.50000*	.00816	.000	-44.5294	-44.4706
	APOPTOSIS BS	22.68000*	.00816	.000	22.6506	22.7094
	NEKROSIS BS	33.68000*	.00816	.000	33.6506	33.7094
	SEL HIDUP DX BS	-48.74000*	.00816	.000	-48.7694	-48.7106
	APOPTOSIS DX BS	25.92000*	.00816	.000	25.8906	25.9494
	NEKROSIS DX BS	34.78000*	.00816	.000	34.7506	34.8094
NEKROSIS KS	SEL HIDUP KS	-53.73000*	.00816	.000	-53.7594	-53.7006
	APOPTOSIS KS	-32.80000*	.00816	.000	-32.8294	-32.7706
	SEL HIDUP DX	-69.42000*	.00816	.000	-69.4494	-69.3906
	APOPTOSIS DX	-15.94000*	.00816	.000	-15.9694	-15.9106
	NEKROSIS DX	-.58000*	.00816	.000	-.6094	-.5506
	SEL HIDUP BS	-77.30000*	.00816	.000	-77.3294	-77.2706
	APOPTOSIS BS	-10.12000*	.00816	.000	-10.1494	-10.0906
	NEKROSIS BS	.88000*	.00816	.000	.8506	.9094
	SEL HIDUP DX BS	-81.54000*	.00816	.000	-81.5694	-81.5106
	APOPTOSIS DX BS	-6.88000*	.00816	.000	-6.9094	-6.8506
	NEKROSIS DX BS	1.98000*	.00816	.000	1.9506	2.0094
SEL HIDUP DX	SEL HIDUP KS	15.69000*	.00816	.000	15.6606	15.7194
	APOPTOSIS KS	36.62000*	.00816	.000	36.5906	36.6494
	NEKROSIS KS	69.42000*	.00816	.000	69.3906	69.4494
	APOPTOSIS DX	53.48000*	.00816	.000	53.4506	53.5094
	NEKROSIS DX	68.84000*	.00816	.000	68.8106	68.8694
	SEL HIDUP BS	-7.88000*	.00816	.000	-7.9094	-7.8506
	APOPTOSIS BS	59.30000*	.00816	.000	59.2706	59.3294
	NEKROSIS BS	70.30000*	.00816	.000	70.2706	70.3294
	SEL HIDUP DX BS	-12.12000*	.00816	.000	-12.1494	-12.0906
	APOPTOSIS DX BS	62.54000*	.00816	.000	62.5106	62.5694
	NEKROSIS DX BS	71.40000*	.00816	.000	71.3706	71.4294
APOPTOSIS DX	SEL HIDUP KS	-37.79000*	.00816	.000	-37.8194	-37.7606
	APOPTOSIS KS	-16.86000*	.00816	.000	-16.8894	-16.8306
	NEKROSIS KS	15.94000*	.00816	.000	15.9106	15.9694
	SEL HIDUP DX	-53.48000*	.00816	.000	-53.5094	-53.4506

