

**AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIK
(HeLa) DAN TOKSISITAS SEL NORMAL VERO DARI
BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN BIJI
(*Helianthus annuus* L.)**

SKRIPSI

Oleh:

JAUZA ULFAH

NIM. 14670033



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

**AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIK
(HeLa) DAN TOKSISITAS SEL NORMAL VERO DARI
BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN BIJI
(*Helianthus annuus L.*)**

SKRIPSI

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

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

AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIK
(HeLa) DAN TOKSISITAS SEL NORMAL VERO DARI
BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN BIJI
(*Helianthus annuus L.*)

SKRIPSI

Oleh:

JAUZA ULFAH

NIM. 14670033

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 6 Juni 2018

Pembimbing I

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

NIP. 19800203 200912 2003

Pembimbing II

drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort

NIP. 1985072009121003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

NIP. 19800203 200912 2003

**AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIK
(HeLa) DAN TOKSISITAS SEL NORMAL VERO DARI
BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN BIJI
(*Helianthus annuus L.*)**

SKRIPSI

Oleh:

JAUZA ULFAH

NIM. 14670033

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 6 Juni 2018

Ketua Penguji :1. drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort (.....)
NIP. 198507 200912 1 003

Anggota Penguji :1. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt (.....)
NIP. 19800203 200912 2 003

2. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt (.....)
NIP. 19900221 201801 1 001

3. Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm, Apt (.....)
NIP. 19761214 200912 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Jauza Ulfah
NIM : 14670033
Program studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Aktivitas antikanker pada sel kanker servik (hela) dan toksisitas sel normal vero dari bagian akar, batang, daun dan biji (*Heliantus annuus* l.)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan 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, 25 Juni 2018

Yang membuat pernyataan,



Jauza Ulfah

NIM. 1467003

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal skripsi yang berjudul **“Aktivitas Antikanker pada Sel Kanker Servik (Hela) dan Toksisitas Sel Normal (Vero) dari Bagian Akar, Batang, Daun dan Biji (*Helianthus annuus* L.)”** dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa ajaran agama islam kepada ummatnya sehingga kita dapat membedakan hal yang haq dan yang bathil. Proposal skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program Strata-1 (S-1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring terselesaikannya penyusunan proposal skripsi ini, saya haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya proposal skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi fasilitas.
2. Bapak Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi fasilitas dan kemudahan akses penelitian.
3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan kesempatan mengikuti proyek dalam bidang biologi farmasi.

4. Bapak drg. Arief Suryadinata selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Bapak Burhan Ma'arif Z.A, M. Farm., Apt. selaku dosen penguji utama yang telah memberikan masukan serta pengarahan.
6. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Zaki Achmad yang telah membantu dalam proses *editing* dan membantu menyelesaikan proposal serta memberi dukungan moril
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan proposal skripsi ini. Semoga proposal skripsi ini bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 6 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Integrasi Tanaman Bunga Matahari dalam Perspektif Islam	9
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Bunga Matahari	11
2.3 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas Bunga Matahari	12
2.4 Metode Pemisahan	17
2.4.1 Teknik Ekstraksi	17
2.4.2 Pemekatan Ekstrak dengan <i>Rotary Evaporator</i>	18
2.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis	18
2.6 Kanker Serviks	19
2.6.1 Kanker	20
2.6.2 Mekanisme Molekuler Pembentukan Kanker serviks.....	20
2.6.3 Patofisiologi Kanker Serviks.....	22
2.7 Siklus Sel.....	25
2.8 Apoptosis pada Sel	27
2.8.1 Jalur Ektrinsik	27
2.8.2 Jalur Intrinsik.....	28
2.9 Sel HeLa	30
2.10 Sel Vero.....	31
2.11 Cisplatin.....	32
2.12 Metode MTT	33
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	34
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	35
3.3 Hipotesa Penelitian.....	36

BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	37
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	37
4.3 Variabel Penelitian	38
4.3.1 Variabel Bebas	38
4.3.2 Variabel Tergantung.....	38
4.3.3 Variabel Kontrol.....	38
4.3.4 Definisi Operasional.....	38
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	39
4.4.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Tanaman Bunga Matahari	39
4.4.2 Alat dan Bahan Uji Aktivitas Antikanker	40
4.5 Cara Kerja.....	42
4.5.1 Determinasi Tanaman.....	43
4.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Tanaman Bunga Matahari.....	43
4.5.3 Uji KLT	46
4.5.4 Uji Aktivitas Antikanker	47
4.6 Analisis Data	56
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Determinasi <i>Helianthus annuus</i>	54
5.2 Hasil Analisis Moisture Content dan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Akar, Batang, Biji dan Daun <i>Helianthus annuus</i>	58
5.3 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak <i>Helianthus annuus</i>	60
5.4 Hasil Aktivitas Antikanker pada Sel Kanker HeLa dan Toksisitas pada Sel Vero	63
5.4.1 Hasil perhitungan Sel dan Penanaman	62
5.4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar, Batang, Biji dan Daun <i>Helianthus annuus</i> terhadap Sel HeLa dan Sel Vero	65
5.4.3 Pengaruh Pemberian MTT pada Sel HeLa dan Sel Vero	67
5.5 Hasil Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Analisis Data pada Sel HeLa dan Sel Vero Setelah Pembacaan Absorbansi	69
5.6 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Al-Quran	85
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan.....	87
6.2 Saran	88
DAFTAR PUSTAKA	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Bunga Matahari	12
Gambar 2.2 <i>Pathway</i> Terjadinya Kanker Serviks..	19
Gambar 2.3 Siklus pada Sel Normal	24
Gambar 2.4 Jalur intrinsik dan ekstrinsik apoptosis.....	26
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	32
Gambar 4.1 Bagan Cara Kerja.....	40
Gambar 5.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis	57
Gambar 5.2 Sel HeLa	60
Gambar 5.3 Sel Vero	61
Gambar 5.4 Sel HeLa yang telah diberi treatmen	63
Gambar 5.5 Sel Vero yang telah diberi treatmen	64
Gambar 5.6 Perbandingan Formazan Sel HeLa yang telah diberi treatmen	68
Gambar 5.7 Perbandingan Formazan Sel Vero yang telah diberi treatmen	69
Gambar 5.8 Grafik Viabilitas Sel Hela.....	70
Gambar 5.9 Grafik Viabilitas Sel Vero	77

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid	14
Tabel 2.2 Struktur Kimia Senyawa Sesquiterpen Lakton	16
Tabel 2.3 Stadium Terjadinya kanker Serviks	24
Tabel 4.1 Pemetaan Uji sitotoksik pada bunga, daun, akar dan batanag tanaman bunga matahari pada plate 96 well.....	50
Tabel 4.2 Pemetaan Uji toksisitas pada bunga, daun, akar dan batanag tanaman bunga matahari pada plate 96 well.....	52
Tabel 4.3 Pemetaan <i>plate</i> Uji sitotoksik pada Sel HeLa dan toksisitaas Sel Vero terhadap crisplatin.....	54
Tabel 5.1 Hasil Uji <i>Moisture Content</i>	59
Tabel 5.2 Hasil Ekstraksi.....	60
Tabel 5.3 Hasil KLT Akar.....	61
Tabel 5.4 Hasil KLT Batang	61
Tabel 5.5 Hasil KLT Biji.....	62
Tabel 5.6 Hasil KLT Daun	62
Tabel 5.7 Persen Viabilitas Sel HeLa.....	70
Tabel 5.8 Persen Viabilitas Cisplatin	71
Tabel 5.9 Nilai IC_{50} <i>Helianthus annuus</i>	72
Tabel 5.10 Analisis Data IC_{50}	74
Tabel 5.11 Persen Viabilitas Sel Vero.....	76
Tabel 5.12 Persen Viabilitas Cisplatin	77
Tabel 5.13 Nilai LC_{50} <i>Helianthus annuus</i>	78
Tabel 5.14 Analisis Data LC_{50}	79
Tabel 5.15 Nilai Selektivitas Index	82
Tabel 5.16 Analisis Data Selektivitas Index	84

DAFTAR SINGKATAN

ATP	= <i>Adenosine Triphosphate</i>
CCRC	= <i>Cancer Chemoprevention Research Center</i>
Cdk	= <i>Cyclin-dependent kinases</i>
CIN	= <i>cervical intra-epithelial neoplasia</i>
CKI	= <i>Cyclin-dependent kinase inhibitor</i>
DISC	= <i>Death-Inducing Signaling Complex</i>
DMSO	= <i>Dimetil Sulfoksida</i>
ELISA	= <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
HPV	= <i>Human Pappiloma Virus</i>
IC ₅₀	= <i>Inhibiton Consentration</i>
KLT	= <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
LC ₅₀	= <i>Lethal Consentration</i>
MC	= <i>Moisture Content</i>
MDR	= <i>Multi Drug Resistance</i>
MTT	= <i>((3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid)</i>
PPM	= <i>Part permillion</i>
RPMI	= <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	= <i>Sodium deodesil Sulfate</i>
SEM	= <i>Scaning Electron Microscopy</i>
SI	= <i>Selektivitas indeks</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UAE	= <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen

Lampiran 3. Perhitungan Perhitungan IC_{50} dengan *probit* pada program SPSS

Lampiran 4. Perhitungan LC_{50} dengan *probit* Pada Program SPSS

Lampiran 5. Analisis Data

Lampiran 6. Determinasi Tanaman *Helianthus annuus*

Lampiran 7. Hasil Uji *Moisture Content*

Lampiran 8. Surat *Ethical clearence*

Abstrak

Ulfah, Jauza. 2018 AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIKS (HeLa) DAN TOKSISITAS SEL NORMAL (VERO) DARI BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN BIJI (*Helianthus annuus* L.).

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

Drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort.

Penggunaan agen kemoterapi dapat menyebabkan terjadinya *Multi Drug Resistance* (MDR) pada penderita kanker. Sehingga saat ini mulai digunakan alternatif dari bahan aktif tumbuhan, salah satunya tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*). Pada bagian masing-masing organ *Helianthus annuus* memiliki perbedaan metabolit sekunder. Perbedaan metabolit sekunder dapat menyebabkan terjadinya perbedaan sitotoksik. Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa, profiling IC_{50} , LC_{50} dan Selektifitas Indeks dari ekstrak akar, batang, biji dan daun tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*). Ekstraksi senyawa aktif pada penelitian ini menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak diuji fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksana:etil asetat (7:3). Selanjutnya, dilakukan uji sitotoksik pada sel HeLa dan uji toksisitas pada sel Vero menggunakan metode MTT. Perbandingan hasil uji toksisitas dan sitotoksik menghasilkan nilai selektivitas indeks. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 96% akar dan batang *Helianthus annuus* mengandung steroid dan terpenoid. Ekstrak etanol 96% biji *Helianthus annuus* mengandung steroid. Ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* positif mengandung terpenoid. Nilai IC_{50} pada ekstrak etanol 96% akar dan batang >1000. Nilai IC_{50} pada ekstrak biji dan daun berturut-turut $153,76 \pm 7,73$ dan $126,83 \pm 12,61$. Nilai selektivitas indeks pada ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun berturut-turut $1,163 \pm 0,271$; $0,763 \pm 0,552$; $3,770 \pm 0,155$ dan $5,646 \pm 0,980$. Ekstrak etanol 96% biji dan daun *Helianthus annuus* memiliki potensi aktivitas antikanker.

Kata Kunci : Bunga Matahari (*Helianthus annuus*), aktivitas, antikanker, sel HeLa dan Sel vero

ABSTRACT

Ulfah, Jauza. ANTICANCER ACTIVITY OF CERVICAL CANCER CELL (HeLa) AND THE TOXICITY OF NORMAL CELLS (VERO) FROM PART OF ROOTS, STEMS, LEAVES AND SEEDS (*Helianthus annuus L.*).

Advisor : (1) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
(2) Drg. Arif Suryadinata, Sp.Ort

Chemotherapeutic agents can lead to *Multi Drug Resistance* (MDR) in cancer patients. As a result, an alternative medicine from active substances of plants is preferred to use to cure cancer. One of them is the sunflower plant (*Helianthus annuus*). Each part of the organ in *Helianthus annuus* has a secondary metabolite distinction. This difference can lead to cytotoxic change. The purpose of this research is to know the class of compounds, profiling IC₅₀, LC₅₀ and the Selectivity Index of root extracts, stems, seeds and leaves of sunflower plants (*Helianthus annuus*). The extraction of active compounds in this study was done by using the method known as *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) with 96% ethanol solvent. The extract was phytochemically tested by using thin layer chromatography. The mobile phase used is n-hexane: ethyl acetate (7:3). Next, a cytotoxic test was conducted on HeLa cells and toxicity test on Vero cells using the MTT method. The comparison of toxicity and cytotoxic test results yields an index selectivity value. Phytochemical results showed 96% ethanol extract of roots and stems in *Helianthus annuus* contains steroids and terpenoids. Ethanol extract 96% of *Helianthus annuus* seeds contains steroids. Ethanol extract 96% of *Helianthus annuus* leaves positively contains terpenoids. The value of IC₅₀ on ethanol extract 96% root and stem > 1000. The value of IC₅₀ in seed and leaf extract was $153,76 \pm 7,73$ and $126,83 \pm 12,61$, respectively. The index selectivity value of 96% ethanol extract of roots, stems, seeds and leaves were $1,163 \pm 0,271$; $0,763 \pm 0,552$; $3,770 \pm 0,155$ and $5,646 \pm 0,980$ subsequently. The ethanol extract of 96% seeds and leaves of *Helianthus annuus* has a potential anticancer activity.

Keywords : Sunflower (*Helianthus annuus*), activity, anticancer, HeLa cell and Vero cell

مستخلص البحث

ألفى، جوزى ٢٠١٨. نشاط مضادة السرطان في خلايا سرطان عنق الرحم (*HeLa*) وسمية خلايا طبيعية (*VERO*) بأجزاء نبات دوّار الشمس (*Helianthus annuus L.*) الجذور، والجذوع، والأوراق والبذور. البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. رائحة المطيعة الماجستير. المشرف الثاني: د. عارف سورباديناتا الماجستير.

إن استخدام العلاج الكيميائي قد يؤدي إلى وقوع مقاومة الأدوية (*Multi Drug Resistance*) في المصابين بالسرطان. لذلك، بدأ الآن استخدام الطريقة البديلة المصنوعة من المواد النباتية، منها نبات دوّار الشمس (*Helianthus annuus L.*) في كل أجزاء نبات دوّار الشمس يمتلك الفرق في المستقبلات الثانوية. والفرق في المستقبلات الثانوية يؤدي إلى وجود الفرق في السامة للخلايا (*sitotoksik*). الهدف من هذا البحث هو تحديد مركب عضوي، وصيغة كيميائية من IC_{50} و LC_{50} ، وكثافة المؤشر الانتقائي من مستخرجات الجذور، والجذوع، والبذور وأوراق نبات دوّار الشمس. استخراج المركبات النشطة في هذا البحث باستخدام طريقة الاستخراج بمساعدة الموجة فوق الصوتية (*Ultrasonic Assisted Extraction*) وبالإيثانول ٩٦%. وقامت الباحثة باختبار كيميائيات نباتية لتلك المستخرجات بمساعدة استشراب / التفريق اللوني بالطبقة الرقيقة. المكون المتحرك الذي استخدمته الباحثة هو هكسان (*n-heksana*) مع أسيتات الإيثيل (*etil asetat*) بمقدار ٧:٣. ثم قامت الباحثة باختبار السامة للخلايا على خلايا هيللا واختبار السمية على خلايا فيرو باستخدام طريقة *MTT*. المقارنة بين نتائج اختبار السمية واختبار السامة للخلايا تكون درجة المؤشر الانتقائي. وأظهرت نتائج اختبار كيميائيات نباتية أنّ مستخرجة بالإيثانول ٩٦% من جذور نبات دوّار الشمس وجذوعه تحتوي على سترويد (*steroid*) وترينويد (*terpenoid*). وأما من بذوره فتحوي على سترويد (*steroid*)، ومن أوراقه تحتوي على وترينويد (*terpenoid*). قيمة IC_{50} في المستخرجة بالإيثانول ٩٦% من الجذور والجذوع < 1000 . وأما قيمة IC_{50} في المستخرجة بالإيثانول ٩٦% من البذور والأوراق بالتوالي $103,76 \pm 7,73$ و $126,83 \pm 12,61$. وقيمة المؤشر الانتقائي في المستخرجة بالإيثانول ٩٦% من الجذور، والجذوع، والبذور والأوراق على النحو التالي 1.163 ± 0.271 ، 0.552 ± 3.770 ، 0.155 ± 0.646 و 0.980 ± 0.098 ، وبالتالي، فإن المستخرجة بالإيثانول ٩٦% من بذور نبات دوّار الشمس وأوراقه لها قدرة على نشاط مضادة السرطان. الكلمات الرئيسية: دوّار الشمس، النشاط، مضادة السرطان، خلايا هيللا وخلايا فيرو.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit mematikan nomor dua di dunia setelah penyakit jantung. Penyakit kanker memiliki angka kejadian sebesar 14.067.894 jiwa di dunia. Salah satu penyakit kanker yang sering terjadi pada wanita adalah kanker serviks yang memiliki angka kejadian sebesar 1.969.505 jiwa dan angka mortalitas sebesar 557.707 jiwa (Globocan, 2012). Penyakit kanker di Indonesia sendiri memiliki angka insidensi sebesar 1,4% atau 347.792 jiwa pada tahun 2013. Angka terjadinya kanker serviks di Indonesia sebesar 0,8% atau sekitar 98.692 jiwa (Kementrian Kesehatan RI, 2015).

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan proliferasi yang berlebihan karena adanya gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur pembelahan (*suppressor*), terjadinya mutasi gen, perubahan proto-onkogen menjadi onkogen dan proses apoptosis (Ruddon, 2007). Kanker serviks adalah kanker yang muncul pada sel epitel leher rahim yang disebabkan oleh virus *Human Pappiloma Virus* (HPV). Faktor resiko penyebab kanker serviks adalah kontrasepsi secara oral secara terus menerus, hamil pada usia muda, merokok dan bergonta-ganti pasangan *sex* (Nour, 2009).

Faktor resiko kanker serviks dapat diminimalisir dengan melakukan pap smear, tes HPV dan tes molekular. Pencegahan HPV telah berkembang dengan adanya vaksin HPV, namun vaksin HPV ketersediaanya terbatas dan harganya mahal (Nour, 2009). Pengobatan pada kanker serviks dilakukan dengan

pembedahan diikuti dengan pemberian obat-obatan tambahan yakni kemoterapi (DiPiro *et al.*, 2008). Kemoterapi dapat menimbulkan efek samping berupa lemas, mual, muntah bahkan kulit keriput, terjadi kebotakan, menyerang sel-sel yang masih sehat (normal) dan terjadinya kemoresisten pada sel kanker serviks (King *et al.*, 2006). Kegagalan terapi tersebut disebabkan karena target obat yang tidak spesifik dan meningkatkan *Multi Drug Resistance* (MDR). Hal tersebut menimbulkan kerusakan jaringan sel normal dan menimbulkan efek samping yang serius pada pasien (Gottesman *et al.*, 2002).

Hadist yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah Radhiyallahu'anhu dalam Kitab Shahih Bukhari sesungguhnya Nabi shallallahu'alaihi wasallam beliau bersabda,

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya :“Tidaklah Allah menurunkan penyakit, melainkan Ia turunkan penawar baginya (HR. Al-Bukhari no. 5678)”

Berdasarkan hadist tersebut, penyakit apapun dapat disembuhkan termasuk penyakit kanker. Tetapi terkadang manusia berobat menggunakan barang-barang yang diharamkan oleh Allah SWT. Allah SWT menegaskan bahwa barang-barang haram itu bukanlah obat melainkan dapat menyebabkan penyakit. Obat kanker yang digunakan saat ini tidaklah haram, namun memiliki efek samping untuk penderita kanker (Hassan, 1968).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) sebanyak 70-80% masyarakat dunia saat ini menggunakan herbal sebagai *healthcare* karena efek samping yang minimum (Al-jumaily *et al.*, 2013). Herbal tidak hanya sebagai

pengobatan preventif tapi bisa digunakan sebagai pengobatan kuratif (Sen *et al.*, 2017). Macam-macam tanaman herbal yang digunakan untuk kemopreventif dan kuratif pada kanker adalah *green tea*, kunyit, jahe, dan bunga matahari (Wanga *et al.*, 2012).

Bunga matahari (*Helianthus annuus*) adalah tanaman hias yang belum banyak di eksplorasi manfaatnya. Biji *Helianthus annuus* mengandung flavonoid, karbohidrat, tanin, alkaloid, saponin, fitosterol, terpen dan *fix oil*. Biji *Helianthus annuus* dapat digunakan sebagai anti-inflamasi, antipiretik, astringen, diuretik, stimulan, ekspektoran dan dapat digunakan sebagai antikanker pada pengujian *in vitro*. Telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya bahwa biji tanaman bunga matahari menunjukkan adanya aktivitas antikanker secara signifikan pada konsentrasi 83,2 dan 166,4 µg/mL. Dilaporkan pula biji bunga matahari dapat menghambat sel HeLa sebesar 27% dengan konsentrasi 0,001µM (Al-jumaily *et al.*, 2013; Dwivedi *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2006). Flavonoid dan alkaloid banyak ditemukan pada daun, akar dan batang pada *Helianthus annuus*. Senyawa flavonoid pada *Helianthus annuus* dapat memblokir degradasi gen p53. Pemblokkan ini melalui jalur interaksi onkogen E6 dengan E6-AP, sehingga tidak terbentuknya ubiquitin ligase. Ubiquitin ligase merupakan penyebab terjadinya degradasi p53. Pemblokkan ini menyebabkan meningkatkan responsif dari gen p53 yang berfungsi sebagai apoptosis (Jonathan *et al.*, 2013; Dwivedi *et al.*, 2014; Mutiah *et al.*, 2017). Ditemukan pula sesquiterpen lakton pada batang dan daun *Helianthus annuus* (Dwivedi *et al.*, 2014). Sesquiterpen lakton dapat menginaktivasi kanker serviks melalui *delay* pada *cell cycle* fase G2/M dengan waktu yang lebih lama

(Choudhari *et al.*, 2013; Kitai *et al.*, 2016). Perbedaan organ pada tanaman tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan kandungan metabolit sekunder (Indrayoni *et al.*, 2016). Perbedaan kandungan metabolit dan jumlah metabolit aktif yang terkandung juga menyebabkan terjadinya perbedaan aktivitas dan toksisitas (Hossam M., 2008).

Helianthus annuus adalah tanaman tingkat tinggi. Allah SWT menciptakan tanaman mulai dari tanaman tingkat rendah hingga tingkat tinggi. Dibalik penciptaannya terkandung banyak manfaatnya yang dapat kita ambil salah satunya adalah *Heliantus annuus* yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Karena Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidak dengan sia-sia. Hal ini, sesuai dengan Firman Allah dalam Surat Asy-Syu'araa ayat 7 :

أَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Asy-Syu'araa: 7)”

Ayat tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki berbagai mafaat, salah satunya digunakan sebagai pengobatan (Shihab , 2000). Tumbuhan memiliki berbagai macam jenis yang dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, hal ini merupakan anugerah dari Allah SWT. yang harus dimanfaatkan sebaik-baiknya, tidak terkecuali tanaman bunga matahari yang dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks.

Berdasarkan latar belakang tersebut telah dijelaskan pengobatan kanker serviks saat ini menggunakan obat kemoterapi seperti cisplatin, namun pengobatan tersebut memiliki efek samping yaitu rambut rontok, mual, kegagalan

terapi yang disebabkan *Multi Drug Resistance* (MDR) dan merusak jaringan normal. Herbal dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks dengan efek samping minimum. Salah satu kandungan bioaktif yang dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks adalah sesquiterpen lakton. Kandungan sesquiterpen lakton merupakan ciri khas dari golongan familia *asteraceae*. Kandungan sesquiterpen lakton dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks dengan pengeblokan jalur G2, sehingga menyebabkan *mitotic catastrophe*. Salah satu herbal golongan familia *asteraceae* adalah tanaman bunga matahari. *Helianthus annuus* memiliki bagian akar, batang, daun dan biji, namun memiliki kandungan metabolit yang berbeda sehingga menyebabkan aktivitas dan toksisitas yang berbeda pula. Maka perlu dilakukan penelitian secara *in vitro* untuk mengetahui aktivitas antikanker pada sel kanker serviks (sel HeLa), toksisitas pada sel normal (sel Vero) dan selektivitas indeks menggunakan ekstrak akar, biji, batang dan daun *Helianthus annuus* dengan metode 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromid) (MTT). Sel HeLa adalah sel kanker serviks akibat adanya infeksi oleh *Human Papilloma Virus* (HPV) tipe 18 (Muti'ah, 2014). Sel HeLa merupakan model *cell line* yang sering digunakan dalam bidang biomolekuler, dengan lebih dari 70.000 publikasi menggunakan sel HeLa (Jonathan *et al.*, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa nilai IC_{50} pada sel kanker serviks (sel HeLa) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker (IC_{50}) pada sel kanker serviks (sel HeLa) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*?
3. Berapa nilai LC_{50} pada sel normal (sel Vero) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*?
4. Apakah terdapat perbedaan toksisitas (LC_{50}) pada sel normal (sel Vero) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*?
5. Berapa nilai Selektivitas Index (SI) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*?
6. Apakah terdapat perbedaan selektivitas indeks (SI) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Untuk mengetahui selektivitas, aktivitas dan toksisitas antikanker bagian organ tanaman bunga matahari (akar, biji, batang dan daun) pada kanker serviks.

b. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui nilai IC_{50} pada sel kanker serviks (sel HeLa) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*.
2. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker (IC_{50}) pada sel kanker serviks (sel HeLa) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*.
3. Untuk mengetahui nilai LC_{50} pada sel normal (sel Vero) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*.
4. Untuk mengetahui perbedaan toksisitas (LC_{50}) pada sel normal (sel Vero) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*.
5. Untuk mengetahui nilai selektivitas indeks (SI) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun pada *Helianthus annuus*.
6. Untuk mengetahui perbedaan selektivitas indeks (SI) antara ekstrak etanol 96% akar, biji, batang dan daun *Helianthus annuus*.

1.4 Manfaat Penelitian

a. Teoritis

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan pengembangan ilmiah pada penyakit kanker serviks
2. Penelitian ini digunakan sebagai pengetahuan selektivitas indeks, aktivitas (IC_{50}) dan toksisitas (LC_{50}) pada ekstrak akar, batang, daun dan biji pada *Helianthus annuus*

b. Aplikatif

Penelitian ilmiah ini diharapkan dapat dilanjutkan untuk menemukan senyawa aktif sehingga dapat digunakan sebagai alternatif obat kanker serviks yang baru dengan efek samping yang minimal.

1.5 Batasan Masalah

1. Kultur sel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel HeLa untuk mengetahui aktivitas antikanker dan sel Vero untuk toksisitas.
2. Kultur sel HeLa dan sel Vero diperoleh dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM).
3. Tanaman yang digunakan adalah bagian organ (biji, akar, batang dan daun) tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*).
4. Uji yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji aktivitas dan uji toksisitas ekstrak biji, akar, daun dan batang dari tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*) menggunakan metode MTT *assay*.
5. Senyawa dapat dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik jika memiliki nilai $IC_{50} < 100$, jika memiliki nilai IC_{50} dengan rentang 100-1000 dikategorikan moderat dan jika nilai $IC_{50} > 1000$ dikategorikan tidak memiliki aktivitas sitotoksik (Prayong *et al.*, 2008).
6. Ekstrak dapat dikatakan toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm
7. Ekstrak dapat dikatakan selektif jika $SI \geq 3$ dan tidak selektif pada $SI < 3$

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manfaat Tanaman Bunga Matahari dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidaklah sia-sia mulai dari hal kecil hingga besar. penciptaan tersebut dapat bermanfaat bagi kemaslahatan apabila manusia dapat berfikir. Salah satu penciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat adalah tumbuhan. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Al-Imran ayat 190

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya : "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal" (Q.S Al-Imran:190)

Tumbuhan memiliki beraneka ragam rasa, jenis dan bentuk. Hal itu merupakan suatu kenikmatan dari Allah SWT. Setiap tumbuhan diciptakan dengan manfaat sehingga tidak ada yang sia-sia. Tumbuhan memiliki manfaat sebagai bahan makanan dan obat (Shihab, 2000). Pemanfaatan sebagai obat dapat digunakan, salah satunya yaitu menggunakan tanaman bunga matahari sebagai pengobatan. Tumbuhan memiliki banyak manfaat seperti pengobatan, namun dalam hal ini harus dipelajari terlebih dahulu sejauh mana manfaatnya karena Allah SWT memberikan kita akal untuk berfikir, hal ini sebagaimana firman Allah dalam QS. Al-Jasyiah Ayat 13:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿١٣﴾

Artinya :”Dan dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir (QS. Al-Jasiyah:13)”

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menundukkan langit dan bumi sebagai kecintaan Allah SWT terhadap umatnya. Dalam ayat tersebut Allah berfirman agar manusia hendaknya berfikir, sehingga dapat memanfaatkan alam sebaik-baiknya. Sehingga kita dapat menjadi insan ulul albab dan hendaknya memiliki pemahaman secara mendalam dengan berfikir terhadap apa yang telah diberikan oleh Allah SWT (Shihab, 2002). Sebagai manusia hendaknya kita berfikir cara memanfaatkan tanaman bunga matahari. Salah satunya adalah tanaman bunga matahari dapat digunakan sebagai obat kanker serviks.

Kanker merupakan penyakit mematikan namun, disebutkan dalam Kitab Shahih al Bukhari dan Muslim dari ‘Atha, dari Abu Hurairah, ia berkata bahwa Rasulullah SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاۤءٍ دَوّٰءٌ ۗ فَاِذَا اُصِيبَ دَوّٰءُ الدّٰءِ بَرّٰٓءًا بِاِذْنِ اللّٰهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya :“Setiap penyakit ada obatnya. Maka bila obat itu mengenai penyakit akan sembuh dengan izin Allah Azza wa Jalla (HR. Bukhori-Muslim).”

Hadist tersebut menunjukkan bahwa setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT terdapat obat yang dapat menyembuhkan, namun bukan dari barang yang haram. Herbal merupakan pengobatan yang bukan dari barang haram. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai herbal dalah tanaman bunga matahari. Tanaman bunga matahari memiliki kandungan sesquiterpen lakton yang dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks. Meskipun kanker serviks

merupakan penyakit yang memiliki prevalensi yang tinggi dan susah disembuhkan pasti akan ada obatnya, salah satunya adalah dengan pengobatan menggunakan tanaman bunga matahari (Hassan, 1968; Dwivedi *et al.*, 2014).

2.2. Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Bunga Matahari

Bunga matahari adalah salah satu bunga yang termasuk kedalam bunga hias, bunga ini berasal dari Meksiko dan Peru, Amerika tengah. Bunga matahari ini dibudidayakan pertama kalinya pada abad ke -18 di benua Amerika, dan menyebar luas ke berbagai daerah terutamanya Indonesia (Lillian *et al.*, 2016). Nama lain tanaman bunga matahari adalah *Chrysanthemum peruvianum*, *Helianthus annuus subspecies jaegeri*, *Helianthus annuus var. lenticularis*, *Helianthus annuus var. macrocarpus*, *Helianthus annuus var. taxanus*, *Helianthus aridus*, *Helianthus lenticularis*.

Klasifikasi tanaman bunga matahari sebagai berikut: (Dwivedi *et al.*, 2014).

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliopyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Genus : *Helianthus*

Spesies : *Helianthus annuus* L.

Morfologi pada *Helianthus annuus* yaitu memiliki bentuk kokoh dengan ketinggian hingga 1-3 meter. Akar *Helianthus annuus* berserat dan berjenis akar

lateral. Batang yang berdiri tegak lurus (monopodial), umumnya memiliki tinggi 0,3-5 meter. Bagian batangnya terdapat bulu halus, bentuk batangnya bulat dan bercabang. Daunnya bertangkai panjang saling berhadapan atau selang seling dan daun *Helianthus annuus* memiliki bulu halus. Daun *Helianthus annuus* memiliki panjang 4-20 cm dengan lebar 3-15 cm. Biji *Helianthus annuus* memiliki kulit yang agak keras, berbentuk pipih memanjang (bulat telur) dengan panjang 3-6 mm, warna putih keabuan atau hitam. Bunga matahari merupakan bunga majemuk yang tersusun dari ratusan bunga kecil dengan panjang 5-8 mm pada satu bonggolnya. Bunga matahari memiliki warna kelopak kuning terang dengan panjang 1,5-4 cm. Ciri khas dari bunga ini setiap berbunga akan mengikuti arah cahaya matahari (suriana *et al.*, 2013; Dwivedi *et al.*, 2014)



Gambar 2.1 Morfologi *Helianthus annuus* (Dwivedi *et al.*, 2014)

2.3 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas Bunga Matahari

Kandungan kimia biji *Helianthus annuus* yang telah diisolasi menggunakan pelarut metanol dilaporkan mengandung karbohidrat, alkaloid, tannin, flavonoid, fitosterol, steroid, *fixed oil* dan terpen (Subashini *et.al.*, 2012). Manfaat dari biji *Helianthus annuus* adalah sebagai antirematik, sedatif, antimalaria, *ulcer peptic* (Dwivedi *et al.*, 2014). Biji *Helianthus annuus* telah

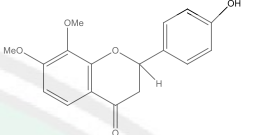
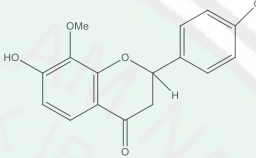
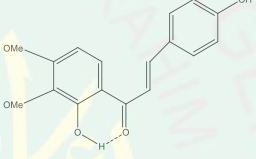
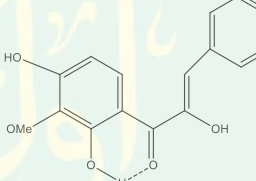
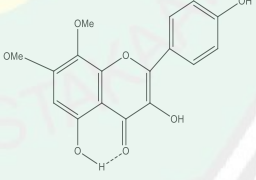
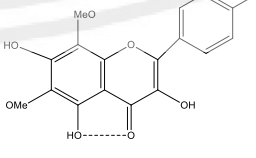
diteliti dapat dijadikan sebagai pengobatan tradisional antikanker (Al-jumaily *et al.*, 2013). Biji *Helianthus annuus* menunjukkan adanya aktivitas secara signifikan antikanker pada konsentrasi 83,2 dan 166,4 ppm (Al-jumaily *et al.*, 2013). Dilaporkan pula biji *Helianthus annuus* dapat menghambat sel HeLa sebesar 27% dengan konsentrasi 0,001 μ M (Zhang *et al.*, 2006).

Daun pada *Helianthus annuus* mengandung beberapa senyawa seperti karbohidrat, saponin dan alkaloid. Dilaporkan pada daun *Helianthus annuus* dengan ekstrak etanol memiliki senyawa kandungan dengan jumlah yang besar yaitu flavonoid. Daunnya memiliki manfaat sebagai antidiare dan antihistamin (Dwivedi *et al.*, 2015). Penelitian yang lainnya juga menemukan pada daun dan batang *Helianthus annuus* mengandung sesquiterpen laktone (Heller *et al.*, 2015). Sedangkan, batang dan akar tanaman dilaporkan mengandung senyawa flavonoid. Kandungan senyawa yang terbesar dari flavonoid yang tertinggi berturut-turut adalah akar dan batang (Kamal, 2011).

1. Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari golongan fenol. Flavonoid memiliki kerangka 15 karbon pada kerangka dasar dan memiliki cincin benzene (C₆) yang terikat pada propena (C₃). Susunan flavonoid adalah C₆-C₃-C₆ (Bashir *et al.*, 2015). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman bunga matahari sebagai berikut.

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid

No	Senyawa	Struktur Kimia	Sumber
1.	<i>Heliannones B</i> (flavanon)		(Macias <i>et al.</i> , 1996)
2.	<i>Heliannones C</i> (flavanon)		(Macias <i>et al.</i> , 1996)
3.	<i>Heliannones A</i> (kalkon)		(Macias <i>et al.</i> , 1996)
4.	<i>Kukulkanin</i> (kalkon)		(Macias <i>et al.</i> , 1996)
5.	<i>Tambulin</i> (flavonol)		(Macias <i>et al.</i> , 1996)
6.	<i>Nevadensin</i>		(Brahmachari, 2009)

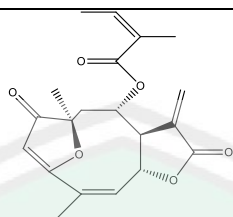
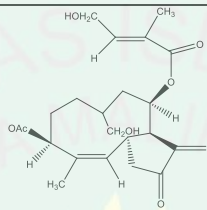
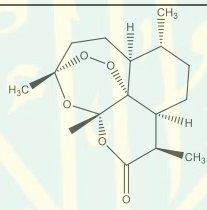
Flavonoid pada tanaman bunga matahari digunakan sebagai antiinflamasi, antioksidan dan antitumor. Dilaporkan pada bagian biji tanaman bunga matahari

mengandung flavonoid yang dapat digunakan sebagai antikanker, antidiabetes, antihipertensi dan antibakteri (Guo *et al.*, 2017). Salah satu golongan dari senyawa flavonoid adalah *chalcone*, beberapa manfaat *chalcone* terutama untuk pengobatan kanker. Cara kerja *chalcone* sebagai antikanker dengan memblok degradasi dari gen p53 dari onkogen E6. Sehingga apabila terjadi pengeblokan di onkogen E6 maka degradasi gen p53 tidak terjadi. Hasil dari proses ini adalah terjadinya apoptosis (Mahapatra *et al.*, 2015).

2. Sesquiterpen Lakton

Sesquiterpen memiliki rantai kimia yang berasal dari tiga isoprena. Rumus kimia sesquiterpen adalah $C_{15}H_{22}$. Sesquiterpen di dalam tumbuhan biasanya disintesis pada retikulum endoplasma. Sesquiterpen terdapat dua bentuk yaitu bentuk siklik dan asiklik dengan kerangka naftalen (Chadwick *et al.*, 2013). Dilaporkan senyawa sesquiterpen yang paling banyak pada bagian daun tanaman matahari adalah *artemisin*, *heliangolide* dan *eupalinolide c* (Mutiah, et al., 2017). Pada batang tanaman matahari ditemukan sesquiterpen berupa *heliangolide* (Dwivedi, et al., 2014).

Tabel 2.2 Struktur Kimia Sesquiterpen Lakton

No	Senyawa	Rantai Kimia	Sumber
1.	<i>Heliangolide</i>		(Dwivedi <i>et al.</i> , 2014)
2.	<i>Eupalinolide c</i>		(Yang <i>et al.</i> , 2008)
3	<i>Artemisinin</i>		(Nieuwerburgh <i>et al.</i> , 2006)

Sesquiterpen lakton yang berasal dari famili *astereceae* memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia khususnya pada pengobatan. Artemisin adalah salah satu dari golongan sesquiterpen. Artemisin pada tanaman bunga matahari dapat digunakan sebagai antimalaria (Mutiah *et al.*, 2017; Chadwick *et al.*, 2013). Sesquiterpen lakton memiliki bermacam-macam manfaat yaitu sebagai antimalaria, antiinflamasi, antitumor dan pengobatan pada kardiovaskuler. Jalur sesquiterpen lakton sebagai antikanker adalah melalui apoptosis dan *delay* pada siklus sel tepatnya pada fase G2 dan M. Pada fase mitosis *delay* tersebut terjadi antara fase metase hingga telofase. Hasil dari *delay* tersebut adalah terjadiya *mitotic casthrotope* (Costantino *et al.*, 2013; Kitai *et al.*, 2016).

2.4 Metode Pemisahan

2.4.1 Teknik Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut pada komponen bahan. Persyaratan untuk ekstraksi adalah ukuran partikel yang lebih kecil dari bahan awal karena semakin kecil ukuran partikel bahan semakin mudah terbasahi oleh pelarut, sehingga terjadinya ekstraksi semakin besar. Serbuk dengan ukuran yang kecil kemungkinan akan terjadinya sel-sel yang rusak, sehingga memudahkan pelarut untuk pengambilan langsung kandungan pada bahan (Syukri, 1999).

Ultrasonik merupakan salah satu inovasi teknologi ekstraksi dengan mengembangkan metode yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan gelombang frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Ekstraksi menggunakan ultrasonik merupakan metode yang paling optimal untuk mengesktraksi suatu bahan karena memperoleh kandungan yang tinggi dalam waktu yang relatif singkat (Rahmawati *et al.*, 2013). Pada pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) metode ultrasonik terbukti dapat merusak sel-sel pada bahan sedangkan pada maserasi tidak merusak sel. Rusaknya sel-sel pada bahan merupakan hal yang positif karena dengan meningkatnya sel yang rusak pada bahan akan meningkatkan pula ambilan kandungan bioaktif dari bahan menuju ke pelarut (Altemimi *et al.*, 2016).

2.4.2 Pemekatan Ekstrak dengan *Rotary Evaporator*

Ekstrak kasar yang telah diperoleh dari proses ekstraksi dipekatan menggunakan *rotary evaporator* dengan tekanan dan temperatur yang sesuai dengan titik didih. Proses rotav biasanya berakhir sampai ekstrak kental sesuai dengan konsistensinya. *Rotary evaporator* memiliki prinsip yang hampir sama dengan destilasi. Prinsip *Rotary evaporator* adalah penurunan tekanan uap pada labu alas bulat sehingga pelarut lebih cepat menguap di bawah titik didihnya. Oleh karena itu, pelarut menguap, namun senyawa yang larut tidak ikut menguap dan tidak rusak oleh adanya suhu yang tinggi. Penguapan pelarut dibantu oleh adanya pemanasan pada labu dan penurunan tekanan pada labu yang dipercepat pemutarannya. Uap hasil pemanasan menuju kondensor yang telah dialiri air dingin sehingga uap pelarut tersebut menguap, sehingga pelarut akan kembali menjadi cairan yang di tampung oleh labu penampung (Bintang, 2010).

2.5 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa Fitokimia adalah senyawa golongan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan yang memiliki fungsi tertentu bagi manusia maupun pada tumbuhan itu sendiri. Identifikasi senyawa tersebut dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dikembangkan oleh Izmaioloff dan Schraiber pada tahun 1938. Kromatografi lapis tipis dalam penggunaannya mudah dan murah. Identifikasi senyawa menggunakan KLT memiliki titik kritis pada pemilihan fase diam dan fase gerak. Fase diam yang sering digunakan dalam KLT

merupakan penjerap berukuran diameter 10-30 μm . Semakin kecil partikel fase diam yang digunakan semakin baik kinerja KLT. Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika dan alumina (Sudjadi, 2007; Rahmawati *et al.*, 2013).

Kromatografi lapis tipis didukung penggunaan fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler. Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan cara optimasi. Sistem yang paling sederhana pemilihan fase gerak adalah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut dapat mudah diatur, sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Sudjadi, 2007).

2.6 Kanker Serviks

2.6.1 Kanker

Sel normal adalah sel yang mengalami regulasi seperti proliferasi dan difrensiasi. Sel kanker tidak mengalami regulasi sel justru membelah diri dan tumbuh secara terus menerus hingga tidak terkontrol (Cooper *et al.*, 2007). Tingkat kejadian kanker terkait dengan perilaku hidup, lingkungan tertentu sehingga terjadinya pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Tahapan kanker adalah sel-sel yang tumbuh tidak terkendali, kemudian menyerang jaringan sekitarnya dan bermetastasis (Ruddon, 2007).

Tahapan perubahan sel normal menjadi sel kanker melalui tiga tahapan yaitu adalah inisiasi, promosi dan progresi. Tahapan inisiasi adalah sel normal terpapar oleh senyawa penyebab kanker (karsinogenik). Agen karsinogenik yaitu radiasi, bahan-bahan kimia dan virus (Cooper *et al.*, 2007). Mekanisme

tahapan inisiasi adalah zat-zat karsinogenik dan zat inisiator diaktivasi oleh enzim tertentu sehingga menyebabkan mutasi pada gen, sehingga DNA salah menterjemahkan dan sel memperbanyak diri secara terus menerus hingga tidak terkontrol. Tahapan promosi adalah tahapan terjadinya kesalahan DNA pada saat pembelahan sel karena terpapar karsinogen. Mitogen adalah pemicu terjadinya tahap proliferasi pada sel dan ekspansi klonal pada fase promosi (Muti'ah, 2014).

Tahapan progresif merupakan proses selanjutnya dan hasil dari tahap promosi. Proliferasi sel yang disebabkan oleh agen promosi menyebabkan adanya kerusakan sel. Perusakan pada sel diakibatkan karsinogenik pada tahapan inisiasi, kerusakan sel dapat memperluas diri secara berkoloni. Sel-sel yang dapat memperluas diri dapat mengakibatkan kanker menjadi ganas (Ruddon, 2007).

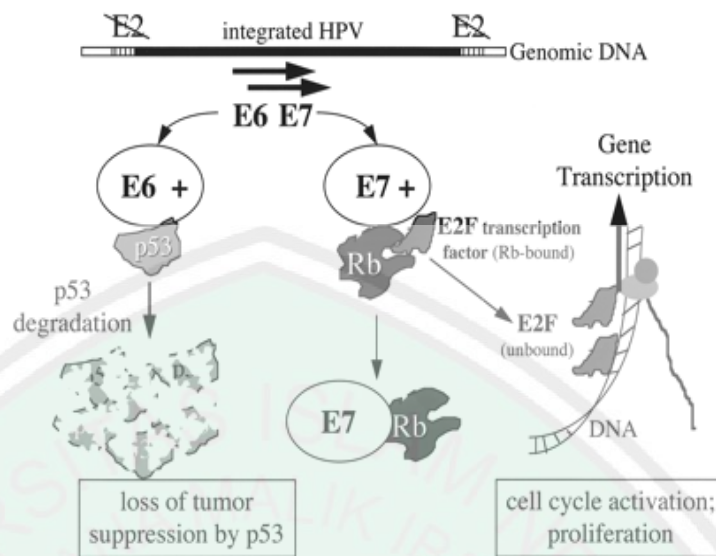
2.6.2 Mekanisme Molekuler Pembentukan Kanker serviks

Kanker serviks adalah kanker yang terjadi di leher rahim. Kanker serviks disebabkan oleh adanya virus *Human Pappiloma Virus* (HPV) (Choudhari *et al.*, 2013). Bentuk virion HPV adalah isosahedral dengan diameter 55 membentuk *double strand*. HPV memiliki tipe yang berbeda-beda, hal ini berdasarkan jaringan yang diinfeksi. HPV yang menginfeksi jaringan kutan contohnya adalah jenis HPV-5 dan HPV-8. HPV-5 dan HPV-8 dapat menyebabkan terjadinya kanker kulit. HPV yang menginfeksi pada jaringan mukosa dibedakan berdasarkan *low risk* dan *high risk*. HPV berdasarkan *low risk* adalah adanya tumor jinak seperti kutil kelamin

contohnya HPV-6 dan HPV-11. HPV berdasarkan *high risk* dapat menyebabkan kanker salah satunya adalah kanker serviks, vagina, dan anus contohnya adalah HPV-16, HPV-18 dan HPV-31. Sekitar 80% jenis HPV *high risk* seperti HPV-16 dan HPV-18 dapat menyebabkan terjadinya kanker serviks (Chung *et al.*, 2010)

HPV-18 dan HPV-16 merupakan virus DNA yang memiliki onkogen E6 dan E7 (Choudhari *et al.*, 2013). Proses terjadinya kanker serviks dimulai dengan E6 berikatan dengan *E6-Associated Protein* (E6-AP) untuk membentuk ubiquitin ligase (E3), sehingga dapat menyebabkan terjadinya degradasi pada gen p53. Akibat dari terdegradasinya gen p53 adalah tidak terjadinya apoptosis (Jimenez *et al.*, 2013).

Sel normal pada dasarnya terjadi pengikatan protein retinoblastoma (pRb) dengan E2F yang berfungsi sebagai penekan transkripsi gen pada *cell cycle* saat akan memasuki G1 menuju ke fase S. Pengikatan antara E7 dengan pRb menyebabkan terjadinya inaktivasi pada E7-pRb. Sedangkan E2F akan mengikat DNA untuk memberikan signal proliferasi secara terus menerus. (Choudhari *et al.*, 2013; Jimenez *et al.*, 2013). Pathway antara pRb dan p53 saling berhubungan, hal ini bermula pada fosforilasi pada p105Rb yang melepaskan kompleks Rb/E2F yang diperantarai cyclin-dependent kinase akan dihambat oleh gen p21. Gen P21 merupakan target transkripsi dari p53 (Horner *et al.*, 2003).



Gambar 2.2 Pathway Terjadinya Kanker Serviks (Jimenez *et al.*, 2013)

2.6.3 Patofisiologi Kanker Serviks

Invansi kanker pertama kali dilakukan oleh HPV yang menginfeksi intraepitel pada mukosa. Prekanker merupakan berkembangnya sel-sel leher rahim yang abnormal biasanya disebut *cervical intra-epithelial neoplasia* (CIN). CIN apabila tidak ditangani lebih lanjut dapat berkembang menjadi kanker. Namun, tidak semua wanita yang memiliki CIN akan menderita kanker. Pertumbuhan kanker serviks dibutuhkan beberapa tahun sejak sel-sel leher rahim mengalami perubahan. Pertumbuhan sel normal menjadi sel kanker dibutuhkan waktu bertahun-tahun (Nour, 2009).

Perkembangan kanker serviks meliputi displasia ringan (5 tahun), displasia sedang (3 tahun), displasia berat (1 tahun) sampai menjadi kanker stadium 0. Tahap pra kanker ini sering tidak menimbulkan gejala (92%), selanjutnya masuk tahap kanker invasif berupa kanker stadium I sampai stadium

IV (CCRC, 2009). Perkembangan kanker leher rahim dibagi menjadi 5 stadium berdasarkan ukuran tumor, kedalaman penetrasi pada leher rahim dan penyebaran kanker di dalam maupun diluar leher rahim. Stadium-stadium tersebut adalah sebagai berikut : (KeMenKes RI, 2010).