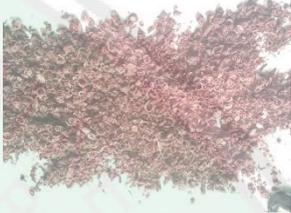
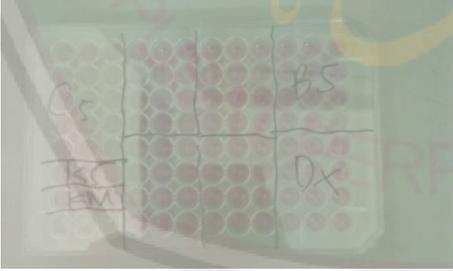
	NEKROSIS DX	15.36000*	.00816	.000	15.3306	15.3894
	SEL HIDUP BS	-61.36000*	.00816	.000	-61.3894	-61.3306
	APOPTOSIS BS	5.82000*	.00816	.000	5.7906	5.8494
	NEKROSIS BS	16.82000*	.00816	.000	16.7906	16.8494
	SEL HIDUP DX BS	-65.60000*	.00816	.000	-65.6294	-65.5706
	APOPTOSIS DX BS	9.06000*	.00816	.000	9.0306	9.0894
	NEKROSIS DX BS	17.92000*	.00816	.000	17.8906	17.9494
NEKROSIS DX	SEL HIDUP KS	-53.15000*	.00816	.000	-53.1794	-53.1206
	APOPTOSIS KS	-32.22000*	.00816	.000	-32.2494	-32.1906
	NEKROSIS KS	.58000*	.00816	.000	.5506	.6094
	SEL HIDUP DX	-68.84000*	.00816	.000	-68.8694	-68.8106
	APOPTOSIS DX	-15.36000*	.00816	.000	-15.3894	-15.3306
	SEL HIDUP BS	-76.72000*	.00816	.000	-76.7494	-76.6906
	APOPTOSIS BS	-9.54000*	.00816	.000	-9.5694	-9.5106
	NEKROSIS BS	1.46000*	.00816	.000	1.4306	1.4894
	SEL HIDUP DX BS	-80.96000*	.00816	.000	-80.9894	-80.9306
	APOPTOSIS DX BS	-6.30000*	.00816	.000	-6.3294	-6.2706
	NEKROSIS DX BS	2.56000*	.00816	.000	2.5306	2.5894
SEL HIDUP BS	SEL HIDUP KS	23.57000*	.00816	.000	23.5406	23.5994
	APOPTOSIS KS	44.50000*	.00816	.000	44.4706	44.5294
	NEKROSIS KS	77.30000*	.00816	.000	77.2706	77.3294
	SEL HIDUP DX	7.88000*	.00816	.000	7.8506	7.9094
	APOPTOSIS DX	61.36000*	.00816	.000	61.3306	61.3894
	NEKROSIS DX	76.72000*	.00816	.000	76.6906	76.7494
	APOPTOSIS BS	67.18000*	.00816	.000	67.1506	67.2094
	NEKROSIS BS	78.18000*	.00816	.000	78.1506	78.2094
	SEL HIDUP DX BS	-4.24000*	.00816	.000	-4.2694	-4.2106
	APOPTOSIS DX BS	70.42000*	.00816	.000	70.3906	70.4494
	NEKROSIS DX BS	79.28000*	.00816	.000	79.2506	79.3094
APOPTOSIS BS	SEL HIDUP KS	-43.61000*	.00816	.000	-43.6394	-43.5806
	APOPTOSIS KS	-22.68000*	.00816	.000	-22.7094	-22.6506
	NEKROSIS KS	10.12000*	.00816	.000	10.0906	10.1494

	SEL HIDUP DX	-59.30000*	.00816	.000	-59.3294	-59.2706
	APOPTOSIS DX	-5.82000*	.00816	.000	-5.8494	-5.7906
	NEKROSIS DX	9.54000*	.00816	.000	9.5106	9.5694
	SEL HIDUP BS	-67.18000*	.00816	.000	-67.2094	-67.1506
	NEKROSIS BS	11.00000*	.00816	.000	10.9706	11.0294
	SEL HIDUP DX BS	-71.42000*	.00816	.000	-71.4494	-71.3906
	APOPTOSIS DX BS	3.24000*	.00816	.000	3.2106	3.2694
	NEKROSIS DX BS	12.10000*	.00816	.000	12.0706	12.1294
NEKROSIS BS	SEL HIDUP KS	-54.61000*	.00816	.000	-54.6394	-54.5806
	APOPTOSIS KS	-33.68000*	.00816	.000	-33.7094	-33.6506
	NEKROSIS KS	-.88000*	.00816	.000	-.9094	-.8506
	SEL HIDUP DX	-70.30000*	.00816	.000	-70.3294	-70.2706
	APOPTOSIS DX	-16.82000*	.00816	.000	-16.8494	-16.7906
	NEKROSIS DX	-1.46000*	.00816	.000	-1.4894	-1.4306
	SEL HIDUP BS	-78.18000*	.00816	.000	-78.2094	-78.1506
	APOPTOSIS BS	-11.00000*	.00816	.000	-11.0294	-10.9706
	SEL HIDUP DX BS	-82.42000*	.00816	.000	-82.4494	-82.3906
	APOPTOSIS DX BS	-7.76000*	.00816	.000	-7.7894	-7.7306
	NEKROSIS DX BS	1.10000*	.00816	.000	1.0706	1.1294
SEL HIDUP DX BS	SEL HIDUP KS	27.81000*	.00816	.000	27.7806	27.8394
	APOPTOSIS KS	48.74000*	.00816	.000	48.7106	48.7694
	NEKROSIS KS	81.54000*	.00816	.000	81.5106	81.5694
	SEL HIDUP DX	12.12000*	.00816	.000	12.0906	12.1494
	APOPTOSIS DX	65.60000*	.00816	.000	65.5706	65.6294
	NEKROSIS DX	80.96000*	.00816	.000	80.9306	80.9894
	SEL HIDUP BS	4.24000*	.00816	.000	4.2106	4.2694
	APOPTOSIS BS	71.42000*	.00816	.000	71.3906	71.4494
	NEKROSIS BS	82.42000*	.00816	.000	82.3906	82.4494
	APOPTOSIS DX BS	74.66000*	.00816	.000	74.6306	74.6894
	NEKROSIS DX BS	83.52000*	.00816	.000	83.4906	83.5494
APOPTOSIS DX BS	SEL HIDUP KS	-46.85000*	.00816	.000	-46.8794	-46.8206
	APOPTOSIS KS	-25.92000*	.00816	.000	-25.9494	-25.8906