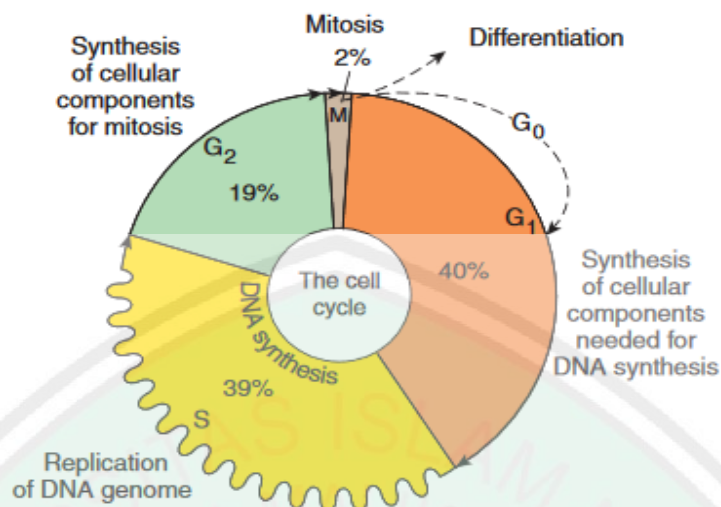
Tabel 2.3 Stadium Terjadinya kanker Serviks

Stadium	0	Terjadi pertumbuhan kanker (karsinoma) pada jaringan epitel leher Rahim
Stadium	I	Pertumbuhan kanker masih terbatas pada leher rahim
	Ia	Secara mikroskopis, kanker telah menginvasi jaringan (terjadi penetrasi). Ukuran invasi sel kanker : kedalaman ≤ 5 mm, sedangkan lebarnya ≤ 7 mm
	Ia1	Ukuran invasi mempunyai kedalaman ≤ 3 mm dan lebar ≤ 7 mm
	Ia2	Kedalaman invasi > 3 mm dan ≤ 5 mm, lebar ≤ 7 mm
	Ib	Terjadi lesi yang ukurannya lebih besar dari lesi yang terjadi pada stadium Ia
	Ib1	Ukuran tumor ≤ 4 cm
	Ib2	Tumor ≥ 4 cm
Stadium	II	Karsinoma meluas sampai keluar leher rahim tetapi belum sampai dinding pelvis; karsinoma menyerang vagina tapi belum mencapai 1/3 vagina bagian bawah
	IIa	Belum ada parameter yang jelas
	IIb	Parameter jelas
Stadium	III	Karsinoma meluas ke dinding pelvis; pada pemeriksaan rektal, tidak terlihat adanya ruang kosong antara tumor dan dinding pelvis; tumor menyerang 1/3 vagina bagian bawah; pada semua kasus juga ditemukan adanya hidronefrosis atau ginjal tidak berfungsi
	IIIa	Kanker tidak menjalar ke dinding pelvis, tapi menyerang 1/3 vagina bagian bawah
	IIIb	Menjalar ke dinding pelvis, terjadi hidronefrosis atau kegagalan fungsi ginjal, atau keduanya
Stadium	IV	Karsinoma meluas melewati pelvis atau mukosa kandung kemih atau rektal
	IVa	Menyebar ke organ yang berdekatan
	IVb	Menyebar ke organ yang jauh

2.7 Siklus Sel

Siklus sel merupakan proses vital dalam kehidupan setiap organisme. Secara normal, pada siklus sel akan terjadi pembelahan sel. Pembelahan sel terdiri dari 2 proses utama, yaitu replikasi DNA dan pembelahan sel. Secara umum, pembelahan sel terbagi menjadi 2 tahap, yaitu mitosis (M) (pembelahan 1 sel menjadi 2 sel) dan interfase (proses di antara 2 mitosis). Interfase terdiri dari fase gap 1 (G1), sintesis DNA (S) dan gap 2 (G2). Setiap tahap dalam siklus sel dikontrol secara ketat oleh regulator siklus sel, yaitu *cyclin*, *Cyclin-dependent kinases* (Cdk), *Cyclin-dependent kinase inhibitor* (CKI) (Vermeulen *et al.*, 2003

Terjadinya regulasi pada daur sel dilakukan oleh gen *retinoblastoma* dan gen p53. Protein p53 memiliki fungsi sebagai mencegah terjadinya replikasi pada DNA yang telah terjadi kerusakan pada sel normal sehingga mendorong terjadinya apoptosis. Protein pRb memiliki penghambat aktivitas faktor transkripsi yaitu E2F. Cara kerja E2f adalah menginduksi gen-gen transkripsi agar mengekspresikan protein-protein yang diperlukan untuk kelangsungan proses transisi sel dari fase G1 menuju ke fase S. Protein Rb yang aktif akan mengikat E2F. Protein Rb tidak aktif disebabkan oleh terjadinya fosforilasi oleh Ckd-cyc yang mengakibatkan protein E2F terlepas dan menginduksi gen transkripsi (Muti'ah, 2014).



Gambar 2.3 Siklus pada Sel Normal (Vermeulen *et al.*, 2003)

Rangsangan agen perusak DNA adalah radiasi, UV, obat kemoterapi. P53 mengenali ketika sel telah mengalami kerusakan DNA dan menghentikan siklus sel (*cell cycle arrest*) sehingga sel dapat memperbaiki kerusakan (*repair*), penghentian sintesis DNA dan dalam banyak kasus, hanya memberitahu sel untuk bunuh diri (apoptosis). Peristiwa apoptosis dapat melewati mekanisme ekspresi dari penurunan ekspresi protein Bcl-2 dan peningkatan dari Bax. Mekanisme kerja dari Bcl-2 adalah dengan cara melawan faktor induksi apoptosis yaitu FasL. FasL ini biasanya diekspresikan jika sel dalam keadaan stress. Selain itu, cara menstimulasi transkripsi gen seperti p21 dan Bax sehingga siklus sel berhenti atau terjadi apoptosis (Siu *et al.*, 1999; Muti'ah, 2014).

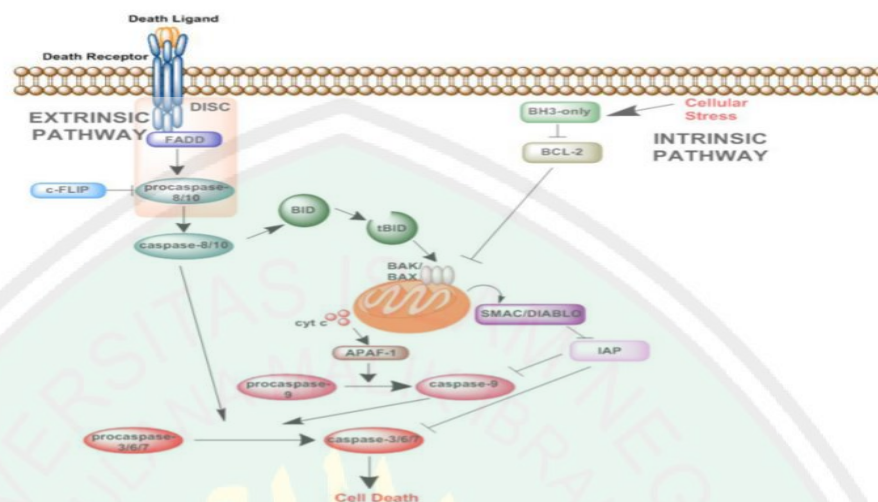
2.8 Apoptosis pada Sel

Apoptosis adalah bentuk kematian sel terprogram di mana sel mengaktifkan program bunuh diri secara intrinsik untuk menghancurkan diri sendiri. Proses ini memainkan peran utama dalam pengembangan dan homeostasis jaringan, dan regulasi apoptosis yang abnormal dikaitkan dengan berbagai penyakit manusia (Pérez-Garijo *et al.*, 2013). Sinyal apoptosis bisa terjadi secara intraseluler dan ekstraseluler. Jalur ekstrinsik (ekstraseluler) diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*death receptor*) sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria dalam sel (Saralamma *et al.*, 2015).

2.8.1 Jalur Ekstrinsik

Peristiwa apoptosis jalur ekstrinsik dimulai dari adanya pelepasan molekul signal yang disebut ligan contohnya *Fatty acid synthaseligand* (FasL) (Ayllón *et al.*, 2015). Contoh ligan-ligan yang lainnya yakni TNF, TRAIL/APO2L/TNFSF10. Death receptor yang terletak di permukaan sel adalah famili reseptor *Tumor Necrosis Factor* (TNF), yang meliputi TNF-R1, CD 95 (Fas), dan *TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand* (TRAIL)-R1 dan R2. Ligan yang berikatan dengan death reseptor tersebut akan mengakibatkan adanya adaptor protein *Fas Associated Death Domain* (FADD). Kemudian adaptor protein akan mengikat inisiator procaspase (procaspase -8, -10) untuk membentuk *Death-Inducing Signaling Complex* (DISC), kemudian DISC mengaktifkan procaspase -8.-10 untuk melepaskan caspase yang nantinya

menimbulkan kematian sel. DISC ini biasanya diregulasi oleh c-FLIP (Zaman *et al.*, 2014).



Gambar 2.4 Jalur intrinsik dan ekstrinsik pada apoptosis (Zaman *et al.*, 2014)

2.8.2 Jalur Intrinsik

Apoptosis melalui jalur intrinsik atau mitokondria diaktivasi oleh berbagai stimuli yaitu radiasi, radikal bebas, infeksi virus, kemoterapi dan faktor pertumbuhan (Muti'ah, 2014). Jalur intrinsik juga dapat melalui jalur ekstrinsik terlebih dahulu. Protein capcase-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. Sitokrom C berikatan dengan APAF-1 untuk mengaktifkan caspase 9. Kompleks sitokrom c, APAF-1 dan caspase 9 adalah bentuk apoptosom. Selanjutnya, *capcase* 9 akan mengaktifkan downstream procaspase-3. Selain itu, caspase 3 juga mempunyai kemampuan

untuk mengaktifkan caspase lainnya, seperti procaspase-6 dan procaspase-7 yang memberikan amplifikasi terhadap kerusakan seluler (Ooi *et al.*, 2013).

Jalur kematian diatur oleh protein keluarga B-sel limfoma-2 (BCL-2), yang memiliki fungsi antiapoptosis atau proapoptosis. Protein BCL-2 antiapoptotik menghambat apoptosis dengan menghambat protein keluarga BCL-2 proapoptotik BAX dan BAK. Protein tersebut meregulasi apoptosis melalui pelepasan *cytochrome c* membentuk kompleks dengan faktor pengaktif protease apoptosis-1 (APAF-1), dan procaspase-9 kompleks ini disebut "apoptosome" yang mengubah procaspase-9 menjadi caspase aktif-9. Caspase-9 kemudian mengaktifkan caspases -3,-6,-7 yang menyebabkan kematian sel (Zaman *et al.*, 2014).

Kelompok protein pro apoptosis yang lainnya adalah protein *Apoptotic Inducing Factor* (AIF) dan *Endonuclease G*. Beberapa model, pengeluaran protein ini adalah terlambat pada proses apoptosis, dimana protein ini muncul ketika sel akan mati. AIF dieksresikan dan masuk ke inti sel untuk selanjutnya memicu fragmentasi DNA. Aktifitas kedua protein ini (AIF dan Endo G) dalam proses *Cell Death* tidak tergantung pada caspase (Muti'ah, 2014).

Mekanisme kematian sel yang sering terjadi adalah *mitotic catastrophe*. Kematian ini hampir mirip dengan nekrosis karena tanda-tandanya hampir sama. Tetapi kematian melalui jalur ini pada akhirnya diikuti dengan proses apoptosis. Fenomena *mitotic catastrophe* merupakan kematian sel yang terkait dengan segregasi kromosom yang abnormal. Sel pada mamalia gagal melakukan fase mitosis dengan sempurna setelah terjadinya paparan genotoksik yang dapat

menyebabkan terjadinya kerusakan DNA, sehingga menyebabkan terjadinya sel menjadi bersifat tetraploid setelah satu siklus (Muti'ah, 2014).

2.9 Sel HeLa

HeLa merupakan *cell line* pertama kali yang dikultur berasal dari perempuan bernama Henrietta Lacks. Henrietta Lacks merupakan pasien kanker serviks yang meninggal pada tahun 1951. Penelitian menggunakan sel HeLa pertama kali saat pembuatan vaksin polio. Sel HeLa adalah sel kanker serviks yang disebabkan oleh *Human Papilloma Virus* (HPV-18). Onkogen yang berkontribusi pada HPV-18 ini adalah onkogen E6 dan E7 (DeFilippis *et al.*, 2003).

Sel HeLa dapat tumbuh baik dalam media kultur. Media kultur yang biasa digunakan adalah RPMI 1640-serum. Dalam media kultur mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan sel HeLa yaitu glukosa, asam amino, vitamin dan garam-garam anorganik. Serum yang biasanya terdapat pada media RPMI adalah hormon yang mampu memacu pertumbuhan sel. Albumin memiliki fungsi sebagai protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral sebagai kofaktor enzim (Muti'ah, 2014).

Sel HeLa dapat diperbanyak secara *in vitro* yang dapat diambil dari jaringan atau memperbanyak sel. Keuntungan penggunaan kultur sel adalah mudah dalam penanganannya, kemampuan replikasi yang tidak terbatas, jika terjadi kontaminasi mudah diganti dengan *frozen stock* dan homogenitas yang tinggi. Sel HeLa dapat tumbuh baik pada medium kultur. Media kultur yang baik digunakan pada sel

HeLa adalah media *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI). Media kultur RPMI mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS), FBS adalah serum yang berfungsi sebagai nutrisi yang sering digunakan dalam kultur sel, jaringan ataupun organ secara *in vitro*. Keuntungan penambahan FBS adalah proliferasi semakin cepat, sehingga waktu inkubasi semakin singkat. Media RPMI mengandung penstrap (Penisilin streptomisin) dan fungizon yaitu streptomisin yang berfungsi sebagai antibakteri dan sebagai antijamur, hal ini karena kultur sel harus dalam kondisi aseptik (Burdall, et al., 2003).

2.10 Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal monyet hijau yang berasal dari Afrika. Sel vero pertama kali digunakan pada tahun 1960 sebagai *cell line* dengan tujuan sebagai penelitian. Kultur sel Vero pertama kali dilakukan oleh Yasamura dan Kawalata, Sel vero merupakan sel epitel normal. Sel vero biasa digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro*. Adanya sel vero memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Nurani, 2016; landry, 2013).

Media kultur sel Vero adalah media M₁₉₉. Media kultur sel Vero telah ditambahkan 10% FBS, 2% Penisilin-streptomisin dan 0,5-1% fungision (Nurani, 2016). Media M₁₉₉ mengandung sodium bikarbonat, HEPES, garam earle dan L-

glutamine. Garam earle berfungsi sebagai pengistonis, sedangkan L-glutamine adalah asam amino yang digunakan sebagai nutri sel. HEPES dan sodium bikarbonat digunakan sebagai *buffer* (mempertahankan pH) (Rosdiana, et al., 2013).

2.11 Cisplatin

Cisplatin (cis-diamminedichloro-platinum [II]) adalah obat yang sering digunakan karena memiliki spektrum yang luas. Cisplatin merupakan obat golongan kompleks metal inorganik yang ditemukan secara tidak sengaja melalui penghambatan platinum pembelahan pada bakteri *E. coli* (Katzung , et al., 2011). Mekanisme kerja dari cisplatin diduga mirip dengan alkilator. Golongan obat ini bekerja pada semua siklus sel, menghambat biosintesis DNA dan berikatan dengan DNA membentuk ikatan silang (*cross linking*). Tempat ikatan utama adalah N7 tepatnya pada guanin, namun juga membentuk ikatan kovalen dengan adenin dan sitosin (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI, 2013).

Efek samping yang umum terjadi pada cisplatin yaitu *nausea* dan *vomiting* (Katzung , et al., 2011). Efek samping lainnya dari cisplatin adalah terjadinya nefrotoksik. Hidrasi yang cukup dengan garam fisiologis atau manitol penting untuk mengurangi nefrotoksik. Cisplatin menyebabkan nefrotoksis perifer yang ireversibel (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI, 2013). Cisplatin juga memiliki efek samping ototoksik hal ini ditandai dengan hilangnya pendengaran (Burn , et al., 2007).

2.12 Metode MTT

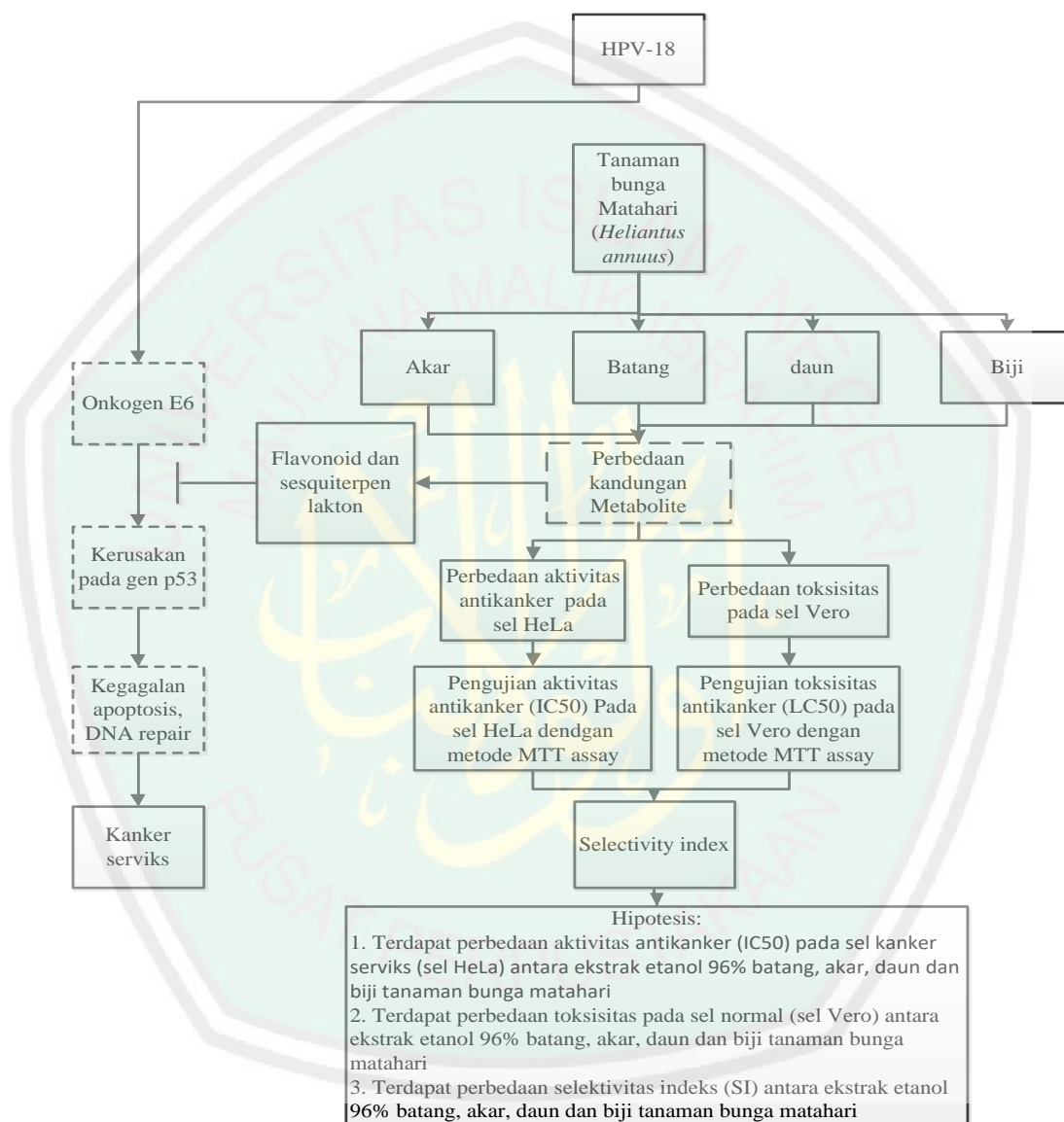
Metode MTT merupakan metode yang paling sering digunakan dalam pengujian *in vitro*. Pengujian ini memiliki keuntungan cepat, sensitif, akurat. Metode Microculture Tetrazolium Salt (MTT) adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi tingkat sitotoksik pada suatu senyawa. Uji MTT merupakan uji *in vitro* menggunakan kultur sel. Prinsip pada metode MTT adalah reduksi pada sel dengan pemecahan garam tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromid) berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan. Pemecahan garam tetrazolium menjadi formazan dilakukan oleh enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel. Penambahan larutan *stopper* berfungsi untuk memecah sel, sehingga dapat melarutkan garam formazan (Duval *et al.* 2012; Rahmawati *et al.*, 2013)

Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat diserap dengan spektrofotometri visibel yang berbanding dengan sel hidup. Alat yang digunakan dalam pengukuran adalah ELISA reader atau *mikroplate reader* dengan panjang gelombang yang dapat menyerap adalah 540-690 nm, namun biasanya digunakan panjang gelombang 590 nm. Hasil persen sel hidup dapat dikonversikan menjadi nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat hidup sel 50% (Duval *et al.* 2012)

BAB III


KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Keterangan :

 =Yang tidak dipelajari

 =Menghambat

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Tanaman bunga matahari memiliki kandungan berupa flavonoid pada organ biji, daun, akar dan batang. Senyawa flavonoid pada tanaman bunga matahari dapat memblokir degradasi gen p53. Pemblokiran ini melalui jalur interaksi onkogen E6 dengan E6-AP, sehingga tidak terbentuknya ubiquitin ligase. Ubiquitin ligase merupakan penyebab terjadinya degradasi p53. Pemblokiran ini menyebabkan meningkatkan responsif dari gen p53 yang berfungsi sebagai apoptosis (Jonathan *et al.*, 2013). Tanaman bunga matahari pada bagian daun dan batang memiliki kandungan berupa sesquiterpen lakton. Sesquiterpen lakton dapat menginaktivasi kanker serviks melalui *delay* pada *cell cycle* fase G2/M dengan waktu yang lebih lama. Jika daur sel pada G2 mengalami *delay* hal ini dapat menghambat proses terjadinya mitosis. Hasilnya adalah dapat terjadinya *mitotic catastrophe*. (Costantino *et al.*, 2013; Kitai *et al.*, 2016).

Setiap organ dari tanaman bunga matahari memiliki kandungan metabolit yang berbeda-beda. Senyawa yang bertanggung jawab sebagai antikanker adalah flavonoid dan sesquiterpen lakton, namun terdapat perbedaan kandungan metabolit yang aktif dan jumlah komponen yang aktif pada setiap organ akar batang, daun dan biji. Perbedaan tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan selektivitas indeks, toksisitas (LC₅₀) pada sel normal (sel Vero) dan sitotoksik (IC₅₀) pada sel kanker (sel HeLa) pada setiap organ (Hossam M., 2008; Dwivedi *et al.*, 2014). Perbedaan toksisitas dan sitotoksik dapat dilakukan dengan pengujian menggunakan metode *in vitro* yaitu MTT assay. Hubungan sitotoksik pada kanker sel HeLa dan toksisitas pada sel vero terhadap tanaman bunga

matahari dapat dihitung melalui selektifitas index (Muti'ah *et al.*, 2017). Ekstrak dapat dikatakan selektif jika $SI \geq 3$ dan tidak selektif pada $SI < 3$ (Sutejo *et al.*, 2016).

3.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan aktivitas antikanker (IC_{50}) pada bagian organ daun, akar, batang dan biji tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.).
2. Terdapat perbedaan toksisitas (LC_{50}) pada bagian organ daun, akar, batang dan biji tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.).
3. Terdapat perbedaan selektivitas index pada bagian organ daun, akar, batang dan biji tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan *true experimental post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan yang terdiri dari ekstrak etanol 96% daun, batang, akar, dan biji tanaman bunga matahari. Kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan secara bersamaan dan waktu yang bersamaan. Kontrol positif menggunakan cisplatin. Uji aktivitas antikanker pada penelitian ini menggunakan biakan sel kanker HeLa dan pada uji toksisitas menggunakan sel normal vero.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada dan Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Februari 2017 sampai April 2018.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah biji, daun, batang dan akar *Helianthus annuus*.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah viabilitas sel hidup pada sel HeLa dan sel Vero yang diberi treatment akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah waktu ultrasonik, suhu dan tekanan *rotary evaporator*, suhu pada saat inkubasi, lingkungan aseptis pada saat kultur sel, lama inkubasi sel, media kultur dan pewarnaan MTT assay.

4.3.4 Definisi Operasional

1. Tanaman bunga matahari diperoleh dari Megastar Batu
2. Batasan akar dan batang pada tanaman bunga matahari dibatasi dengan leher akar yang biasanya berwarna lebih terang, sehingga mudah dibedakan dari struktur lainnya.
3. Daun *Helianthus annuus* adalah berbentuk delta, memiliki bulu halus, bertangkai panjang, saling berhadapan dan menempel di batang.
4. Batang *Helianthus annuus* adalah berbentuk bulat dan bercabang, memiliki bulu halus dan berwarna hijau
5. Biji *Helianthus annuus* adalah kulit keras, berbentuk pipih memanjang.

- f. Nilai *Lethal Concentration* (LC_{50}) adalah konsentrasi yang dapat menimbulkan 50% kematian pada populasi sel.
- g. Nilai *Inhibitor Concentration* (IC_{50}) adalah konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sejumlah 50% dari populasi sel.
- h. Pengukuran LC_{50} dan IC_{50} didapatkan dari pembacaan absorbansi menggunakan *ELISA reader* dengan penambahan reagen *stopper* sehingga melarutkan formazan.
- i. Inkubasi merupakan teknik inokulasi sel HeLa dan sel Vero pada media, kemudian disimpan pada suhu dan jangka waktu tertentu. Bila suhu dan waktu inkubasi tidak sesuai, pertumbuhan sel HeLa dan sel Vero tidak baik.
- j. Media kultur adalah bahan yang digunakan untuk tempat berkembangbiaknya sel HeLa dan sel Vero yang terdiri dari campuran nutrisi.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Proses Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Tanaman Bunga Matahari

1. Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam pembuatan ekstrak tanaman bunga matahari adalah timbangan analitik, oven, *rotary evaporator*, gelas erlenmeyer, corong gelas, cawan porselen, batang pengaduk, ultrasonik, jurigen 5 liter, kertas saring, aliran listrik, *freezer*, pisau, aluminium foil, kain warna hitam, loyang. Alat-alat yang dibutuhkan dalam analisis *moisture content* adalah spatula, *moisture content analyzer* dan tisu.

2. Bahan

Bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan etanol 96% tanaman bunga matahari adalah air, etanol 96%, tanaman bunga matahari (daun, akar, batang dan biji) yang diperoleh dari pekarangan rumah di Malang, kemudian diekstraksi di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.4.2 Uji Aktivitas Antikanker

1. Alat dan Bahan Persiapan Pengambilan Sel

Alat-alat yang digunakan dalam persiapan pengambilan sel pipet pasteur steril atau mikropipet 1000 μl , *Conical tube* dan stiker label/ pulpen marker. Bahan-bahan yang digunakan dalam persiapan pengambilan sel adalah PBS, tripsin, media kultur (RPMI 1640-serum dan Media M₁₉₉), sel HeLa dan sel Vero.

2. Alat dan Bahan Perhitungan Sel

Alat-alat yang digunakan dalam perhitungan sel adalah mikropipet 20, 200, 1000 μL , tabung reaksi kecil atau eppendorf, rak tabung kecil, *Conical tube*, vortex dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah edia kultur RPMI 1640-serum dan Media M₁₉₉.

3. Alat dan Bahan Penanaman Sel

Alat-alat yang digunakan dalam penanaman sel adalah 96-*well plate*, mikropipet 100 μL , mikroskop *inverted*, inkubator. Bahan-bahan yang

digunakan dalam penggantian media yakni media kultur RPMI dan media M₁₉₉, sel kanker HeLa, sel Vero dan PBS

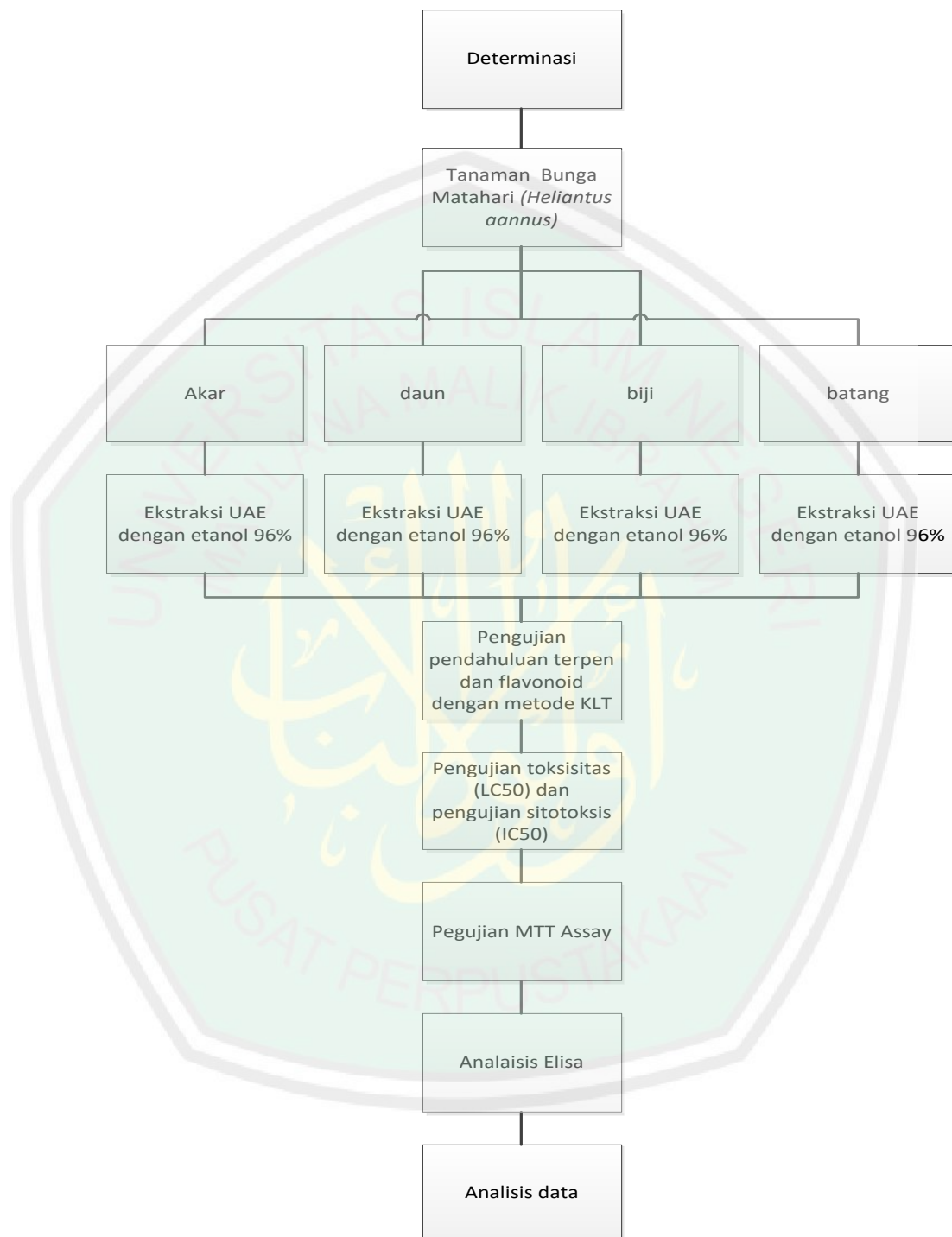
4. Alat dan Bahan Pembuatan Larutan Sampel dan Penanaman Sampel pada Sel

Alat-alat yang digunakan dalam panen sel yakni Mikropipet 20, 200, 1000 μ L, tabung reaksi kecil atau eppendorf, rak tabung kecil, conical tube, vortex, timbangan analitik dan inkubator. Bahan-bahan yang digunakan dalam panen sel yakni PBS, Tripsin-EDTA, MK RPMI 1640-serum dan media M₁₉₉, ekstrak etanol 96% biji, daun, batang dan akar tanaman bunga matahari, cisplatin

5. Pemberian Larutan MTT dan Elisa Reader

Alat-alat yang digunakan dalam pemberian larutan MTT adalah timbangan analitik, spatula, inkubator dan mikroskop inverted. Bahan-bahan yang digunakan dalam pemberian larutan MTT adalah PBS, MTT 5mg/mL, PBS (50 mg MTT and 10 mL PBS) SDS 10% dalam 0,01 N HCl (larutan stopper) Aluminium foil.

4.5 Cara Kerja



Gambar 4.1 Bagan Cara Kerja

4.5.1 Determinasi Tanaman

Depterminasi tanaman bunga matahari dilakukan di Materia Medika Batu.

4.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Tanaman Bunga Matahari

Proses ekstraksi akar, batang, daun dan biji tanaman bunga matahari dilakukan di Laboratorium Fitofarmasi Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

1. Sortasi Tanaman Bunga Matahari

Biji dari bunga matahari diambil, namun kulit biji tidak dikelupas. Selanjutnya, dipotong bagian daun, akar dan batang. Cara membedakan bagian akar dan batang adalah pada bagian akar memiliki leher akar (*collum*). Leher akar pada tanaman bunga matahari berwarna lebih terang sehingga mudah dibedakan strukturnya. Selanjutnya akar, batang, daun dan biji dicuci dengan air mengalir kemudian ditiriskan.

2. Proses Pengeringan

Proses pengeringan dilakukan dengan cara akar , batang, daun dan biji tanaman bunga matahari diletakkan di wadah yang datar. Selanjutnya, bagian atas wadah ditutup dengan kain terawang warna hitam. Organ-organ tanaman bunga matahari dijemur dibawah sinar matahari pada pukul 06.00-10.00 WIB. Akar, batang dan daun jika telah kering memiliki parameter *crispy* dan warna bagian organ tersebut tidak menghitam, sedangkan bijinya memiliki warna hitam pekat. Tanaman bunga matahari yang telah kering dihaluskan di Materia medika Kota Batu.

3. Proses Ekstraksi

Serbuk halus daun, biji, akar dan batang tanaman bunga matahari ditimbang sebanyak 10 gram serbuk. Tahap selanjutnya, dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 500 mL dan ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak 200 mL atau dengan perbandingan 1:20 dengan replikasi 3 kali. Penggunaan perbandingan tersebut bertujuan untuk mengoptimalkan hasil ekstrak dan menghemat pelarut. Langkah selanjutnya, dilakukan ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan alat *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dalam waktu 2 menit dengan replikasi sebanyak 3 kali. Pemilihan metode bertujuan untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Metode konvensional memiliki kekurangan yaitu membutuhkan waktu yang lama, banyak pelarut dan hasil ekstrak yang didapat kurang maksimal (Rahmawati *et al.*, 2013). Tujuan menggunakan metode UAE adalah UAE merupakan metode yang paling optimal untuk mengesktraksi suatu bahan karena memperoleh kandungan yang tinggi dalam waktu yang relatif singkat (Rahmawati *et al.*, 2013). Perbedaan prinsip metode UAE dan metode konvensional yaitu UAE dapat merusak sel-sel pada bahan sedangkan pada metode konvensional tidak dapat merusak sel. Rusaknya sel-sel pada bahan merupakan hal yang positif karena dengan meningkatnya sel yang rusak pada bahan akan meningkatkan pula ambilan kandungan bioaktif dari bahan menuju ke pelarut (Altemimi *et al.*, 2016). Hasil penyaringan filtrat dikumpulkan di dalam jurigen.

4. Proses Evaporasi

Hasil filtrat yang telah ditampung di jurigen kemudian dimasukkan ke dalam labu evaporasi kemudian dipasang pada rangkaian alat *rotary evaporator*. Selanjutnya, disambungkan dengan aliran listrik. Rangkaian alat diatur dengan suhu 50°C dengan kecepatan 70 rpm dan tekanan sebesar 175 mbar. Hasil ekstraksi selesai ditandai dengan ekstrak semakin pekat. Hasil ekstraksi selesai ditunggu sampai aliran etanol 96% berhenti menetes pada labu penampung. Cawan porselen ditimbang dan dicatat. Pemekatan merupakan peningkatan jumlah senyawa yang terlarut secara penguapan pelarut tanpa menjadi kering, sehingga ekstrak yang diperoleh menjadi kental dan pekat. Kemudian diletakkan di cawan porselen dan di oven pada suhu 40°C sampai ekstrak pekat dan tidak terdapat aroma etanol. Selanjutnya, dihitung rendemen menggunakan rumus

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang didapat (g)}}{\text{berat simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

5. Analisis Moisture Content

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia akar, biji, daun dan batang tanaman bunga matahari diukur kadar airnya menggunakan *moisture analyzer*. Setelah alat *moisture analyzer* dinyalakan layar akan menunjukkan angka 0.00 gram kemudian penutup dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan dalam *sample pan holder*. Penutup alat diturunkan secara otomatis *moisture analyzer* akan menara menjadi 0,000 gram. Kemudian dimasukkan sampel serbuk akar, batang, daun dan biji secara

bergantian sebanyak $\pm 0,5$ gram. Kemudian ditutup penutup alat maka otomatis akan menghitung prosentase kadar MC. Prinsip kerja alat ini adalah serbuk dipanaskan pada hingga suhu 105°C , sehingga kadar air dalam sampel akan menguap. Uji moisture content merupakan uji yang diperlukan untuk menentukan kadar air pada sampel. Hasil yang baik adalah kurang dari 10%, jika tidak memenuhi syarat tersebut rentan terkontaminasi mikroorganismse.

4.5.3 Uji KLT

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan untuk menduga senyawa yang terdapat pada ekstrak. Langkah pertama yang dilakukan adalah ditimbang ekstrak akar, batang, biji dan daun sebanyak 10 mg. Kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 1 mL. Ekstrak akar, batang, biji dan daun di UAE hingga larut sempurna dengan etanol 96%.

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana dengan etil asetat. Perbandingan antara keduanya dilakukan optimasi terlebih dahulu dengan perbandingan 5:5; 6:4; 7:3 dan 8:2, kemudian fase gerak dijenuhkan. Berdasarkan penelitian sebelumnya sesquiterpen laktone dapat digunakan fase gerak n-heksan dengan etil asetat (Arundina *et al.*, 2015). Saat penjenuhan fase gerak ditotolkan ekstrak akar, batang, biji dan daun yang telah dilarutkan dengan etanol 96% dengan pipa kapiler berukuran $2\mu\text{L}$ secara manual. KLT yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄ dengan ukuran panjang 10 cm dengan lebar 6 cm, batas atas ukuran 0,5 cm sedangkan batas bawah 1,5 cm. Setelah fase gerak dijenuhkan selama 10 menit KLT dimasukkan *glass chamber* merek *chamag*. Setelah hasil KLT telah tereluen di batas atas KLT diambil kemudian

diamati menggunakan visualizer setelah itu disemprot menggunakan H_2SO_4 10% v/v. Setelah, ditotolkan KLT dipanaskan pada *TLC Plate Heater* dengan suhu $105^\circ C$ selama 5 menit. Tujuannya adalah untuk mengoksidasi solute-solute organik yang dapat mengganggu (Sudjadi, 2007).

4.5.4 Uji Aktivitas Antikanker

1. Persiapan Pengambilan Sel

Sel HeLa dalam media kultur RPMI 1640-serum dapat tumbuh dengan agresif. Media RPMI mengandung nutrisi untuk pertumbuhan yaitu glukosa vitamin, asam amino, dan garam-garam organik (Muti'ah, 2014). Sel Vero menggunakan media kultur M_{199} .

Sel kanker HeLa dan sel normal Vero yang telah dikultur oleh teknisi di Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC) Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta diambil dari *freezer*, dihangatkan pada suhu $37^\circ C$ selama 2-3 menit. Sel dipindahkan ke *clonical tube* yang telah berisi 10 mL media RPMI untuk sel HeLa dan media M_{199} untuk sel Vero. Sel diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu $37^\circ C$. Pemisahan sel kanker dengan media dilakukan sentrifugasi. Sel kanker diamati dibawah mikroskop untuk menentukan bahwa sel telah melekat di *cultur dish* dan jumlahnya telah mencapai 75%-80% (konfluen). Sel yang telah konfluen dilakukan pemanenan.

2. Panen Sel

Proses panen sel bertujuan untuk melepaskan ikatan antar sel dan ikatan sel dengan matrik tanpa merusak sel. Sel yang telah mencapai konfluen 75%-80% dicuci dengan PBS sebanyak dua kali dilanjutkan dengan ditambahkan tripsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit di inkubator. Setelah diinkubasi, ditambahkan 5 mL media untuk menginaktifkan tripsin, diamati keadaan sel di mikroskop. Transfer sel-sel yang telah lepas ke dalam *conical* steril baru, jika sel masih menggrombol maka diresuspensi kembali.

3. Perhitungan Sel

Uji toksisitas membutuhkan output data yang melibatkan jumlah sel. Penghitungan sel dapat dilakukan dengan homositometer yang dilakukan di bawah mikroskop. Syarat perhitungan sel adalah sel dalam keadaan sendiri-sendiri atau tidak menggerombol. Perhitungan sel ini dibutuhkan untuk menghitung total jumlah sel yang diperlukan untuk ditaman pada sumuran.

Awal langkah perhitungan sel adalah diambil 10 μ L panen sel dan dipipetkan ke homositometer, dihitung sel di bawah mikroskop dengan *counter*. Cara perhitungan pada alat homositometer adalah sel yang mati dan yang diluar batas kanan dan atas kamar tidak dihitung, sedangkan dibatas kiri dan bawah dihitung.

Dihitung jumlah sel per mL dengan rumus:

$$\text{Jumlah sel terhitung/mL} = \frac{\sum \text{sel (kamar A + kamar B + kamar C + kamar D)}}{4} \times 10^4$$

Setelah dihitung jumlah sel/mL dihitug volume panen sel yang ditransfer dengan rumus :

$$\text{Volume panen sel yang ditransfer} = \frac{\text{jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel terhitung / mL}}$$

Hasil perhitungan volume panen sel ditransfer ke *conical tube*, ditambahkan media .

4. Penanaman Sel

Penanaman sel harus dilakukan secara hati-hati karena reagen mudah menguap dan bersifat karsinogen. Disiapkan *96-well plate* kemudian ditransfer sel kanker HeLa sebanyak 100 μL (sel telah dihitung melalui pengenceran) di dalam sumuran. Disisakan sumuran kosong untuk kontrol media. Pengulangan atau replikasi sebanyak 3 kali. Pada *96-well plate* lainnya ditransfer sel kanker Vero ditransfer sel kanker HeLa sebanyak 100 μL di dalam sumuran, disisakan sumuran kosong untuk kontrol media.

5. Pembuatan Larutan Sampel dan Penanaman Sampel pada Sel

a. Pembuatan Konsentrasi Uji Sitotoksis





Pembuatan larutan harus memenuhi persyaratan harus larut sempurna pada pelarut yaitu kosolven *Dimetil Sulfoksida* (DMSO). Sampel ekstrak akar, batang, biji dan daun tanaman bunga matahari masing-masing ditimbang seberat 10 mg. Selanjutnya dilarutkan 100 μL (DMSO) menggunakan vortek. Kadar DMSO yang dipakai pada penelitian ini adalah 1% v/v. Konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10% v/v karena dapat menyebabkan terjadinya

sitotoksik pada sel (Machana *et al.*, 2011). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$; 31,25 $\mu\text{g/mL}$; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 500 μL /konsentrasi untuk pengulangan 3 kali. Tujuan pengulangan untuk melihat terjadinya signifikansi peningkatan dosis. Selanjutnya, sebanyak 100 μL /varian konsentrasi ditanam pada sumuran setelah media pada *plate* dibuang. Kemudian diinkubasi *plate* selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO₂ 5 %. Setelah diinkubasi selama 24 jam sel diamati dibawah mikroskop inverted.

Tabel 4.1 Pemetaan Uji sitotoksik pada ekstrak etanol 96% biji, daun, akar dan batang tanaman bunga matahari pada *plate 96 well*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000			1000			1000			1000		
B	500			500			500			500		
C	250			250			250			250		
D	125			125			125			125		
E	62,5			62,5			62,5			62,5		
F	31,25			31,25			31,25			31,25		
G	15,625			15,625			15,625			15,625		
H	kontrol sel						Kontrol media					

Keterangan :

	=Daun
	=Batang
	=Akar
	=Biji

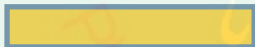
b. Pembuatan Konsentrasi Uji Toksisitas

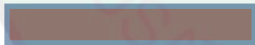
Pembuatan larutan harus memenuhi persyaratan harus larut sempurna pada pelarut yaitu kosolven *Dimetil Sulfoksida* (DMSO). Sampel ekstrak akar, batang, biji dan daun tanaman bunga matahari masing-masing ditimbang seberat 10 mg. Selanjutnya dilarutkan 100 μL (DMSO) menggunakan vortek. Kadar DMSO yang dipakai pada penelitian ini adalah 1% v/v. Konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10% v/v karena dapat menyebabkan terjadinya sitotoksik pada sel (Machana *et al.*, 2011). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$; 31,25 $\mu\text{g/mL}$; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 500 μL /konsentrasi untuk pengulangan 3 kali, hal ini bertujuan untuk signifikansi peningkatan dosis. Selanjutnya, sebanyak 100 μL /varian konsentrasi ditanam pada sumuran setelah media pada *plate* dibuang. Kemudian diinkubasi *plate* selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO₂ 5 %. Setelah diinkubasi selama 24 jam sel diamati dibawah mikroskop inverted.


Tabel 4.2 Pemetaan Uji toksisitas pada ekstrak etanol 96% biji, daun, akar dan batang tanaman bunga matahari pada *plate 96 well*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000			1000			1000			1000		
B	500			500			500			500		
C	250			250			250			250		
D	125			125			125			125		
E	62,5			62,5			62,5			62,5		
F	31,25			31,25			31,25			31,25		
G	15,625			15,625			15,625			15,625		
H	kontrol sel						Kontrol media					

Keterangan :

 =Daun

 =Batang

 =Akar

 =Biji

c. Pembuatan Konsentrasi Uji Aktivitas dan Toksisitas pada Cisplatin

Pembuatan larutan sampel untuk uji aktivitas harus memenuhi persyaratan yaitu dapat larut pada media kultur oleh *cosolventy* (DMSO). Fungsi DMSO adalah untuk membantu kelarutan cisplatin pada media kultur. Cisplatin diambil 60 μL kemudian di ad medium RPMI sebanyak 1000 μL . Selanjutnya dibuat seri konsetransi 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 6,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 3,125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pada sel Vero, cisplatin diambil 300 μL kemudian di ad medium M₁₉₉ 1000 mL. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 31,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$; dan 15,625 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selanjutnya, sebanyak 100 μL /varian konsetransi ditanam pada sumuran setelah media pada *plate* dibuang. Kemudian diinkubasi *plate* selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO₂ 5 %. Setelah diinkubasi selama 24 jam sel diamati dibawah mikroskop inverted.

Tabel 4.3 Pemetaan *plate* uji sitotoksik pada sel HeLa dan toksisitas sel Vero terhadap cisplatin

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	200			1000			kosong					
B	100			500								
C	50			250								
D	25			125								
E	12,5			62,5								
F	6,25			31,25								
G	3,125			15,625								
H	Kontrol sel			Kontrol media								

Keterangan

 =Uji Aktivitas dengan cisplatin

 =Uji Toksisitas dengan cisplatin

6. Pembuatan Larutan MTT dan Elisa Reader

a. Pembuatan Larutan MTT

Menjelang akhir waktu inkubasi, dokumentasikan kondisi sel HeLa dan sel Vero untuk setiap perlakuan. Prinsip metode MTT Assay adalah sistem reduktase menjadi reduksi garam kuning tetrazolium MTT ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid). Kristal formazan berwarna

ungu dan tidak larut dalam air terbentuk dari suksinat tetrazolium bagian dari rantai respirasi sel-sel yang hidup pada mitokondria (Muti'ah, 2014)

Merek MTT yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bio Basic Canada*. Stok MTT dibuat dengan cara: timbang 50 mg serbuk MTT, larutkan dalam PBS ad 10 ml. Simpan dalam freezer tertutup aluminium foil. Siapkan reagen MTT untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dengan cara ambil 1 mL stok MTT dalam PBS (5mg/mL). Langkah selanjutnya diencerkan (Sel Vero dengan media M₁₉₉ dan sel HeLa dengan media RPMI) ad 10 mL pada clonical tube (untuk 1 buah 96 *well plate*). Buang media sel HeLa dan sel Vero, cuci dengan PBS, dan tambahkan reagen MTT 100 μ L ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel).

Inkubasi sel HeLa dan sel Vero selama 2-4 jam di dalam inkubator CO₂. Periksa kondisi sel dengan mikroskop inverted. Jika formazan (terbentuk warna ungu) telah jelas terbentuk, tambahkan larutan *stopper* 100 μ L/well yaitu SDS 10% dalam 0,01 N HCl. Bungkus plate dengan kertas atau aluminium foil dan inkubasikan di tempat gelap pada temperatur kamar selama semalam pada suhu ruang selama 24 jam.

b. Elisa Reader

Hidupkan ELISA reader, tunggu proses progressing hingga selesai. Buka pembungkus plate dan tutup plate. Masukkan ke dalam ELISA reader Baca absorbansi masing-masing sumuran dengan ELISA reader dengan $\lambda=550-600$ nm (595 nm, tekan tombol START). Matikan kembali ELISA reader. Simpan dan tempel kertas hasil ELISA pada LOG BOOK. Setiap kali pembacaan di

ELISA reader, catat di buku catatan pemakaian ELISA READER. Buat grafik absorbansi (setelah dikurangi kontrol media) vs konsentrasi. Hitung prosentase sel hidup dan analisis harga IC₅₀ dengan Excell (Regresi linear dari log konsentrasi) atau SPSS (Probit/Logit).

4.6 Analisis data

Hasil data yang diperoleh dari absorbansi dihitung dengan rumus prosentase sel hidup dengan rumus

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

Percobaan diperoleh absorbansi 3 macam kontrol dan senyawa uji meliputi :

- a. Kontrol sel : media kultur + sel
- b. Kontrol pelarut : media kultur + sel + DMSO dengan konsentrasi terbesar pada seri konsentrasi) % DMSO terbesar dilihat dari konsentrasi DMSO dalam seri konsentrasi sampel yang paling pekat.
- c. Kontrol media : media kultur
- d. Senyawa uji berisi : media kultur + sel + senyawa ekstrak

Nilai IC₅₀ dihitung melalui prosentase sel hidup yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan pertumbuhan yang terhambat sebesar 50% dari populasi sel sehingga potensi sitotoksiknya dapat diketahui potensinya. Pengujian Nilai IC₅₀ diawali dengan uji normalitas. Uji normalitas menggunakan *kolmogrov-smirnov* tujuannya adalah untuk mengetahui apakah sebaran data terdistribusi normal atau tidak.

Uji statistik memerlukan adanya asumsi kesamaan atau homogenitas dalam suatu varian. Uji homogenitas adalah salah satu syarat untuk melanjutkan ke metode uji parametrik. Apabila sampel lebih dari 3 dapat digunakan uji levene. Uji levene digunakan untuk menguji kesamaan varian dari beberapa populasi.

Setelah dilakukan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji statistik parametrik. Uji statistik parametrik ini untuk mengetahui perbedaan perlakuan antara kelompok kontrol dengan perlakuan digunakan uji statistik *one way ANOVA*. Apabila hasil tidak homogen maka dapat menggunakan uji statistik *kruskal-wallis*. Hasil pengujian yang diperoleh untuk menilai pengaruh pemberian beberapa dosis ekstrak etanol daun, akar, batang dan biji bunga matahari terhadap IC_{50} , LC_{50} dan selektivitas indeks. Penelitian ini dikatakan bermakna jika $p \leq 0,05$. Kemudian dilakukan analisis *postHoc* dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan secara signifikan antara toksisitas, aktivitas dan selektivitas indeks pada organ akar, batang, daun dan biji tanaman bunga matahari, sehingga untuk mengetahui kelompok mana saja yang menunjukkan perbedaan secara signifikan. Pengujian ini menggunakan dengan analisis probit (Statistic Product and Service Solution (SPSS) 16.0 for windows).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi *Helianthus annuus*

Determinasi tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus*) bertujuan untuk melakukan validasi atau untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian. Bagian tanaman yang dilakukan determinasi adalah seluruh bagian tanaman *Helianthus annuus*. Determinasi *Helianthus annuus* dilakukan di Matera Medika Kota Batu. Hal ini, dibuktikan dengan dikeluarkan surat nomor 074/406/102.7/2017 dari UPT Matera Medika Kota Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah *Helianthus annuus* L.

5.2 Hasil Analisis *Moisture Content* dan Rendemen Ekstrak Etanol 96% Akar, Batang, Biji dan Daun *Helianthus annuus*.

1. Hasil Analisis *Moisture Content* Serbuk *Helianthus annuus*

Serbuk simplisia akar, biji, daun dan batang tanaman bunga matahari diukur kadar airnya menggunakan *moisture analyzer*. Prinsip kerja alat ini adalah serbuk dipanaskan hingga suhu 105°C, sehingga kadar air dalam sampel akan menguap. Uji *moisture content* (MC) merupakan uji yang diperlukan untuk menentukan kadar air pada sampel. Tabel 5.1 menunjukkan hasil uji *moisture content* pada serbuk simplisia akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* memiliki nilai MC di bawah 10%, sehingga serbuk simplisia sesuai dengan standar Menteri Kesehatan.