	NEKROSIS KS	6.88000*	.00816	.000	6.8506	6.9094
	SEL HIDUP DX	-62.54000*	.00816	.000	-62.5694	-62.5106
	APOPTOSIS DX	-9.06000*	.00816	.000	-9.0894	-9.0306
	NEKROSIS DX	6.30000*	.00816	.000	6.2706	6.3294
	SEL HIDUP BS	-70.42000*	.00816	.000	-70.4494	-70.3906
	APOPTOSIS BS	-3.24000*	.00816	.000	-3.2694	-3.2106
	NEKROSIS BS	7.76000*	.00816	.000	7.7306	7.7894
	SEL HIDUP DX BS	-74.66000*	.00816	.000	-74.6894	-74.6306
	NEKROSIS DX BS	8.86000*	.00816	.000	8.8306	8.8894
NEKROSIS DX BS	SEL HIDUP KS	-55.71000*	.00816	.000	-55.7394	-55.6806
	APOPTOSIS KS	-34.78000*	.00816	.000	-34.8094	-34.7506
	NEKROSIS KS	-1.98000*	.00816	.000	-2.0094	-1.9506
	SEL HIDUP DX	-71.40000*	.00816	.000	-71.4294	-71.3706
	APOPTOSIS DX	-17.92000*	.00816	.000	-17.9494	-17.8906
	NEKROSIS DX	-2.56000*	.00816	.000	-2.5894	-2.5306
	SEL HIDUP BS	-79.28000*	.00816	.000	-79.3094	-79.2506
	APOPTOSIS BS	-12.10000*	.00816	.000	-12.1294	-12.0706
	NEKROSIS BS	-1.10000*	.00816	.000	-1.1294	-1.0706
	SEL HIDUP DX BS	-83.52000*	.00816	.000	-83.5494	-83.4906
	APOPTOSIS DX BS	-8.86000*	.00816	.000	-8.8894	-8.8306

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 6 Dokumentasi

 <p>Bawang sabrang belum dibersihkan</p>	 <p>Bawang sabrang sudah dibersihkan</p>
 <p>Pengeringan bawang sabrang</p>	 <p>Simplisia bawang sabrang</p>
 <p>Pengukuran kadar air</p>	 <p>Ekstraksi bawang sabrang</p>
 <p>Plate uji kombinasi</p>	 <p>Plate uji apoptosis</p>



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0004 /IPH.6/HM/I/2017

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Faiqotul Choiroh, NIM : 13670056

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume III, tahun 1968, halaman 150 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Eleutherina*
Species : *Eleutherina palmifolia* (L.) Merr.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Liliopsida*
Subclass : *Liliidae*
Ordo : *Liliales*
Family : *Iridaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 18 Januari 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 49 / EC / KEPK – S1 / 02 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Uji Aktivitas Antikanker Fraksi bawang Sabrang (*Eleutherine americana* (L.) Merr.) dan Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Sabrang (*Eleutherine americana* (L.) Merr.) dengan Doksorubisin terhadap Apoptosis Sel kanker Serviks Hela.

PENELITI : Trian Sidha Minggarwati
Faiqotul Choiroh

UNIT / LEMBAGA : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim Malang, Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 21 FEB 2017



An: Ketua
Koordinator Divisi I

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpPark
NIP. 19520410 198002 1 001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).



DEPARTEMEN PARASITOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281.
Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

Nomor : UGM/KU/Prst/201/M/05/07
Hal : Ijin Penelitian.

17 April 2017

Kepada Yth. : **FAIQOTUL CHOIROH**
Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Dengan hormat,
Menanggapi surat saudara tertanggal 4 Maret 2017 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BAWANG SABRANG (*Eleutherine americana* (Mill.) Urb.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS *HeLa*)”

Kami dapat mengijinkan penelitian tersebut dilakukan di Departemen Parasitologi FK. UGM., dengan catatan :

1. Mentaati peraturan yang berlaku di FK. UGM. dan Departemen Parasitologi FK. UGM.
2. Sebagai supervisor dalam pelaksanaan penelitian ini adalah Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK., dengan Teknisi: Suprihatin.
3. Menulis semua kegiatan dan hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium dalam buku Log Penelitian; buku Log ditinggal di Laboratorium.
4. Menerapkan prinsip **Good Clinical Laboratory Practice** pada saat bekerja di laboratorium.
5. Setelah selesai melaporkan hasilnya kepada Kepala Departemen.

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Kepala,

dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.
NIP. 19580412 198601 1 001.

Tembusan Yth. : 1. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
2. Suprihatin
3. Arsip