Analisis kadar air dalam simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam simplisia. Standar kandungan air dalam simplisia menurut Menteri Kesehatan adalah tidak lebih dari 10% (Menteri Kesehatan, 1994). Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan tumbuhnya bakteri dan jamur pada saat penyimpanan. Hal ini, dikarenakan air merupakan media yang baik pada pertumbuhan bakteri dan jamur. Jamur dan bakteri dapat menyebabkan terjadinya kerusakan senyawa pada simplisia (Febriani *et al.*, 2015)

Tabel 5.1 Hasil Uji *moisture content* serbuk simplisia akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

No	Bagian	<i>Moisture Content</i> (%)
1.	Akar	5,95
2.	Batang	9,54
3.	Biji	5,87
4.	Daun	7,98

b. Hasil Rendemen Ekstrak Akar, Batang, Biji, dan Daun *Helianthus annuus*

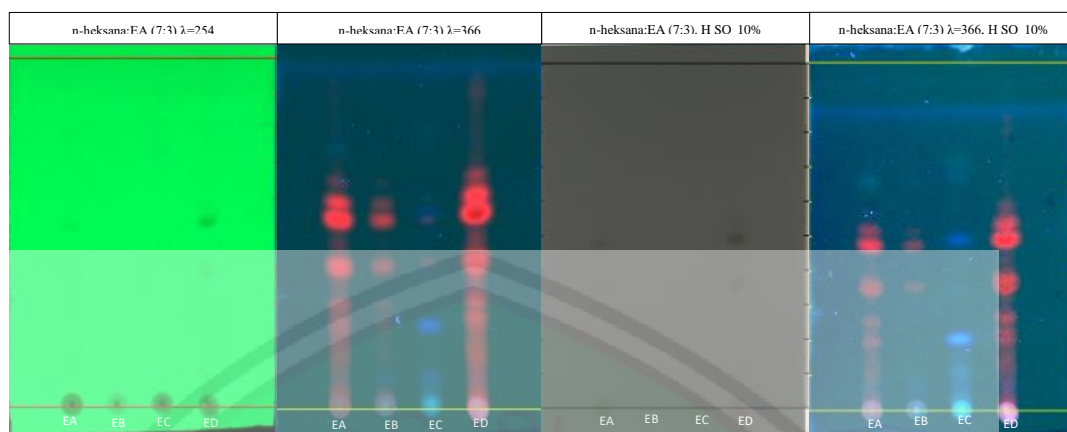
Hasil rendemen ditunjukkan pada tabel 5.2 dengan perhitungan rendemen pada lampiran 2. Rendemen adalah hasil perhitungan berat ekstrak akhir dibanding dengan berat awal simplisia dikalikan 100%. Hasil rendemen tertinggi terdapat pada bagian daun *Helianthus annuus*. Hasil rendemen dengan presentase terendah terdapat pada bagian biji *Helianthus annuus*.

Tabel 5.2 Hasil Ekstraksi Akar, Batang, Biji dan Daun *Helianthus annuus*

No	Bagian	Berat serbuk	Warna serbuk	Warna ekstrak	Berat Ekstrak	Renderen (%)
1	Akar	15,005 gram	Kuning kecoklatan	Hijau tua pekat	1,585 gram	10,563
2	Batang	77,6125 gram	Kuning pucat	Kuning kehitaman	4,318 gram	5,563
3	Biji	70,0309 gram	Coklat tua	Kuning	2,931 gram	4,186
4	Daun	58,2447 gram	Hijau tua	Hijau tua pekat	6,8776 gram	11,808

5.3 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak *Helianthus annuus*

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil optimasi dari fase gerak n-heksana dengan etil asetat. Hal ini, berdasarkan penelitian sebelumnya sesquiterpen lakton dapat digunakan fase gerak n-heksan dengan etil asetat (Arundina *et al.*, 2015; Mutiah *et al.*, 2018). Perbandingan optimasi fase gerak antara n-heksana dengan etil asetat yang digunakan adalah 5:5; 6:4; 7:3 dan 8:2. Hasil perbandingan antara n-heksana dengan etil asetat yang optimum adalah dengan perbandingan 7:3 v/v. Hasilnya terdapat pada tabel 5.3-5.6 menunjukkan pada ekstrak etanol 96% pada akar mengandung senyawa terpenoid dan steroid. Ekstrak etanol 96% batang memiliki kandungan terpenoid dan steroid. Ekstrak etanol 96% biji memiliki kandungan terpenoid. Ekstrak etanol 96% daun memiliki kandungan steroid.



Gambar 5.1 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis pada ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

EA menunjukkan ekstrak akar *Helianthus annuus*; EB menunjukkan ekstrak batang *Helianthus annuus*; EC menunjukkan ekstrak biji *Helianthus annuus*; ED menunjukkan ekstrak daun *Helianthus annuus*.

Tabel 5.3 Hasil KLT Ekstrak Etanol 96% Akar Setelah diderivate pada Panjang Gelombang 366 nm

No	Rf	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,003	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,193	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
3	0,348	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
4	0,474	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
5	0,568	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
6	0,661	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
7	0,859	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)

Tabel 5.4 Hasil KLT Ekstrak Etanol 96% Batang Setelah Diderivate pada Panjang Gelombang 366 nm

No	Rf	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,005	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
2	0,474	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
3	0,856	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
4	1,046	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)

Tabel 5.5 Hasil KLT Ekstrak Etanol 96% Biji Setelah Diderivate pada Panjang Gelombang 366 nm

No	Rf	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,005	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,112	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,205	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
4	0,405	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
5	0,490	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
6	0,862	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)
7	1,045	Biru	Steroid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014)

Tabel 5.6 Hasil KLT Ekstrak Daun Etanol 96% Setelah Diderivate pada Panjang Gelombang 366 nm

No	Rf	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,001	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
2	0,221	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
3	0,368	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
4	0,452	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
5	0,537	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
6	0,659	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
7	0,715	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)
8	0,862	Merah	terpenoid	(Ismiyah <i>et al.</i> , 2014); (wagner <i>et al.</i> , 1996)

5.4 Hasil Aktivitas Antikanker pada Sel Kanker HeLa dan Toksisitas pada Sel Vero

5.4.1 Hasil Perhitungan Sel dan Penanaman Sel

1. Hasil Perhitungan Sel Kanker (Sel HeLa)

Ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun diuji aktivitas antikanker menggunakan sel HeLa dan toksisitas menggunakan sel vero dengan metode

MTT *assay*. Pengujian antikanker dan toksisitas pada ekstrak akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* menggunakan variasi konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$. Tahapan pengujian antikanker dimulai dari perhitungan sel, penanaman sel, pembuatan ekstrak dari berbagai konsentrasi, treatment sel menggunakan ekstrak, pemberian MTT dan larutan *stopper* serta pembacaan absorbansi menggunakan elisa *reader*.

Persiapan pengambilan sel dimulai dari tahap pengambilan sel yang telah dithawing sebanyak 10 μL . Sel HeLa yang digunakan peneliti merupakan subkultur pasase ke-4. Kemudian dihitung menggunakan *hemocytometer* pada 4 kamar. Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel HeLa pada 4 kamar kemudian di rata-rata dan dikalikan 10^4 hasilnya terdapat $108,75 \times 10^4$ sel. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut diambil sel sebanyak 0,92 mL kemudian ad 10 mL media RPMI dan dihomogenkan. Hasil pencampuran tersebut dipipet sebanyak 100 μL dengan jumlah densitas sel sebanyak 10.000 sel/sumuran pada 96 *well plate*. Kemudian plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO_2 5%. Hasil perhitungan jumlah sel yang diambil pada lampiran 3. Setelah 24 jam diamati sel ada atau tidaknya kontaminasi, hasilnya tidak terdapat kontaminasi pada sel.



Gambar 5.2 Sel HeLa yang telah diinkubasi dan telah berproliferasi

2. Hasil Perhitungan Sel Normal (Vero)

Perhitungan sel dimulai dari tahap pengambilan sel sebanyak 10 μL . Sel Vero yang digunakan adalah subkultur pasase ke-4. Kemudian dihitung menggunakan *hemocytometer* pada 4 kamar. Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel Vero pada 4 kamar kemudian di rata-rata dan dikalikan 10^4 hasilnya adalah $30,75 \times 10^4$. Berdasarkan perhitungan jumlah sel diambil sel sebanyak 3,25 mL. Langkah selanjutnya, ad 10 mL media M_{199} dan dihomogenkan. Hasil pencampuran tersebut dipipet sebanyak 100 μL dengan jumlah densitas 10.000 sel/sumuran pada 96 *well plate*. Kemudian *plate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO_2 5%. Hasil perhitungan jumlah sel yang diambil pada lampiran 3. Setelah 24 jam diamati sel ada atau tidaknya kontaminasi, hasilnya tidak terdapat kontaminasi pada sel.

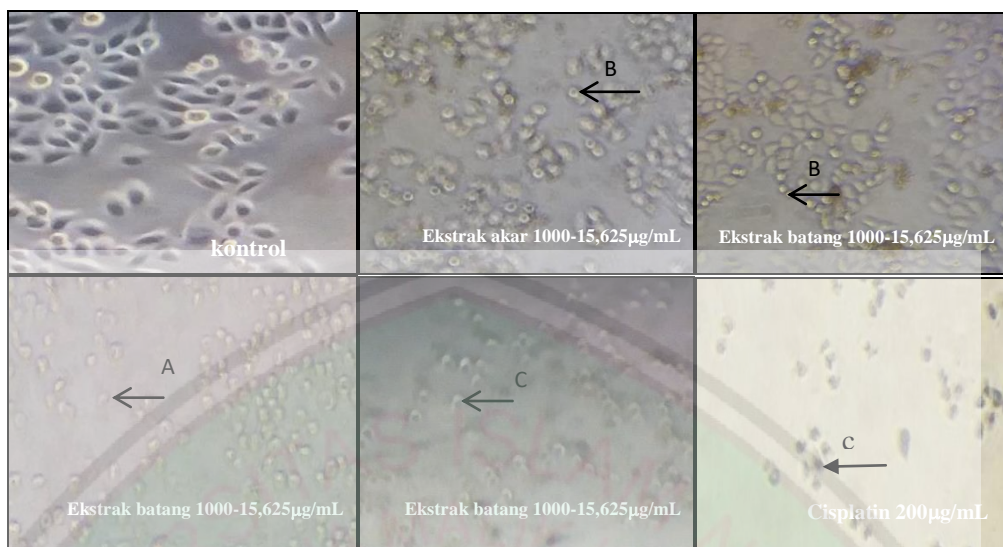


Gambar 5.3 Sel Vero yang telah diinkubasi dan telah berproliferasi

5.4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Akar, Batang, Biji dan Daun *Helianthus annuus* terhadap Sel HeLa dan Sel Vero

1. Pengaruh Morfologi pada Pemberian Ekstrak Akar, Batang, Biji, Daun *Helianthus annuus* dan Cisplatin terhadap Sel HeLa

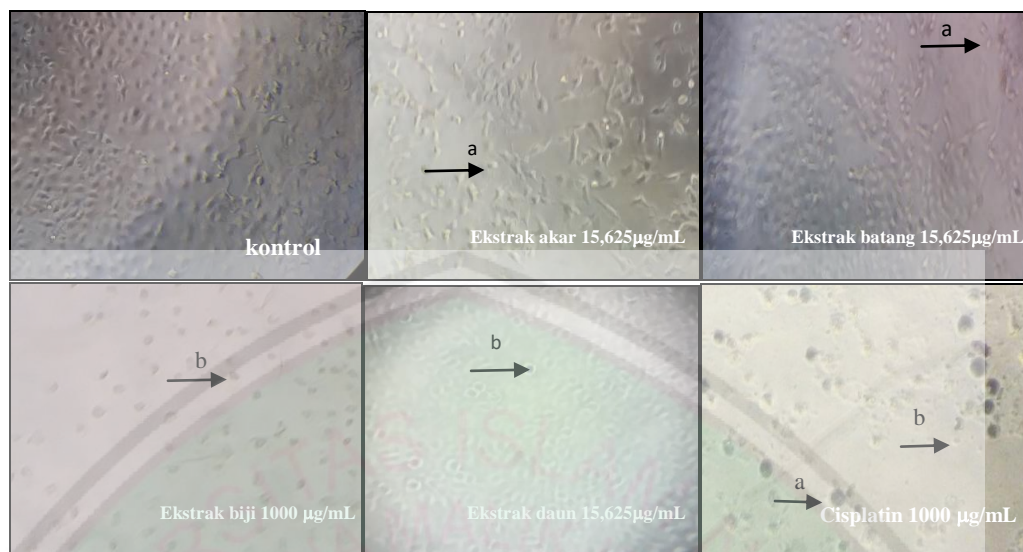
Gambar 5.4 menunjukkan perbedaan antara kontrol sel dengan sel yang telah diberikan perlakuan ekstrak tanaman *Helianthus annuus*. Sel HeLa secara normal pada gambar 5.4 menunjukkan bentuk poligonal dengan sitoplasma yang luas dan padat. Beberapa sel menunjukkan adanya *proscensus* pada sitoplasma. Jika dibandingkan dengan gambar 5.4.d-e menunjukkan perubahan morfologi pada sel HeLa setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol 96% biji dan daun *Helianthus annuus*. Sel mengalami pengekerutan dan tidak terhubung satu sama lain (*contact inhibiton*). Sel mengalami pengekerutan dikarenakan kehilangan sitoplasma, sehingga tampak lebih bulat. *Proscensus* pada sitoplasma menghilang sehingga sel tampak lebih kecil dari ukuran normal.



Gambar 5.4. Perbandingan Morfologi pada sel HeLa karena adanya *treatment* ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* dengan metode MTT *assay*. Hasil *treatment* setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C 5% CO₂. Perubahan morfologi yang terjadi adalah a) *shrinkage* b) membulat dan c) tidak adanya *contact inhibition*

2. Pengaruh Morfologi pada Pemberian Ekstrak Akar, Batang, Biji, Daun *Helianthus annuus* dan Cisplatin terhadap Sel Vero

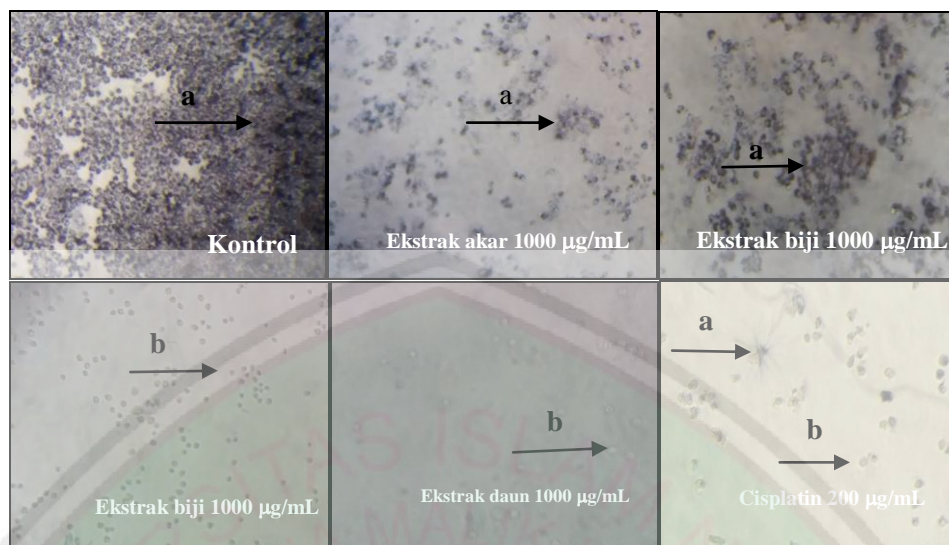
Berdasarkan gambar 5.5 menunjukkan perbedaan antara kontrol sel vero dengan sel yang telah diberi perlakuan. Pada gambar 5.5.a sel vero yang normal menunjukkan berbentuk poligonal dan pipih. Jika dibandingkan dengan gambar 5.5.d morfologi sel vero mengalami perubahan yaitu sel menjadi lebih bulat dan sel mengecil dari ukuran normal. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengubah morfologi sel vero diperlukan konsentrasi yang tinggi.



Gambar 5.5. Perbandingan morfologi pada Vero karena adanya *treatment* ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* dengan metode MTT *assay*. Hasil *treatment* setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C 5% CO₂. Perubahan morfologi yang terjadi adalah a) membulat b) mengecil. Perubahan morfologi terjadi jika konsentrasi semakin tinggi.

5.4.3 Pengaruh Pemberian MTT pada Sel Hela dan Sel Vero

Setelah diinkubasi dan diamati di bawah mikroskop inverted, sel diberi larutan MTT. Prinsip larutan MTT adalah prinsip metode MTT Assay adalah sistem reduktase oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat pada mitokondria menjadi kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut dalam air terbentuk dari suksinat tetrazolium bagian dari rantai respirasi sel-sel yang hidup pada mitokondria. Reaksi biasanya dibiarkan 3 sampai 4 jam (Muti'ah, 2014). Setelah terbentuk formazan berwarna ungu diberikan *Sodium deodesil Sulfate* (SDS) (bersifat detergenik) 10% dalam 0,01 N HCl. Tujuannya adalah untuk melisiskan membran sel dan melarutkan formazan yang tidak larut dalam media kultur. Garam formazan dapat diukur melalui absorbansi menggunakan elisa reader (Mutiah *et al.*, 2018).

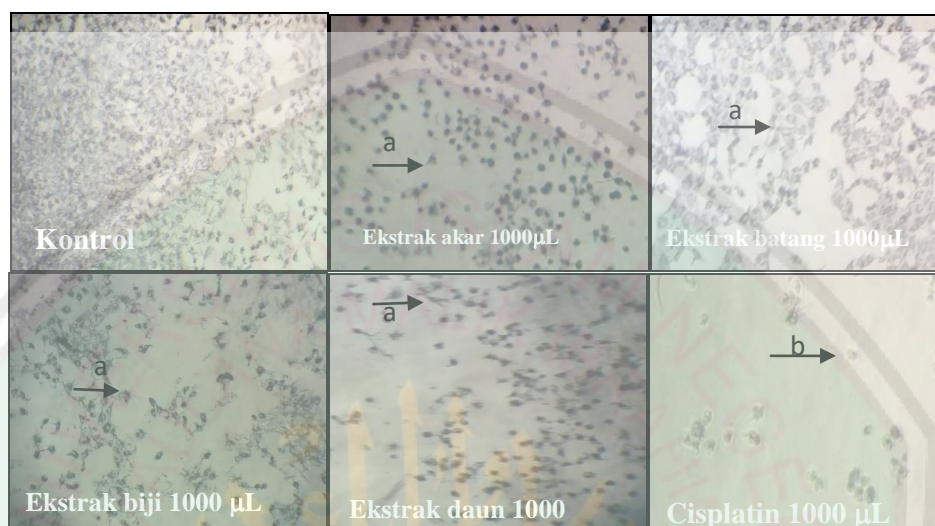


Gambar 5.6. Perbandingan formazan pada sel HeLa karena adanya *treatment* ekstrak etanol 96% akar, batang, biji, daun *Helianthus annuus* dan cisplatin dengan metode MTT *assay*. Hasil *treatment* setelah diinkubasi selama 3 jam dengan suhu 37°C 5% CO₂. Perubahan yang terjadi adalah a) formazan b) tidak terdapat formazan

Hasil pengamatan menunjukkan Sel HeLa yang diberi *treatment* ekstrak etanol 96% akar dan batang pada konsentrasi 1000 µg/mL dengan pemberian MTT banyak terbentuk formazan. Semakin banyak terbentuknya formazan, maka semakin tinggi absorbansi jika diukur menggunakan *elisa reader*. Semakin tinggi hasil absorbansi, maka semakin banyak sel yang masih hidup (Rollando, 2016). Sehingga sel HeLa yang diberi *treatment* ekstrak etanol 96% akar dan batang *Helianthus annuus* pada konsentrasi 1000 µg/mL masih banyak sel HeLa yang masih hidup.

Hasil pengamatan pada sel HeLa yang diberi *treatment* ekstrak etanol 96% biji dan daun pada konsentrasi 1000 µg/mL dengan pemberian MTT hampir tidak terdapat formazan yang terbentuk. Jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin dengan konsentrasi 200 µg/mL dengan pemberian MTT

masih terdapat formazan yang terbentuk. Sehingga sel HeLa yang ditreatmen dengan ekstrak etanol 96% biji dan daun *Helianthus annuus* banyak sel HeLa yang mati.



Gambar 5.7 Perbandingan formazan pada sel Vero karena adanya *treatment* ekstrak etanol 96% akar, batang, biji, daun *Helianthus annuus* dan cisplatin dengan metode MTT *assay*. Hasil *treatment* setelah diinkubasi selama 3 jam dengan suhu 37°C 5% CO₂. Perubahan yang terjadi adalah a) *formazan* b) tidak terdapat formazan

5.5 Hasil Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Analisis Data pada Sel HeLa dan Sel Vero Setelah Pembacaan Absorbansi

1. Hasil Aktivitas Antikanker dengan Analisis Data pada Sel HeLa Setelah Pembacaan Absorbansi

Data hasil absorbansi dikonversikan menjadi persen viabilitas (% sel hidup).

Dari data hasil persen sel hidup pada sel HeLa dapat diperoleh perhitungan IC₅₀ dengan bantuan program probit pada SPSS. Hasil perhitungan % viabilitas dan hasil perhitungan IC₅₀ pada lampiran 4.

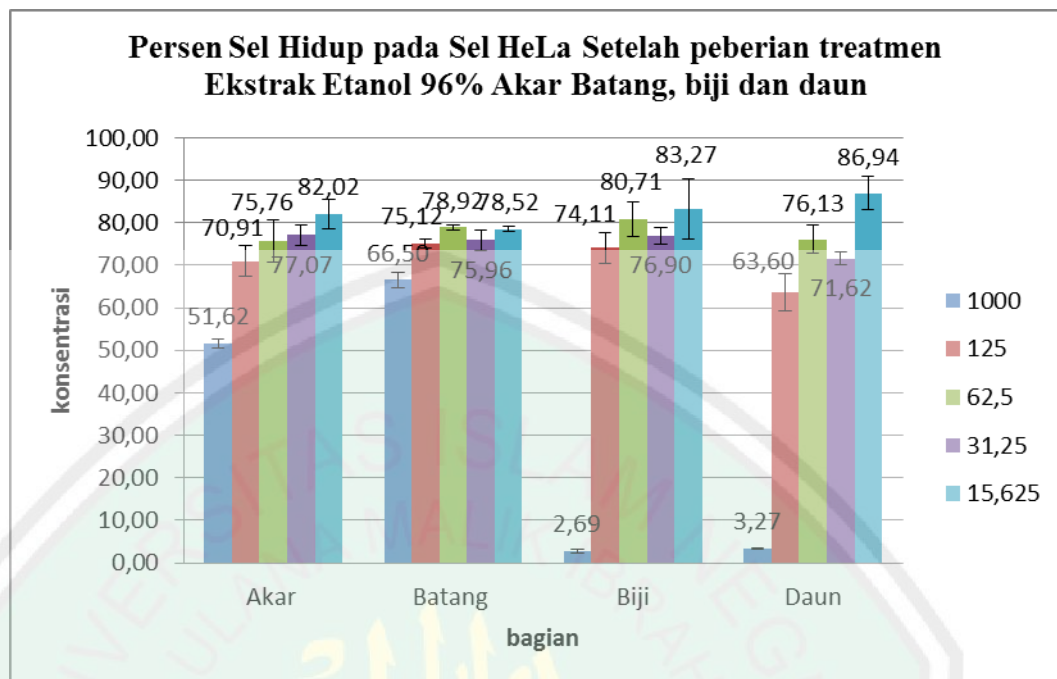
Tabel 5.7 Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup Sel HeLa dengan Pemberian ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen viabilitas sel hidup (%) \pm SD*			
	Akar \pm SD	Batang \pm SD	Biji \pm SD	Daun \pm SD
1000	51,616 \pm 0,981	66,498 \pm 1,819	2,694 \pm 0,534	3,266 \pm 0,117
125	70,909 \pm 3,589	75,118 \pm 1,025	74,108 \pm 3,615	63,603 \pm 4,347
62,5	75,7576 \pm 4,987	78,923 \pm 0,609	80,707 \pm 4,094	76,128 \pm 3,338
31,25	77,071 \pm 2,348	75,960 \pm 2,395	76,902 \pm 2,095	71,616 \pm 1,617
15,625	82,020 \pm 3,399	78,519 \pm 0,592	83,266 \pm 7,057	86,936 \pm 3,991

*Rata-rata viabilitas \pm Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

Tabel 5.7 menunjukkan persen sel hidup pada ekstrak etanol 96% biji dan daun memiliki nilai yang rendah pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan pada konsentrasi terbawah yaitu 15,625 $\mu\text{g/mL}$ persen sel hidup sangat tinggi. Berdasarkan data tersebut ekstrak etanol 96% akar, biji dan daun terdapat fenomena *dose dependent* yaitu terdapat hubungan antara konsentrasi dengan sitotoksik. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi sel HeLa yang mengalami kematian, sebaliknya semakin kecil konsentrasi ekstrak semakin rendah kematian pada sel HeLa. Tabel 5.7 dapat dikonversikan menjadi grafik untuk mempermudah dalam pembacaan tabel.

Tabel 5.8 menunjukkan cisplatin dengan konsentrasi 200, persen viabilitas sel hidup pada sel HeLa memiliki nilai yang rendah, sedangkan pada konsentrasi terendah yaitu 3,125 memiliki nilai viabilitas yang tinggi. Cisplatin sebagai kontrol positif menunjukkan adanya fenomena *dose dependent* yaitu terdapat hubungan antara konsentrasi dengan sitotoksik. Semakin tinggi konsentrasi cisplatin semakin tinggi sel HeLa yang mengalami kematian, sebaliknya semakin kecil konsentrasi cisplatin semakin rendah kematian pada sel HeLa.



Gambar 5.8 Grafik Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup pada Sel HeLa dengan Pemberian ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Tabel 5.8 Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup Sel HeLa dengan Pemberian Cisplatin

Konsentrasi	Persen viabilitas sel hidup (%)±SD*
200	32,194±9,829
25	50,427±10,887
12,5	61,633±10,633
6,25	75,783±6,598
3,125	87,085±2,738

*Rata-rata viabilitas ± Simpangan Deviasi, dengan replikasi 3 kali.

Hasil dari data persen viabilitas sel hidup pada masing-masing bagian ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* dapat diperoleh hitungan IC_{50} . Perhitungan nilai IC_{50} menggunakan program probit pada SPSS. Data IC_{50} dihitung berdasarkan hasil persen viabilitas dengan replikasi 3 kali. Hasil IC_{50} pada bagian akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* terdapat pada tabel 5.8.

Tabel 5.9 Hasil Nilai IC₅₀ Sel HeLa pada cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun tanaman *Helianthus annuus*

Bagian	IC ₅₀ ±SD
akar	>1000
batang	>1000
biji	153,759 ± 7,738
daun	126,831 ± 12,612
cisplatin	42,11±13,983

Berdasarkan data IC₅₀ tersebut ekstrak daun *Helianthus annuus* memiliki IC₅₀ terendah dari bagian tanaman *Helianthus annuus*. Nilai IC₅₀ terendah dari keseluruhan adalah cisplatin (kontrol positif). Batang dan akar memiliki nilai IC₅₀ lebih dari 1000. Pada kontrol positif yaitu cisplatin memiliki nilai IC₅₀ 42,11 µg/mL, sehingga cisplatin dikategorikan memiliki aktivitas antikanker. Jika dibandingkan antara cisplatin dengan ekstrak daun memiliki nilai IC₅₀ yang berbeda. Hal ini, dikarenakan cara kerja cisplatin secara umum dapat menghambat pada semua siklus sel, sedangkan cara kerja pada ekstrak daun dan biji hanya spesifik pada *delay* atau penghambatan pada *cell cycle* fase G2/M dengan waktu yang lebih lama (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI, 2013; Costantino *et al.*, 2013; Kitai *et al.*, 2016). Perlunya uji lanjutan melalui uji SPSS untuk mengetahui perbedaan secara signifikansi nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol 96% akar, batang biji dan daun jika dibandingkan dengan cisplatin.

Analisis data dimulai dari uji normalitas menggunakan uji *shapiro wilk* dengan aplikasi IBM SPSS Versi 25. Uji normalitas menggunakan *shapiro wilk* karena jumlah variabel kurang dari 50. Kebermaknaan uji normalitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai p>0,05 maka data terdistribusi normal, namun sebaliknya jika nilai p<0,05 maka data tidak terdistribusi secara normal. Pada penelitian ini

hasil uji normalitas didapatkan nilai $p > 0,05$. Sehingga data IC_{50} terdistribusi secara normal. Hasil statistik dapat dilihat pada lampiran 5. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene. Kebermaknaan uji homogenitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka varian kelompok perlakuan homogen, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka varian antar kelompok perlakuan tidak homogen. Data pada penelitian menunjukkan nilai $p = 0,000$. Hal ini, menunjukkan bahwa data pada penelitian varian antar kelompok tidak homogen ($p < 0,05$). Sehingga, perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Hasil dari uji tersebut didapatkan hasil yang signifikan yaitu $p < 0,05$. Sehingga data dapat dilanjutkan menuju uji *post hoc Tukey*. Tujuan dilakukan uji *post hoc* adalah untuk membandingkan varian satu terhadap varian yang lainnya. Makna signifikansi dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p < 0,05$, maka adanya perbedaan secara signifikan antar varian satu terhadap varian lainnya. Sebaliknya, jika $p > 0,05$, maka perbedaan antar varian tidak signifikan.

Tabel 5.10 Analisis Data IC₅₀ sel HeLa pada Cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Bagian	Perbandingan	Nilai signifikan	Signifikansi
Akar	Batang	0,011	signifikan
	Biji	0,718	Tidak signifikan
	Daun	0,704	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,657	Tidak signifikan
Batang	Akar	0,011	signifikan
	Biji	0,002	signifikan
	Daun	0,002	signifikan
	Cisplatin	0,002	signifikan
Biji	Akar	0,718	Tidak signifikan
	Batang	0,002	signifikan
	Daun	1,000	tidak signifikan
	Cisplatin	1,000	tidak signifikan
Daun	Akar	0,704	Tidak signifikan
	Batang	0,002	signifikan
	Biji	1,000	tidak signifikan
	Cisplatin	1,000	tidak signifikan
Cisplatin	Akar	0,657	Tidak signifikan
	Batang	0,002	signifikan
	Biji	1,000	tidak signifikan
	Daun	1,000	tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.10 nilai IC₅₀ dari ekstrak akar, batang, biji dan daun tanaman *Helianthus annuus* dikorelasikan dengan kontrol positif yaitu cisplatin dengan uji *post hoc*. Hal ini dikarenakan cisplatin sangat sensitif pada sel kanker serviks. Pada bagian ekstrak akar tanaman *Helianthus annuus* jika dibandingkan dengan ekstrak batang memiliki nilai $p=0,011$, sehingga nilai IC₅₀ memiliki perbedaan secara signifikan, sedangkan pada ekstrak akar, biji, daun dan cisplatin tidak memiliki nilai yang signifikan. Meskipun akar tidak memiliki nilai perbedaan terhadap daun, biji dan cisplatin, akar tidak memiliki aktivitas antikanker. Hal ini, dikarenakan akar tidak masuk dalam kategori ekstrak yang

memiliki aktivitas antikanker.

Ekstrak batang tanaman *Helinathus annuus* pada pengujian *post hoc* dibandingkan dengan ekstrak akar, biji dan daun memiliki perbedaan yang signifikan. Nilai IC_{50} dari batang merupakan nilai tertinggi dari bagian ekstrak organ lainnya, sehingga terjadi perbedaan nilai secara signifikan antara batang dengan organ lainnya. Batang tidak masuk dalam kategori senyawa yang memiliki aktivitas antikanker.

Perbandingan antara ekstrak biji dengan ekstrak daun memiliki nilai $p=1$, sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Jika ekstrak biji dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin ekstrak biji nilai $p=1$, sehingga tidak memiliki nilai perbedaan secara signifikan. Ekstrak biji memiliki potensi sebagai pengobatan antikanker karena masuk kategori moderate aktif sebagai antikanker. Jika dihitung secara statistik antara ekstrak biji dengan kontrol positif yaitu cisplatin tidak memiliki perbedaan nilai IC_{50} secara signifikan.

Ekstrak daun memiliki nilai IC_{50} yang paling rendah dari akar, batang dan biji. Perbandingan ekstrak daun dengan ekstrak biji tidak memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik. Ekstrak daun jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin memiliki nilai $p=1$, sehingga tidak memiliki perbedaan nilai yang signifikan. Ekstrak daun *Helinathus annuus* memiliki potensi sebagai pengobatan antikanker karena masuk kategori moderate aktif sebagai antikanker. Jika dihitung secara statistik antara ekstrak daun dengan cisplatin tidak memiliki nilai IC_{50} secara signifikan.

2. Hasil Uji Toksisitas dengan Analisis Data pada Sel Vero Setelah Pembacaan Absorbansi

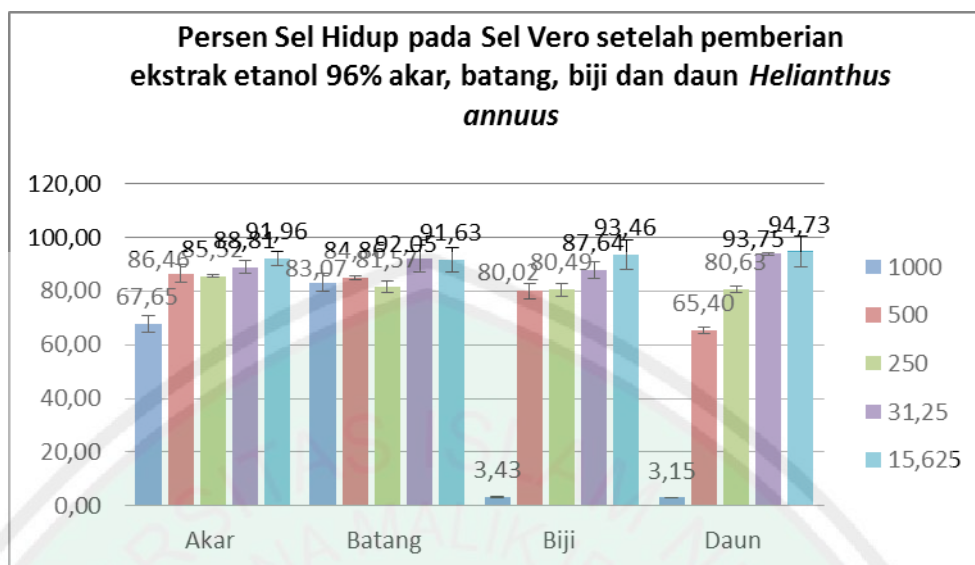
Data absorbansi dari sel vero dikonversikan menjadi persen viabilitas (% hidup). Dari data hasil persen hidup dapat dihitung nilai LC_{50} dengan bantuan probit SPSS. Hasil perhitungan viabilitas (% hidup) dan nilai LC_{50} terdapat pada lampiran 3

Tabel 5.11 Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup Sel Vero dengan Pemberian ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Konsentrasi	Persen viabilitas sel hidup (%) \pm SD*			
	Akar	Batang	Biji	Daun
1000	67,654 \pm 3,17	83,075 \pm 3,285	3,432 \pm 0,244	3,150 \pm 0
500	86,460 \pm 3,224	84,861 \pm 0,724	80,019 \pm 2,821	65,397 \pm 1,341
250	85,520 \pm 0,615	81,570 \pm 2,330	80,489 \pm 2,428	80,630 \pm 0,991
31,25	88,811 \pm 2,428	92,055 \pm 4,969	87,635 \pm 3,093	93,747 \pm 0,570
15,625	91,961 \pm 2,7	91,631 \pm 4,696	93,465 \pm 5,434	94,734 \pm 5,712

*Rata-rata viabilitas \pm Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

Data pada tabel 5.11 menunjukkan pada konsentrasi 1000 μ g/mL, persen hidup sel vero pada biji dan daun rendah, sedangkan pada akar dan batang menunjukkan persen hidup sel vero lebih dari 50%. Pada konsentrasi 500 μ g/mL persen hidup sel vero dengan treatment ekstrak biji dan daun memiliki nilai persen hidup yang langsung tinggi lebih dari 50%. Pada konsentrasi terendah yaitu 15,625 μ g/mL ekstrak akar, batang, biji dan daun memiliki persen hidup pada sel vero tinggi. Dari data tabel 5.11 untuk mempermudah pembacaanya dibentuk grafik pada gambar 5.7.



Gambar 5.9 Grafik Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup Sel Vero dengan Pemberian ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Tabel 5.12 Hasil konversi absorbansi terhadap Persen Hidup Sel HeLa dengan Pemberian Cisplatin

Konsentrasi	Persen viabilitas \pm SD*
250	47,757 \pm 1,459
125	57,383 \pm 1,058
62,5	60,935 \pm 4,897
31,25	68,645 \pm 2,266
15,625	79,299 \pm 4,728

*Rata-rata viabilitas \pm Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

Hasil dari data prosen viabilitas sel hidup pada masing-masing bagian akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* dapat diperoleh hitungan LC_{50} . Cara menghitung nilai LC_{50} menggunakan program probit pada SPSS. Data LC_{50} dihitung berdasarkan hasil persen viabilitas dengan replikasi 3 kali. Hasil LC_{50} pada bagian akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus* pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Nilai LC_{50} sel Vero pada cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji, daun *Helianthus annuus*

Bagian	Nilai LC_{50}
Akar	>1000
Batang	>1000
Biji	578,873 ± 6,003
Daun	537,041 ± 4,649
Cisplatin	209,449 ± 4,641

Berdasarkan data tersebut nilai LC_{50} tertinggi pada bagian batang dan akar diikuti dengan biji dan daun. Sedangkan nilai LC_{50} terendah pada kontrol positif yaitu pada cisplatin. Makna nilai LC_{50} adalah senyawa ekstrak tersebut bersifat toksik pada sel normal, dimana yang digunakan peneliti adalah pada sel vero. Nilai LC_{50} lebih dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ bermakna tidak toksik. Berdasarkan data tersebut ekstrak akar dan batang memiliki nilai LC_{50} memiliki nilai >1000 sehingga nilai LC_{50} pada ekstrak akar dan batang tidak bersifat toksik pada sel normal, namun ekstrak akar dan batang tidak memiliki aktivitas antikanker. Ekstrak biji, daun dan cisplatin memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000. Nilai LC_{50} ekstrak biji, daun dan cisplatin berturut-turut 578,87 $\mu\text{g/mL}$; 537,041 $\mu\text{g/mL}$ dan 209,449 $\mu\text{g/mL}$. Meskipun ketiga sampel tersebut masuk kategori toksik, namun ketiga sampel tersebut memiliki aktivitas antikanker. Jika ekstrak daun dan biji dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin, ekstrak daun dan biji memiliki nilai LC_{50} dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan cisplatin. Sehingga ekstrak daun dan biji lebih aman digunakan pada sel normal dibandingkan dengan cisplatin.

Tabel 5.14 Analisis Data LC₅₀ sel Vero pada Cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Bagian		Nilai Signifikan	Signifikansi
Akar	batang	0,000	Signifikan
	biji	0,000	Signifikan
	daun	0,000	Signifikan
	cisplatin	0,000	Signifikan
batang	Akar	0,000	Signifikan
	biji	0,000	Signifikan
	daun	0,000	Signifikan
	cisplatin	0,000	Signifikan
biji	Akar	0,000	Signifikan
	batang	0,000	Signifikan
	daun	0,997	tidak signifikan
	cisplatin	0,101	tidak signifikan
daun	Akar	0,000	Signifikan
	batang	0,000	Signifikan
	biji	0,997	tidak signifikan
	cisplatin	0,163	tidak signifikan
cisplatin	Akar	0,000	Signifikan
	batang	0,000	Signifikan
	biji	0,101	tidak signifikan
	daun	0,163	tidak signifikan

Analisis data dimulai dari uji normalitas *shapiro wilk* menggunakan IBM SPSS Versi 25. Kebermaknaan uji normalitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Pada penelitian ini pada uji normalitas didapatkan hasil $p > 0,05$. Hasil dapat dilihat pada lampiran 5. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji levene. Kebermaknaan uji homogenitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka varian kelompok perlakuan homogen, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka varian antar kelompok perlakuan tidak

homogen. Data pada penelitian menunjukkan nilai $p=0,010$. Pada rentang nilai tersebut makna data penelitian adalah varian antar kelompok tidak homogen ($p<0,05$). Sehingga perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji non parametrik yaitu menggunakan uji *kruskal-wallis*. Hasil dari uji tersebut didapatkan signifikansi yaitu $p<0,05$. Sehingga data dapat dilanjutkan menuju uji *post hoc tuckey*. Tujuan dilakukan uji *post hoc* adalah untuk membandingkan varian satu terhadap varian yang lainnya. Makna signifikansi dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p<0,05$, maka adanya perbedaan secara signifikan antar varian satu terhadap varian lainnya. Sebaliknya, jika $p>0,05$, maka perbedaan antar varian tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.14 nilai LC_{50} dari ekstrak akar, batang, biji, daun tanaman *Helianthus annuus* dan cisplatin dikorelasikan antar varian dengan uji *post hoc*. Cisplatin sangat sensitif pada sel kanker serviks, namun cisplatin memiliki efek samping yaitu dapat merusak sel normal. Pada bagian ekstrak akar tanaman *Helianthus annuus* jika dibandingkan dengan ekstrak batang, biji dan daun memiliki nilai $p=0,000$ sehingga terdapat perbedaan yang signifikan. Ekstrak akar terhadap cisplatin memiliki nilai statistik yang berbeda pula secara signifikan. Meskipun akar memiliki nilai toksisitas yang rendah, namun ekstrak akar tidak memiliki aktivitas antikanker.

Bagian ekstrak batang tanaman *Helianthus annuus* pada pengujian *post hoc* dibandingkan dengan ekstrak akar, biji dan daun memiliki nilai $p=0,000$ sehingga terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai LC_{50} dari batang merupakan nilai tertinggi dari bagian ekstrak organ lainnya lainnya, sehingga terjadi perbedaan

nilai secara signifikan antara batang dengan organ lainnya. Meskipun batang memiliki nilai toksisitas yang rendah, namun ekstrak batang tidak memiliki aktivitas antikanker. Sehingga ekstrak batang tidak mempengaruhi pada sel normal maupun pada sel HeLa.

Ekstrak biji jika diuji dengan uji *post hoc* dibandingkan dengan ekstrak akar dan batang memiliki perbedaan signifikan. Pada perbandingan antara ekstrak biji dengan ekstrak daun tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Sehingga antara ekstrak biji dengan ekstrak daun memiliki nilai LC_{50} yang tidak memiliki perbedaan signifikan ($p=0,997$). Jika ekstrak biji dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin ekstrak biji tidak memiliki perbedaan signifikan ($p=1,01$), namun nilai LC_{50} antara cisplatin dengan ekstrak biji lebih tinggi ekstrak biji. Sehingga ekstrak biji memiliki sifat lebih rendah untuk mematikan sel normal dibandingkan cisplatin. Hali, ini dibuktikan dengan nilai LC_{50} ekstrak biji 2 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan cisplatin. Meskipun ekstrak biji masuk kategori toksik, namun memiliki potensi sebagai antikanker. Untuk mengetahui aktivitas antikanker dan keamanan ekstrak, perlunya uji selektivitas indeks untuk mengetahui hubungan aktivitas antikanker dan toksisitas pada sel normal.

Ekstrak daun memiliki nilai LC_{50} yang paling rendah dari akar, batang dan biji. Pada pengujian *post hoc* ekstrak daun jika dibandingkan dengan ekstrak akar dan batang memiliki nilai perbedaan yang signifikan. Sedangkan, perbandingan ekstrak daun dengan ekstrak biji tidak memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik. Ekstrak daun jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin tidak memiliki perbedaan nilai yang signifikan ($p=1,063$). Ekstrak daun memiliki

sifat lebih rendah untuk mematikan sel normal dibandingkan cisplatin Sehingga, ekstrak daun dibandingkan dengan cisplatin lebih aman. Meskipun ekstrak daun masuk dalam kategori toksik, namun memiliki potensi sebagai antikanker. Untuk mengetahui lebih lanjut hasil potensi tersebut perlunya uji selektivitas indeks untuk mengetahui hubungan aktivitas antikanker dan toksisitas pada sel normal.

3 . Hasil Selektivitas Indeks pada Ekstrak Etanol 96% Akar, Batang, Biji dan Daun *Helianthus annuus*

Kriteria dalam pemilihan senyawa antikanker tidak hanya melihat dari sitotoksik saja, namun dilihat juga dari selektivitas pada sel normal. Tujuan dilakukan analisis selektivitas indeks adalah untuk mengetahui aman tidaknya suatu ekstrak yang memiliki aktivitas antikanker terhadap sel normal. Paramater selektivitas indeks adalah apabila nilai $SI > 3$ maka ekstrak dikatan selektif. Makna selektif tersebut adalah ekstrak mempunyai aktivitas antikanker tanpa mempengaruhi sel normal dan dapat digunakan lebih lanjut sebagai senyawa antikanker (Rollando, 2016).

Tabel 5.15 Nilai Selektivitas Index (SI) pada cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji, daun *Helianthus annuus*

Bagian	SI±SD*	Selektivitas
Akar	1,163±0,271	Tidak Selektif
Batang	0,763±0,552	Tidak Selektif
Biji	3,770±0,155	Selektif
Daun	5,647±0,980	Selektif
Cisplatin	5,383±1,882	Selektif

*Rata-rata viabilitas ± Simpangan Deviasi, dengan replikasi 3 kali.

Ekstrak dapat dikategorikan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila memiliki nilai $SI \geq 3$ dan dikategorikan tidak selektif apabila nilai $SI < 3$ (Sutejo

et al., 2016). Berdasarkan penelitian ekstrak akar dan batang dikategorikan tidak selektif, sehingga ekstrak akar dan batang *Helianthus annuus* tidak memiliki potensi sebagai senyawa antikanker. Pada ekstrak daun dan biji *Helianthus annuus* dikategorikan memiliki selektivitas yang tinggi. Hasil selektivitas indeks pada ekstrak daun *Helianthus annuus* lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif yaitu cisplatin. Selektivitas artinya agen kemopreventif pada ekstrak biji dan daun menyerang pada sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja, sedangkan pada sel normal tidak diserang. Cara agen kemopreventif membedakan sel kanker dan sel normal adalah berdasarkan kebutuhan akan *Adenosine Triphosphate* (ATP). Sel kanker akan bereplikasi secara cepat dan aktif, sehingga membutuhkan banyak energi. Agen kemopreventif kemudian menempel pada mitokondria sel kanker kemudian memblok produksi energi (Sutejo *et al.*, 2016).

Analisis data dimulai dari uji normalitas *shapiro wilk* menggunakan IBM SPSS Versi 25. Kebermaknaan uji normalitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Pada penelitian ini pada uji normalitas didapatkan hasil $p = 0,202$. Hasil dapat dilihat pada lampiran 5. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *levne*. Kebermaknaan uji homogenitas dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka varian kelompok perlakuan homogen, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka varian antar kelompok perlakuan tidak homogen. Data pada penelitian menunjukkan nilai $p = 0,013$. Pada rentang nilai tersebut makna data penelitian adalah varian antar kelompok tidak homogen ($p < 0,05$). Sehingga perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji non parametrik

yaitu menggunakan uji *kruskal-wallis*. Hasil dari uji tersebut didapatkan signifikansi yaitu $p < 0,05$. Sehingga data dapat dilanjutkan menuju uji *post hoc tuckey*. Tujuan dilakukan uji *post hoc* adalah untuk membandingkan varian satu terhadap varian yang lainnya. Makna signifikansi dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p < 0,05$, maka adanya perbedaan secara signifikan antar varian satu terhadap varian lainnya. Sebaliknya, jika $p > 0,05$, maka perbedaan antar varian tidak signifikan.

Tabel 5.16 Analisis Data Selektivitas Indeks pada Cisplatin, ekstrak etanol 96% akar, batang, biji dan daun *Helianthus annuus*

Bagian		Nilai signifikansi	Signifikansi
Akar	Batang	0,986	tidak signifikan
	Biji	0,055	tidak signifikan
	Daun	0,002	signifikan
	Cisplatin	0,003	signifikan
Batang	Akar	0,986	tidak signifikan
	Biji	0,026	signifikan
	Daun	0,001	signifikan
	Cisplatin	0,001	signifikan
Biji	Akar	0,055	tidak signifikan
	Batang	0,026	signifikan
	Daun	0,216	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,334	signifikan
Daun	Akar	0,002	signifikan
	Batang	0,001	signifikan
	Biji	0,216	tidak signifikan
	Cisplatin	0,997	tidak signifikan
Cisplatin	Akar	0,003	signifikan
	Batang	0,001	signifikan
	Biji	0,334	tidak signifikan
	Daun	0,997	tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.16 bagian akar tidak memiliki nilai signifikansi pada bagian batang dan biji. Jika dibandingkan dengan kontrol positif bagian akar

memiliki hasil signifikan. Nilai selektivitas indek pada akar tidak masuk dalam kategori selektif. Sehingga, akar tidak memiliki aktivitas sitotoksik, maupun toksisitas. Pada bagian batang tidak memiliki nilai yang signifikan pada bagian akar saja, namun hasil signifikan pada biji, daun dan cisplatin. Ekstrak batang tidak memiliki aktivitas sitotoksik, maupun toksisitas.

Ekstrak biji memiliki nilai yang tidak signifikan pada ekstrak daun, akar dan cisplatin. Jika dibandingkan dengan cisplatin, ekstrak biji memiliki nilai signifikansi yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak daun. Sehingga, Ekstrak daun memiliki potensi yang tinggi sebagai senyawa antikanker. Hal ini, dibuktikan dengan nilai selektivitas indeks ekstrak daun dengan nilai tertinggi dibandingkan dengan cisplatin dan nilai signifikansi selektivitas yang lebih dekat dengan cisplatin.

5.6 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Al-Quran

Tanaman bunga matahari dapat digunakan sebagai pengobatan. Hal ini, dibuktikan dengan adanya penelitian antikanker tanaman *Helianthus annuus*. Penelitian ini membahas tentang bagian tanaman *Helianthus annuus* yaitu akar, batang, biji dan daun yang memiliki aktivitas antikanker. Rosulullah SAW telah mengajarkan kita untuk menggunakan berbagai tanaman sebagai pengobatan.

Mempelajari tentang berbagai tanaman yang digunakan untuk pengobatan merupakan bentuk ibadah kita sebagai umat yang memiliki sifat *ulul albab*. Orang-orang yang memiliki sifat *ulul albab* yaitu orang yang memiliki akal. Allah SWT berfirman dalam Surat Al-Imran ayat 190

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٧﴾

Artinya : "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal"

Salah satu karunia Allah SWT yang perlu dipikirkan adalah menggali ilmu pengetahuan obat-obatan yang berasal dari tanaman. Beraneka ragam jenis tanaman di dunia ini merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah SWT. tanaman dimuka bumi ini Allah SWT tumbuhkan dengan segala kemanfaatnya. Hal ini, sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat As syu'ara ayat 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik"

Ayat tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat, salah satunya digunakan sebagai pengobatan (Shihab , 2000). Tumbuhan memiliki berbagai macam jenis yang dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit salah satunya tanaman *Helianthus annuus*. Tanaman bunga matahari memiliki banyak manfaat seperti pengobatan, bahan makanan dan bahan mentah minyak, namun dalam hal ini harus dipelajari dahulu sejauh mana manfaatnya. Dalam Surat Al-Imran ayat 190 sebagai umat islam harus memiliki sifat *ulul albab*. Sehingga segala sesuatu harus dipikirkan tentang manfaat pada *Helianthus annuus* dimana salah satu manfaatnya dapat digunakan sebagai pengobatan kanker serviks.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% akar dan batang *Helianthus annuus* adalah $>1000 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} biji *Helianthus annuus* yaitu $153,76 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} pada daun *Helianthus annuus* yaitu $126,63 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang terendah adalah pada bagian daun sedangkan yang tertinggi pada bagian akar dan batang *Helianthus annuus* berpotensi sebagai antikanker.
2. Terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% daun dengan batang *Helianthus annuus*, sedangkan antara cisplatin, biji dan akar *Helianthus annuus* tidak memiliki nilai perbedaan yang bermakna.
3. Nilai LC_{50} ekstrak etanol 96% akar dan batang *Helianthus annuus* adalah >1000 . Nilai LC_{50} ekstrak etanol 96% biji dan daun *Helianthus annuus* berturut-turut $578,873 \mu\text{g/mL}$ dan $537,041 \mu\text{g/mL}$. Nilai LC_{50} tertinggi pada bagian akar dan batang, sedangkan nilai LC_{50} terendah pada bagian daun.
4. Terdapat perbedaan yang bermakna LC_{50} antara ekstrak etanol 96% akar dan batang *Helianthus annuus* dengan ekstrak biji, daun dan cisplatin. Ekstrak biji, daun dan cisplatin tidak terdapat perbedaan yang bermakna.
5. Nilai Selektivitas Indeks (SI) pada ekstrak etanol 96% akar *Helianthus annuus* sebesar 1,163, ekstrak batang *Helianthus annuus* sebesar 0,763. Nilai selektivitas indeks pada ekstrak biji dan daun *Helianthus annuus* berturut-turut 3,770 dan 5,647. Nilai Selektivitas indeks tertinggi pada ekstrak etanol

96% daun, sedangkan terendah pada ekstrak etanol 96% batang *Helianthus annuus*. Ekstrak daun *Helianthus annuus* aman digunakan sebagai antikanker.

6. Terdapat perbedaan nilai SI yang bermakna antara ekstrak etanol 96% batang dengan cisplatin, biji dan daun *Helianthus annuus*. Tidak terdapat perbedaan nilai SI yang bermakna antara ekstrak akar dengan biji *Helianthus annuus*. Tidak terdapat perbedaan antara ekstrak daun, biji dan cisplatin.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji lebih lanjut secara *in vivo* pada hewan coba.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antikanker menggunakan fraksi daun dan biji *Helianthus annuus*, sehingga lebih memperkuat bukti adanya aktivitas antikanker pada bagian daun dan biji *Helianthus annuus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-jumaily, Rakad; Nawal, Al-shamma; Al-habosiy and Laith Al-shamma. 2013. Anticancer Activity of Sunflower (*Helianthus annuus*) Seeds oil cell lines. *iraqo of journal*. Volume 54. Nomor 4.
- Altemimi, Ammar; Dennis, Watson; Ruplal, Choudhary; Mallika Dasari, and David Lightfoot. 2016. Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Peaches and Pumpkins. *PLOS*. Volume 11. Nomor 2.
- Arundina, Ira; Theresia, Indah Budhy; Muhammad, Luthfi; and Retno Indrawati. 2015. Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Sudamala (*Artemisia vulgaris* L.). *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. Volume 1, No. 2.
- Ayllón; Villar; Galindo; Kocan; Šíma; López. 2015. Systems Biology of Tissue-Specific Response to Anaplasma phagocytophilum Reveals Differentiated Apoptosis in the Tick Vector Ixodes scapularis. *PLOS Genetics*. Volume 11. Nomor 3.
- Bashir, T.; zia, Zahara; Haider, S.; and Tabasum, S. 2015. Chemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses of *Helianthus annuus* (sunflower). *Pure and Applied Biology*. Volume 4. Nomor 2.
- Brahmachari, Goutam; 2009. Nevadensin: Isolation, chemistry and bioactivity. *International Journal of Green Pharmacy*. Volume 4. Nomor 4
- Burdall; Sarah; Andrew, hanby; Mark, Lansdown , and Valerie Speirs. 2003. Breast cancer cell lines: friend or foe?. *Breast Cancer Research*. Volume 5, no. 2
- Burn; Wells; Schwinghammer; Malon; Kolesar; and Rotschafer. 2007. *Pharmacotherapy Principle and Practice*. San Fransisco: Mc Graw Hill. Volume 4. Nomor 2
- CCRC . 2009. Sel Kanker. Yogyakarta; Fakultas Farmasi UGM
- Chadwick, Martin; Harriet, Trewin; Frances Gawthrop dan Carol Wagstaff. 2013. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular*. Volume 14. Nomor 3.
- Choudhari, Amit; Snehal, Suryavanshi dan Ruchika Kaul-Ghanekar. 2013. The Aqueous Extract of Ficus religiosa Induces Cell Cycle in Human Cervical Cancer Cell Lines SiHa (HPV-16). *Plos One*. Volume 8. nomor 7.

- Chung, Sang-Hyuk; Chung, Silvia; Franceschi and Paul Lambert. 2010. Estrogen and ER Culprits in Cervical Cancer. *National Institute of Health*. Volume 21. Nomor 8.
- Cooper; Geoffrey, M and Robert E Hausman. 2007. *The Cell a Moleculer Approach*. Washington, DC: Sinauer Associates, Inc.
- Costantino, Valeria; Sabrina, mansilla; Juliana, speroni; Celina, amaya; and Daniel, ciocca. 2013. The Sesquiterpene Lactone Dehydroleucodine Triggers Senescence and Apoptosis in Association with Accumulation of DNA Damage Markers. *Plos One*. Volume 8 Nomor 1.
- DeFilippis; Rosa, Anna; Edward, Goodwin; Lingling Wu and Daniel DiMaio. 2003. Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in HeLa Cervical Carcinoma Cells. *Journal of Virology*. Volume 77. nomor 2 .
- DiPiro, Joseph; Robert, Talbert; Gary, Yee; Gary, Matzke; Barbara, Wells and Posey. 2008. *Pharmacotherapy Pathophysiologic Approach*. 7th edition. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI. 2013. *Farmakologi dan Terapi*. edisi ke- 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Duval, Clarot, Dumarcay-Charbonnier , Fontanay, and Marsuara. 2012. Interest of designed cyclodextrin-tools in gene delivery. Elsevier masson. Volume 70. Nomor 6.
- Dwivedi , A; Sharma, G dan Khausik A. 2015. Evaluation of *Helianthus annuus* L. Leaves Extract for the Antidiarrheal and Antihistminic Activity. *IJRAP*. Volume 6. Nomor 1.
- Dwivedi, and Sharma. 2014. A Review on Heliotropism Plant: *Helianthus annus*. *The Journal Pharmacology*. Volume 3. Nomor 2.
- Febriani, Diana; Dina, Mulyanti and Endah Riswati. 2015. Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Proseding Penelitain Unisba*, 475-480.
- Gilman dan Alfred, Goodman. 2008. *Manual of Pharmacology and therapeutics*. San Diego: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Gilman dan Alfred, Goodman. 2012. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi ke-10. Jakarta: EGC.
- Gottesman; Michael; Tito, Fojo dan Susan Bates. 2002. Multidrug Resistance In Cancer: Role Of Atp-Dependent Transporters. *Macmillan Magazines*. Volume 2.

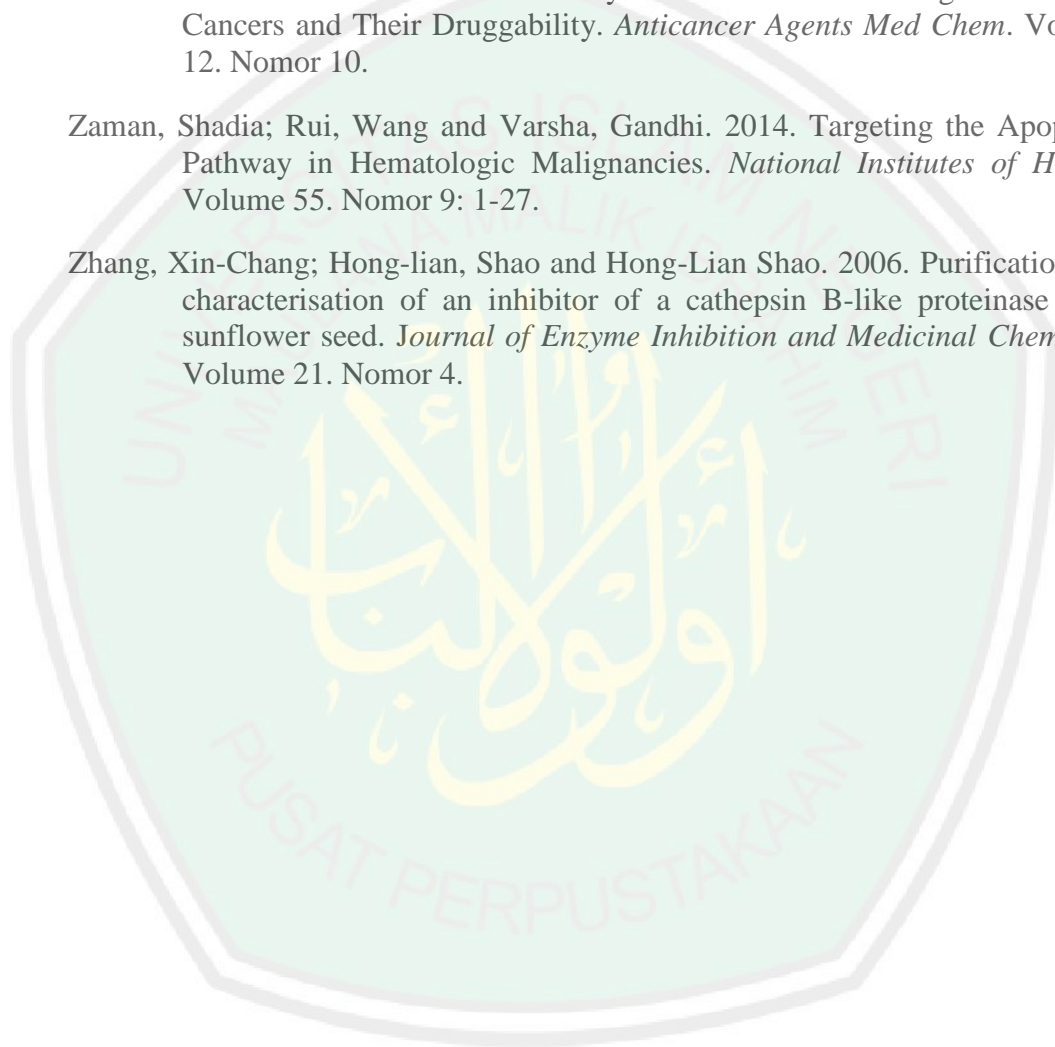
- Guo, Shuangshuang and Yan, Ge. 2017. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.). *Chemistry Central Journal*. Volume 11. Nomor 95.
- Hassan , A. 1968. *Soal Jawab, Makanan dan Minuman*. edisi ke-296. Jakarta: CV. Diponegoro.
- Heller, Annerose; Evelyn, Amrehn; Anna-Katharina, Aschenbrenner, and Otmar Spring. 2015. Localization of sesquiterpene lactone biosynthesis in cells of capitate glandular trichomes of *Helianthus annuus*. *springer verlag*. Volume 253. nomor 2.
- Horner, Stacy; Ros, Anna; DeFilippis; Laertes, Manuelidis and Daniel DiMaio. 2003. Repression of the Human Papillomavirus E6 Gene Initiates p53-Dependent, Telomerase-Independent Senescence and Apoptosis in HeLa Cervical Carcinoma Cells. *Journal of Virology*. Volume 78. Nomor 8.
- Hossam M., Ashour. 2008. Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oils and extracts from stems, leaves, and flowers of *Eucalyptus sideroxylon* and *Eucalyptus torquata*. *Cancer Biology*. Volume 7. Nomor 3.
- Indrayoni, Putu; Diah, Purwanti; Suwidji, Wongso; Bambang, Prajogo; and Gunawan, Indrayanto. 2016. Metabolite Profiles in Various Plant Organs of *Justicia gendarussa* Burm.f. and Its in Vitro Cultures. *Scientia Pharmaceutia*. Volume 84. Nomor 3: 555-566.
- Ismiyah, Fadhilatul ; Begum, Fauziyah; Roihatul, Muti'ah, and Fasya. 2014. Identifikasi Golongan Senyawa Dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95 % Daun, Kulit Batang Dan Akar Pulai (*Alstonia Scholaris* (L.) R. Br.) Terhadap Mencit Balb/C. (*Alchemy*). Volume 3, No. 1.
- Jimenez, Ana; Maria; Branislav; Ruttkay, Nedecky; Lukas, Nejd; Dagmar, Chudobova; Jaromir, Gumulec and Michal Masarik.. 2013. Relevance of infection with human papillomavirus: The role of the p53 tumor suppressor protein and E6/E7 zinc finger proteins (Review). *International Journal Of Oncology*. Volume 43. Nomor 2.
- Jonathan. 2013. The Genomic and Transcriptomic Landscape of a HeLa Cell Line. *genes, genom, genetics*. Volume 3. Nomor 4.
- Jonathan, J; Cherry, Anne; Rietz and Anna Malinkevich. 2013. Structure Based Identification and Characterization of Flavonoids That Disrupt Human Papillomavirus-16 E6 function. *PLOS ONE*. Volume 8. Nomor 12 .

- Kamal, Javed. 2011. Quantification of alkaloids, phenols and flavonoids sunflower (*Helianthus annuus* L. *African Journal of Biotechnology*. Volume 10. Nomor 16 .
- Katzung; Bertram; Susan, Masters; dan Anthony Trevor. 2011 *Basic & Clinical Pharmacology*. Edisi-12. San Fransisco: Mc Graw Hill.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Serviks*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2015 *Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI* . Jakarta: KeMenKes RI .
- King; Roger, J; and Mike, Robins. 2006. *Cancer Biology*. Edisi ke-3. London: Ashford Colour Press Ltd.
- Kitai, Yurita; xia, zhang; Yushi, Hayashida; Yoshiyuki, Kakehi and Hirotoishi Tamura. 2016. Induction of G2/M Arrest and apoptosis through mitochondria pathway by a dimer sesquiterpene lactone from *Smallanthus sonchifolius* in HeLa cells. *journal food and drug analysis*. Volume 25. Nomor 3 .
- Landry, jonathan. 2013. The Genomic and Transcriptomic Landscape of a HeLa Cell Line. *genes genom*. Volume 3. Nomor 13.
- Lillian; Smith, J; Patterson, L.T; Walker , and M. Verghese. 2016. Chemopreventive Potential of Sunflower Seeds in a Human Colon Cancer Cell Line. *International Journal of Cancer Research*. Volume 12. Nomor 1.
- Machana, Sasipawan; Weerapreeyalld; Natthida; Sahapat barusrut; Apiyada nonpunya; and bungurn sripanidkulchai. 2011. Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line. *Biomed Central*. Volume 6, No. 39.
- Macias, Fransisco; jose, Molinillo; Ascension, Torres and Diego Castellano. 1996. Bioactive Flavonoids from *Helianthus annuus* Cultivars. *Elsevier*. Volume 45. Nomor 4
- Mahapatra; Debarshi, Kar; Sanjay, Bharti and Vivek Asati . 2015. Anti-cancer Chalcones: Structural and Molecular Target Perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 98.
- Menteri Kesehatan. 1994. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 661/MENKES/SK/VII/ 1994 Tentang Persyaratan Obat Tradisional.

- Muti'ah, Roihatul. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka Antikanker*. Malang: Uin-Maliki Press.
- Mutiah R, Listiyana A, Indradmojo C, Griana TP, Dwi HH, Atmaja RR. 2017. Induction of Apoptosis and Phase-Cell Cycle Inhibition of G0-G1, S, G2-M of T47D Breast Cancer Cells on Treatment with Ethyl Acetate Fraction of Jackfruit Parasite Leaves (*Macrosolen cochinchinensis*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Volume 7. Nomor 10: 138-143.
- Mutiah, Roihatul; Riadul, Badiah; Elok, Hayati and Aty Widyawaruy. 2017. Activity of Antimalarial Compounds from Ethyl Acetate Fraction of Sunflower Leaves (*Helianthus annuus L.*) against *Plasmodium falciparum* Parasites 3D7 Strain. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*. Volume 7. Nomor 2.
- Mutiah, Roihatul; Risma, Kristanti and maimunah, siti. 2017. Synergistic Effects of Doxorubicin and Cardenolid Glycosides of *Calotropis Gigantea* Root on cervical cancer Hela Cell Line. *Traditional Medicine Journal*. Volume 22. Nomor 2 .
- Mutiah R, Widyawaruyanti A. Sukardiman S. 2018. Calotroposid A: a Glycosides Terpenoids from *Calotropis gigantea* Induces Apoptosis of Colon Cancer WiDr Cells through Cell Cycle Arrest G2/M and Caspase 8 Expression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. Volume 19. Nomor 6:1457-1464.
- Mutiah, Roihatul, Widyawaruyanti A. Sukardiman S. 2018. *Calotropis gigantea* Leaf Extract Increases the Efficacy of 5-Fluorouracil and Decreases the Efficacy of Doxorubicin in Widr Colon Cancer Cell Culture. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Volume 8. Nomor 4: 51-56
- Nieuwerburgh, F; Castele, S; Maes, L; Goossens, A; Inze, D and Bocxlaer, J. 2006. Quantitation of Artemisinin and Its Biosynthetic Precursors in *Artemisia Annua* by High Performance Liquid Chromatography–Electrospray Quadrupole Time-Of-Flight Tandem Mass Spectrometry. *Journal of chromatography*. Volume 3. Nomor 201.
- Nour, Nawal. 2009. Cervical Cancer: A Preventable. *EvIEWS In Obstetrics & Gynecology*. Volume 2. Nomor 4.
- Nurani, Laela. 2016. Cytotoxicity And Antiproliferative Test On T47d And Vero Cell Lines Of *Nigella Sativa*, L Seed. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Volume 2. Nomor 1.

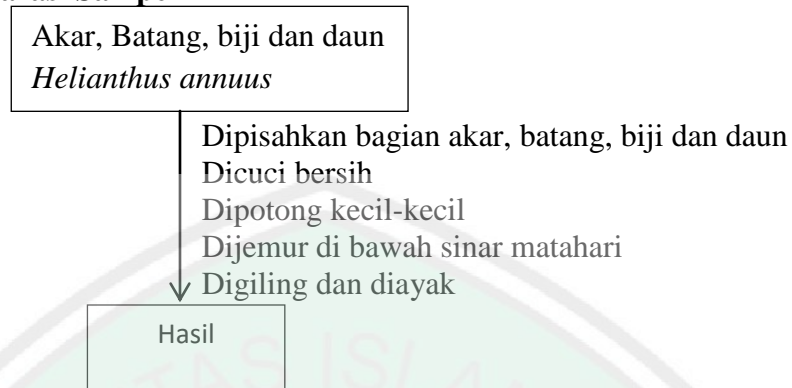
- Ooi; Hsu, Kiang and Lan Ma. 2013. Modeling heterogeneous responsiveness of intrinsic apoptosis pathway. *SystemsBiology*. Volume 7. Nomor 65: 1-18.
- Pérez-Garijo, Ainhoa; Yaron, Fuchs and Hermann Steller. 2013. Apoptotic cells can induce nonautonomous apoptosis through the TNF pathway. *eLIFE Research Article*. Volume 2. Nomor 3.
- Prayong, Barusrux, and Weerapreeyakul. 2008. Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *elsevier*. Volume 79. No. 4
- Rahmawati, Ani, and Widya Putri. 2013. The Characteristic of Pamellofruit Peel Extract Used Ultrasonic Bath Assisted Method (Study Of Blanching And Extraction Time). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume. Nomor 1.
- Rollando. 2016. Cytotoxic Activity Of Fermentation Extract And Fraction Endophytic Fungi Genus *Cephalosporium* sp Isolated From Meniran Leaf (*Phyllanthus niruri* Linn.) ." *Jurnal Wiyata*. Volume 3, no. 1
- Ruddon, Raymond. 2007. *Cancer Biology*. New York: Oxford University Press, Inc.
- Saralamma, V; Nagappan, A; Eun, Hong; Jeong, Lee; Yumnam, S and Raha. 2015. Poncirin Induces Apoptosis in AGS Human Gastric Cancer Cells through Extrinsic Apoptotic Pathway by up-Regulation of Fas Ligand. *International Journal of Molecular Sciences*. Volume 16. Nomor 3.
- Sen; Saikat and Raja, Chakraborty. 2017. Revival, modernization and integration of Indian traditional herbal medicine in clinical practice: Importance, challenges and future. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Volume 7. Nomor 3.
- Shihab , M Q. 2000. *Tafsir Al Misbah*. Volume. 1. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab , M. Q. 2000. *Tafsir Al Misbah* . Volume. 7. Jakarta: Lentera Hati.
- Siu, Y; Yam, and Poon R Y. 1999. G1 versus G2 Cell Cycle After Adriamycin-induced Damage in Mouse Swiss3T3 Cells. *FEBS latter*. Volume 461. Nomor 3: 299-305.
- Sudjadi. 2007. *Kimia Farmasi Analisis* . Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Suriana, and neti. 2013. *Ensiklopedia tanaman obat*. Malang: Rumah Ide.
- Sutejo, Ika; Herwandhani, Putri dan Edy, Meiyanto. 2016. Selektivitas Ekstrak Etanolik Buah Makassar *Brucea javanica* pada Kanker Payudara Metastasis secara In vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. Volume 2. no. 1.

- Syukri. 1999. *Kimia Dasar 1*. Vol. 1. Bandung: Penerbit ITB.
- Vermeulen, K, Z.N; Berneman and Van, Bockstaele. 2003. Cell Cycle and Apoptosis. *Cell Proliferasi*. Volume 36. Nomoe. 3: 165-175.
- Wagner, and bladt. 1996. *Plant Drug Analysis*. German: Springer
- Wanga, H; Khorb, T; Shub, L; Su, Z; Fuentesb, F; and Lee. 2012. Plants Against Cancer: A Review on Natural Phytochemicals in Preventing and Treating Cancers and Their Druggability. *Anticancer Agents Med Chem*. Volume 12. Nomor 10.
- Zaman, Shadia; Rui, Wang and Varsha, Gandhi. 2014. Targeting the Apoptosis Pathway in Hematologic Malignancies. *National Institutes of Health*. Volume 55. Nomor 9: 1-27.
- Zhang, Xin-Chang; Hong-lian, Shao and Hong-Lian Shao. 2006. Purification and characterisation of an inhibitor of a cathepsin B-like proteinase from sunflower seed. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. Volume 21. Nomor 4.

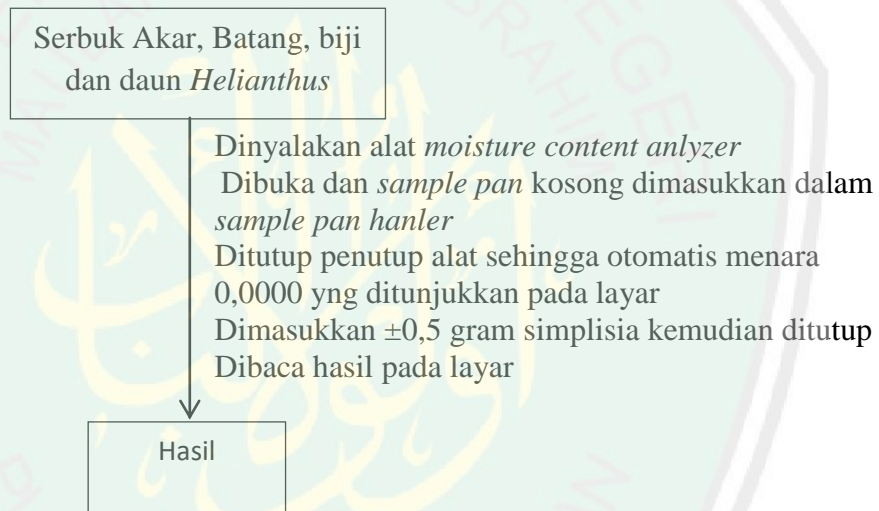


Lampiran 1 Skema Kerja

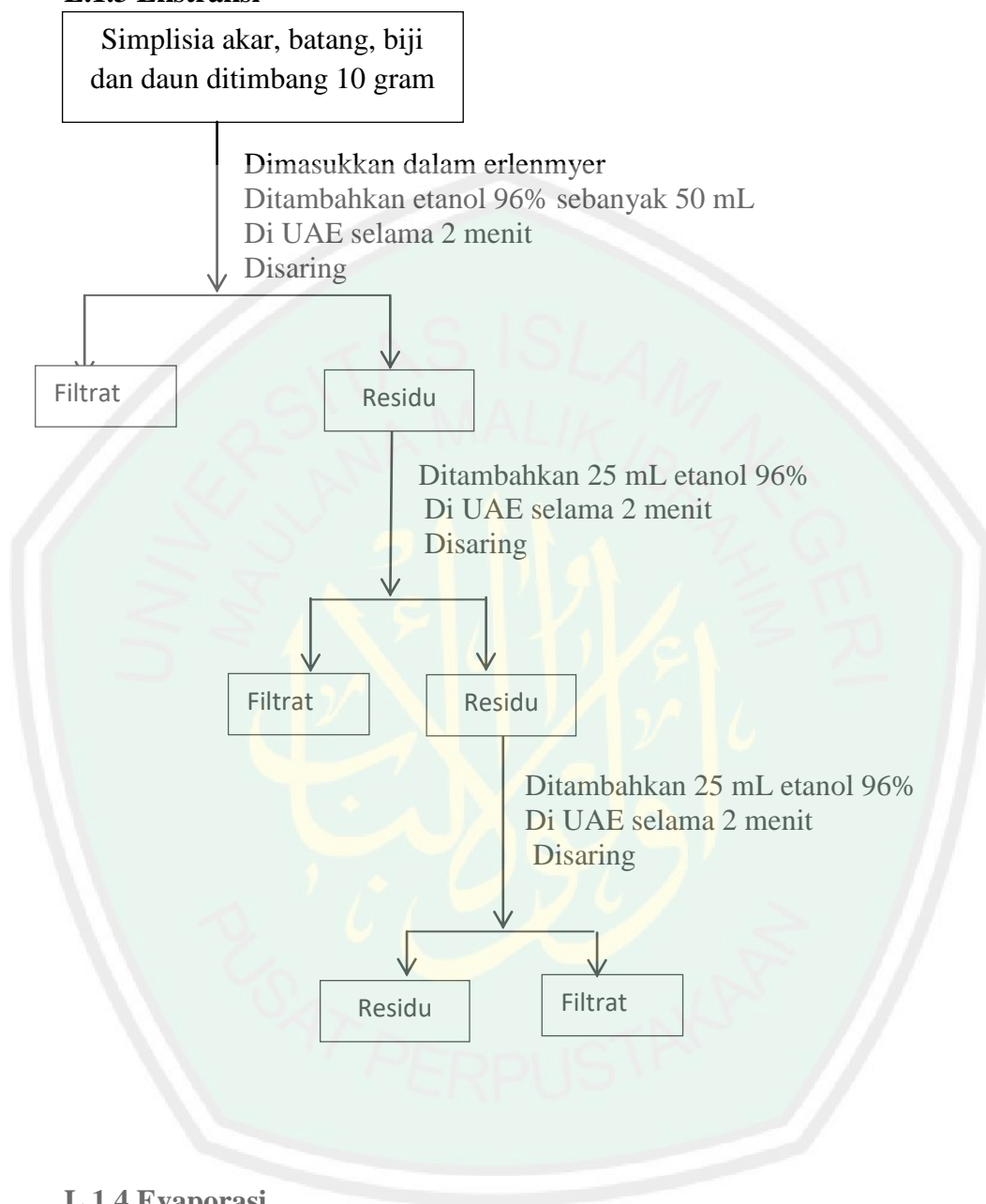
L.1.1 Preparasi Sampel



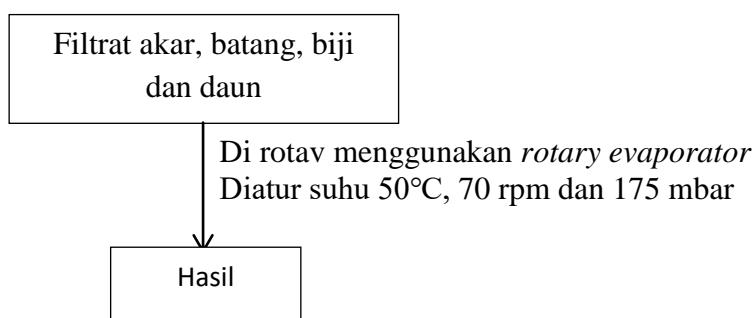
L.1.2 Analisa Kadar Air



L.1.3 Ekstraksi

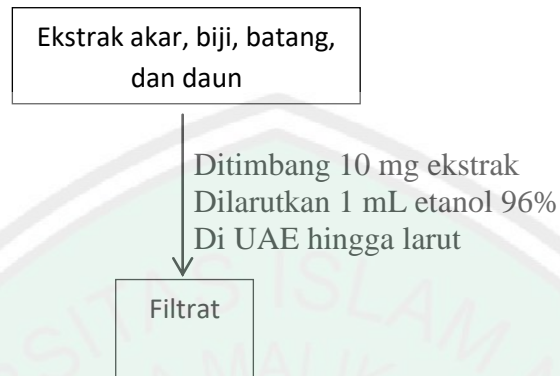


L.1.4 Evaporasi

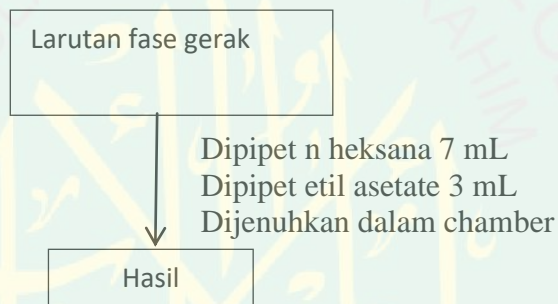


L.1.5 Uji KLT

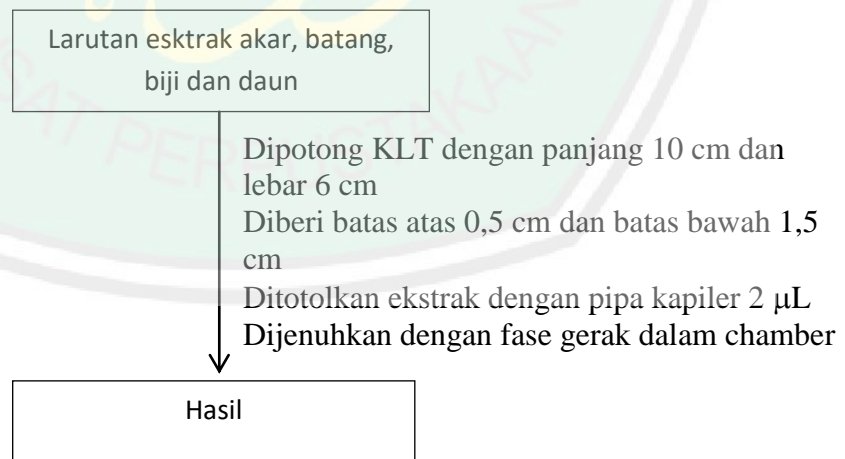
L.1.5.1 Persiapan Sampel



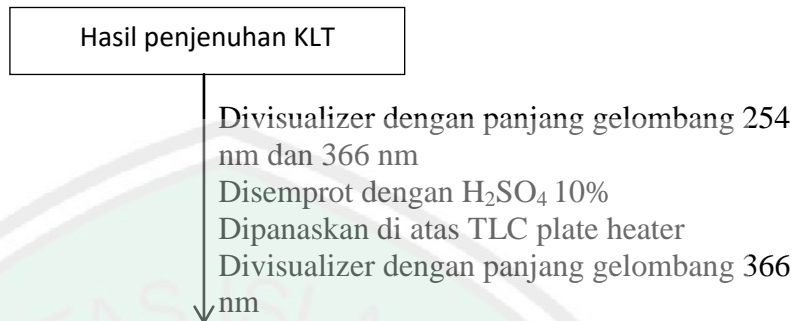
L.1.5.2 Penjenuhan Fase Gerak



L.1.5.3 Penotolan



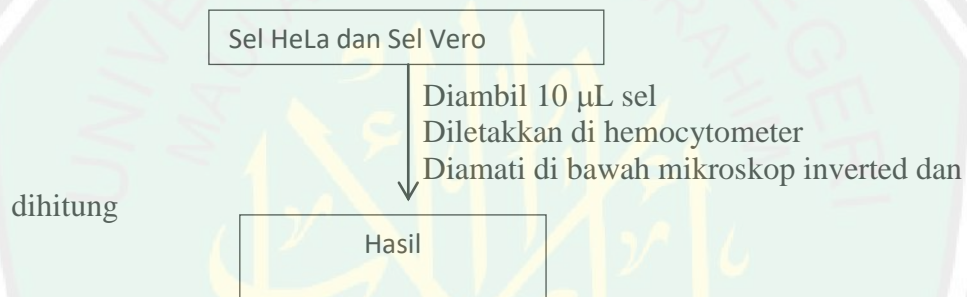
L.1.5.4 Visualizer



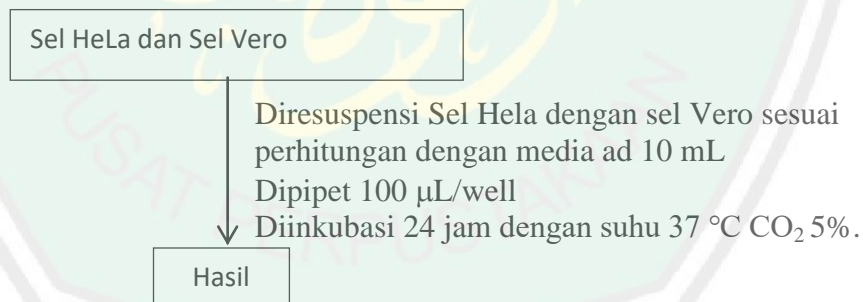
Hasil

L.1.6 Uji Aktivitas Antik

L.1.6.1 Perhitungan Sel



L.1.6.2 Peletakkan sel



L. 1.6.3 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Sampel

Ekstrak Akar, batang, biji
dan Daun *Helianthus*

Ditimbang 10 mg Ekstrak
Diencerkan dengan DMSO 100 μ L
Divortex
Dibuang semua media pada sel
Dimasukkan sampel 100 μ L dengan
konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25
dan 15,125 ppm
Diinkubasi 24 jam dengan suhu 37 $^{\circ}$ C CO₂
5%.

Hasil

L.1.6.4 Pembuatan Larutan MTT

Sel HeLa dan Sel Vero

Dibuang semua media
Diresuspensi MTT 1 mL dalam 10 mL
media
Dipipet 100 μ L/well
Diinkubasi 3 jam
Diamatin formazan di bawah mikroskop
inverted
Ditambahkan 100 μ L/well SDS
Dibungkus plate dengan aluminium foil
Diinkubasi 24 jam pada temperatur ruang
Dibaca nilai absorbansi dengan ELISA
reader

Hasil

Lampiran 2 Perhitungan Rendemen

1. Daun tanaman Bunga Matahari

Berat simplisia = 59,2447 g
 Berat cawan akhir (A) = 32,837 g
 Berat cawan awal (A) = 29,823 g
 Berat cawan akhir (B) = 33,738 g
 Berat cawan awal (B) = 29,875 g

Rumus

$$\%rendemen = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat (g)}}{\text{Berat simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

Jawab

Berat ekstrak yang didapat (A) =

$$\begin{aligned} & \text{Berat cawan akhir (A)} - \text{Berat cawan awal (A)} \\ & = 32,837 \text{ gram} - 29,8226 \text{ gram} \\ & = 3,0144 \text{ gram} \end{aligned}$$

Berat ekstrak yang didapat (B) =

$$\begin{aligned} & \text{Berat cawan akhir (B)} - \text{Berat cawan awal (B)} \\ & = 33,7384 \text{ gram} - 29,8752 \text{ gram} \\ & = 3,8632 \text{ gram} \end{aligned}$$

Total berat ekstrak yang didapat =

$$\begin{aligned} & \text{Berat ekstrak(A)} - \text{Berat ekstrak(B)} \\ & = 3,0144 \text{ gram} - 3,8632 \text{ gram} \\ & = 6,8776 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%rendemen (\text{daun}) &= \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\% \\ &= \frac{6,8776 \text{ gram}}{58,2447 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,808\% \end{aligned}$$

2. Akar tanaman Bunga Matahari

Berat serbuk simplisia = 45,0051 gram
 Berat cawan kosong = 31,682 gram
 Berat cawan isi = 33,2578 gram

Ditanya = Rendemen ekstrak akar (%)

Jawab

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak yang didapat} &= \text{Berat cawan isi} - \text{Berat cawan kosong} \\ &= 33,2678 - 31,682 \\ &= 1,585 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\%rendemen (\text{akar}) = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,585 \text{ gram}}{45,0051 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 10,563\%$$

3. Batang tanaman Bunga Matahari

Berat serbuk simplisia = 77,6125 gram

Berat cawan kosong = 64,764 gram

Berat cawan isi = 69,082 gram

Ditanya = Rendemen ekstrak batang (%)

Jawab

$$\text{Berat ekstrak yang didapat} = \text{Berat cawan isi} - \text{Berat cawan kosong}$$

$$= 69,082 - 64,764$$

$$= 4,318 \text{ gram}$$

$$\% \text{rendemen (batang)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{4,318 \text{ gram}}{77,6125 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 5,563\%$$

4. Batang tanaman Bunga Matahari

Berat serbuk simplisia = 70,0309 gram

Berat cawan kosong = 66,269 gram

Berat cawan isi = 69,2006 gram

Ditanya = Rendemen ekstrak biji (%)

Jawab =

$$\text{Berat ekstrak yang didapat} = \text{Berat cawan isi} - \text{Berat cawan kosong}$$

$$= 69,2006 - 66,269$$

$$= 2,931 \text{ gram}$$

$$\% \text{rendemen (batang)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{2,931 \text{ gram}}{70,0309 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 4,186\%$$

Lampiran 3 Perhitungan Sel HeLa dan Sel Vero

L.3.1 Perhitungan Sel

a. Jumlah sel HeLa yang dihitung (mL^{-1})

Diketahui : Jumlah sel kamar A=125

Jumlah sel kamar B=115

Jumlah sel kamar C=111

Jumlah sel Kamar D=84

Perhitungan :

Σ sel yang dihitung

$$= \frac{\Sigma \text{sel kamar A} + \Sigma \text{sel kamar B} + \Sigma \text{sel kamar c} + \Sigma \text{sel kamar d}}{4} \times 10^4$$

$$= \frac{125 + 115 + 111 + 84}{4} \times 10^4$$

$$= 108,75 \times 10^4$$

$$M_1 \cdot V_1$$

$$= M_2 \cdot V_2$$

$$108,75 \times 10^4 \cdot V_1$$

$$= 100.000 \times 10$$

$$108,75 \times V_1$$

$$= 100$$

$$V_1$$

$$= 0,92 \text{ mL}$$

b. Jumlah sel Vero yang dihitung (mL^{-1})

Diketahui : Jumlah sel kamar A=33

Jumlah sel kamar B=32

Jumlah sel kamar C=26

Jumlah sel kamar D=32

Perhitungan :

Σ sel yang dihitung

$$= \frac{\Sigma \text{sel kamar A} + \Sigma \text{sel kamar B} + \Sigma \text{sel kamar c} + \Sigma \text{sel kamar d}}{4} \times 10^4$$

$$= \frac{33 + 32 + 26 + 32}{4} \times 10^4$$

$$= 30,75 \times 10^4$$

$$M_1 \cdot V_1$$

$$= M_2 \cdot V_2$$

$$30,75 \times 10^4 \cdot V_1$$

$$= 100.000 \times 10$$

$$= \frac{100.000}{30,75 \times 10^4}$$

$$V_1$$

$$= 3,25 \text{ mL}$$

c. jumlah media RPMI dan M_{199} yang diambil untuk treatment

$$M_1 V_1$$

$$= M_2 V_2$$

$$100.000 \times V_1 \mu\text{g/mL} = 1000 \text{ ppm}$$

$$= 10 \text{ mL}$$

$$= 990 \text{ mL}$$

d. jumlah cisplatin yang di ambil

BM Cisplatin = 300,01 gr/mol (1 mg = 1 mL) 1 mg = 10⁻³ gram.

$$M = \frac{10^{-3}}{300,01} \times \frac{1000}{V}$$

$$= 3,333 \text{ mM}$$

$$= 3333 \text{ } \mu\text{M}$$

Rumus mengambil cisplatin (200 $\mu\text{e/mg}$)

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 3333 = 1000 \cdot 200$$

$$3333V_1 = 200.000$$

$$V_1 = \frac{200.000}{3333}$$

$$= 60,006 \text{ } \mu\text{l}$$

$$Mk = 1000 - 60,006$$

$$= 940 \text{ } \mu\text{e (Mk)}$$

Lampiran 4 Perhitungan IC₅₀ dan LC₅₀ dengan Program SPSS**L.4.2 Perhitungan IC₅₀ dengan *probit* program SPSS**

Presentase sel hidup = $\frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\%$

Kontrol Media

1	2	3	Rata-rata
0,076	0,079	0,08	0,078

Kontrol Sel

1	2	3	Rata-rata
1,062	1,088	1,055	1,068

1. Ekstrak Akar

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			% sel hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,587	0,6	0,581	51,380	52,694	50,774
125	0,807	0,74	0,794	73,603	66,835	72,290
62,5	0,787	0,815	0,883	71,582	74,411	81,279
31,25	0,815	0,85	0,859	74,411	77,946	78,855
15,625	0,855	0,922	0,894	78,451	85,219	82,391

a. Konsentrasi 1000 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,587 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 51,380\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,6 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 52,694\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,581 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 50,774\%$

b. Konsentrasi 125 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,807 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 73,603\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,74 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 66,835\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,794 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 72,290\%$

c. Konsentrasi 62,5

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,787 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 71,582\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,815 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 74,411\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,883 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 81,279\%$

d. Konsentrasi 31,25

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,815 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 74,411\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,85 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 77,946\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,859 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 78,855\%$

e. Konsentrasi 15,625

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,855 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 78,451\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,922 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 85,219\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,894 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 82,391\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a
		Estimate	Estimate
PROBIT	,010	1014270973,083	9,006
	,020	214218226,007	8,331
	,030	79873323,526	7,902
	,040	38026994,571	7,580
	,050	20793034,909	7,318
	,060	12438457,569	7,095
	,070	7926955,970	6,899
	,080	5295612,250	6,724
	,090	3669337,326	6,565
	,100	2617733,659	6,418
	,150	646702,948	5,811
	,200	212865,434	5,328
	,250	82049,809	4,914
	,300	34855,236	4,542
	,350	15766,346	4,198
	,400	7426,756	3,871
	,450	3584,997	3,554
	,500	1750,626	3,243
	,550	854,866	2,932
	,600	412,655	2,616
	,650	194,382	2,289
	,700	87,926	1,944
	,750	37,352	1,572
	,800	14,397	1,158
	,850	4,739	0,676
	,900	1,171	0,068
	,910	0,835	-0,078
	,920	0,579	-0,238
	,930	0,387	-0,413
	,940	0,246	-0,608
,950	0,147	-0,832	
,960	0,081	-1,094	
,970	0,038	-1,416	
,980	0,014	-1,844	
,990	0,003	-2,520	

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a
		Estimate	Estimate
PROBIT	,010	37397680,654	7,573
	,020	11079933,413	7,045
	,030	5120860,770	6,709
	,040	2865427,612	6,457
	,050	1786824,916	6,252
	,060	1195372,753	6,078
	,070	840295,486	5,924
	,080	612879,251	5,787
	,090	459967,301	5,663
	,100	353173,662	5,548
	,150	118287,714	5,073
	,200	49589,076	4,695
	,250	23522,237	4,371
	,300	12039,259	4,081
	,350	6472,278	3,811
	,400	3591,597	3,555
	,450	2031,550	3,308
	,500	1159,554	3,064
	,550	661,842	2,821
	,600	374,364	2,573
	,650	207,742	2,318
	,700	111,682	2,048
	,750	57,161	1,757
	,800	27,114	1,433
	,850	11,367	1,056
	,900	3,807	0,581
	,910	2,923	0,466
	,920	2,194	0,341
	,930	1,600	0,204
	,940	1,125	0,051
,950	0,752	-0,124	
,960	0,469	-0,329	
,970	0,263	-0,581	
,980	0,121	-0,916	
,990	0,036	-1,444	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	36478606,302	7,562
	,020	11071683,521	7,044
	,030	5196017,114	6,716
	,040	2941171,871	6,469
	,050	1851325,603	6,267
	,060	1248441,617	6,096
	,070	883759,782	5,946
	,080	648629,473	5,812
	,090	489578,172	5,690
	,100	377885,387	5,577
	,150	129341,407	5,112
	,200	55166,517	4,742
	,250	26557,996	4,424
	,300	13774,893	4,139
	,350	7497,112	3,875
	,400	4209,200	3,624
	,450	2407,963	3,382
	,500	1389,778	3,143
	,550	802,124	2,904
	,600	458,872	2,662
	,650	257,630	2,411
	,700	140,218	2,147
	,750	72,727	1,862
	,800	35,012	1,544
	,850	14,933	1,174
	,900	5,111	0,709
	,910	3,945	0,596
,920	2,978	0,474	
,930	2,186	0,340	
,940	1,547	0,190	
,950	1,043	0,018	
,960	0,657	-0,183	
,970	0,372	-0,430	
,980	0,174	-0,758	
,990	0,053	-1,276	

2. Ekstrak Batang

Konsentrasi	Absorbansi			% sel hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,719	0,736	0,755	64,714	66,431	68,350
125	0,811	0,824	0,831	74,007	75,320	76,027
62,5	0,859	0,866	0,854	78,855	79,562	78,350
31,25	0,85	0,804	0,837	77,946	73,300	76,633
15,625	0,849	0,858	0,86	77,845	78,754	78,956

a. Konsentrasi 1000 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,719-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 64,714\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,736-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 66,431\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,755-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 68,350\%$

b. Konsentrasi 125 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,811-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 74,007\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,824-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 75,320\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,831-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 76,027\%$

c. Konsentrasi 62,5

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,859-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 78,855\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,866-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 79,562\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,854-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 78,350\%$

d. Konsentrasi 31,25

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,85-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 77,946\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,804-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 73,300\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,837-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 76,633\%$

e. Konsentrasi 15,625

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,849-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 77,845\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,858-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 78,754\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,86-0,078)}{(1,068-0,078)} \times 100\% = 78,956\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a
		Estimate	Estimate
PROBIT	,010	44405911208871,100	13,647
	,020	2807174666649,500	12,448
	,030	486893145807,866	11,687
	,040	130342649344,286	11,115
	,050	44619666278,818	10,650
	,060	17916841148,811	10,253
	,070	8050348248,202	9,906
	,080	3932941810,402	9,595
	,090	2050156962,266	9,312
	,100	1125509610,619	9,051
	,150	93986764,444	7,973
	,200	13064173,615	7,116
	,250	2403617,350	6,381
	,300	525554,899	5,721
	,350	128469,674	5,109
	,400	33747,816	4,528
	,450	9258,743	3,967
	,500	2592,769	3,414
	,550	726,065	2,861
	,600	199,197	2,299
	,650	52,327	1,719
	,700	12,791	1,107
	,750	2,797	0,447
	,800	0,515	-0,289
	,850	0,072	-1,146
	,900	0,006	-2,224
	,910	0,003	-2,484
	,920	0,002	-2,767
	,930	0,001	-3,078
	,940	0,000	-3,426
,950	0,000	-3,822	
,960	0,000	-4,288	
,970	0,000	-4,860	
,980	0,000	-5,621	
,990	0,000	-6,820	

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a
		Estimate	Estimate
PROBIT	,010	6691755341949,810	12,826
	,020	598174315619,558	11,777
	,030	129256810236,469	11,111
	,040	40824252974,468	10,611
	,050	15987165997,122	10,204
	,060	7198228726,762	9,857
	,070	3575795984,171	9,553
	,080	1911211246,017	9,281
	,090	1081128541,567	9,034
	,100	639906263,231	8,806
	,150	72966763,734	7,863
	,200	12991685,884	7,114
	,250	2955942,155	6,471
	,300	782148,787	5,893
	,350	228158,237	5,358
	,400	70879,879	4,851
	,450	22872,023	4,359
	,500	7514,053	3,876
	,550	2468,562	3,392
	,600	796,573	2,901
	,650	247,464	2,394
	,700	72,187	1,858
	,750	19,101	1,281
	,800	4,346	0,638
	,850	0,774	-0,111
	,900	0,088	-1,054
,910	0,052	-1,282	
,920	0,030	-1,530	
,930	0,016	-1,802	
,940	0,008	-2,105	
,950	0,004	-2,452	
,960	0,001	-2,859	
,970	0,000	-3,360	
,980	0,000	-4,025	
,990	0,000	-5,074	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	316247541024252,000	14,500
	,020	17908749267267,800	13,253
	,030	2896729276642,520	12,462
	,040	735785210749,824	11,867
	,050	241344199721,710	11,383
	,060	93450075251,379	10,971
	,070	40671116134,557	10,609
	,080	19310378917,422	10,286
	,090	9808097346,202	9,992
	,100	5257359031,751	9,721
	,150	397660411,270	8,600
	,200	51094506,157	7,708
	,250	8787331,704	6,944
	,300	1808410,248	6,257
	,350	417923,455	5,621
	,400	104089,029	5,017
	,450	27122,278	4,433
	,500	7219,510	3,859
	,550	1921,716	3,284
	,600	500,738	2,700
	,650	124,715	2,096
	,700	28,822	1,460
	,750	5,931	0,773
	,800	1,020	0,009
	,850	0,131	-0,882
	,900	0,010	-2,004
	,910	0,005	-2,275
	,920	0,003	-2,569
	,930	0,001	-2,892
	,940	0,001	-3,254
	,950	0,000	-3,666
	,960	0,000	-4,150
	,970	0,000	-4,745
	,980	0,000	-5,536
	,990	0,000	-6,783

3. Ekstrak Biji

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,107	0,099	0,109	2,895	2,088	3,098
125	0,837	0,771	0,828	76,633	69,966	75,724
62,5	0,917	0,879	0,836	84,714	80,875	76,532
31,25	0,836	0,821	0,862	76,532	75,017	79,158
15,625	0,84	0,978	0,89	76,936	90,875	81,987

a. Konsentrasi 1000 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,107 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 2,895\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,099 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 2,088\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,109 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 3,098\%$

b. Konsentrasi 125 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,837 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 76,633\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,771 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 69,966\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,828 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 75,724\%$

c. Konsentrasi 62,5

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,917 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 84,714\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,879 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 80,875\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,836 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 76,532\%$

d. Konsentrasi 31,25

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,836 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 76,532\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,821 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 75,017\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,862 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 79,158\%$

e. Konsentrasi 15,625

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,84 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 76,936\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,978 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 90,875\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,89 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 81,987\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	11156,142	4,048
	,020	6792,374	3,832
	,030	4957,909	3,695
	,040	3912,435	3,592
	,050	3226,899	3,509
	,060	2738,900	3,438
	,070	2372,136	3,375
	,080	2085,619	3,319
	,090	1855,206	3,268
	,100	1665,678	3,222
	,150	1066,160	3,028
	,200	747,862	2,874
	,250	551,699	2,742
	,300	419,812	2,623
	,350	325,920	2,513
	,400	256,321	2,409
	,450	203,164	2,308
	,500	161,626	2,209
	,550	128,580	2,109
	,600	101,915	2,008
	,650	80,151	1,904
	,700	62,225	1,794
	,750	47,350	1,675
	,800	34,930	1,543
	,850	24,502	1,389
	,900	15,683	1,195
	,910	14,081	1,149
	,920	12,525	1,098
	,930	11,012	1,042
	,940	9,538	0,979
,950	8,095	0,908	
,960	6,677	0,825	
,970	5,269	0,722	
,980	3,846	0,585	
,990	2,342	0,370	

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	4295,083	3,633
	,020	2890,246	3,461
	,030	2247,931	3,352
	,040	1860,682	3,270
	,050	1595,444	3,203
	,060	1399,691	3,146
	,070	1247,919	3,096
	,080	1126,044	3,052
	,090	1025,570	3,011
	,100	941,027	2,974
	,150	659,035	2,819
	,200	496,550	2,696
	,250	389,481	2,590
	,300	313,159	2,496
	,350	255,854	2,408
	,400	211,205	2,325
	,450	175,437	2,244
	,500	146,156	2,165
	,550	121,762	2,086
	,600	101,142	2,005
	,650	83,491	1,922
	,700	68,213	1,834
	,750	54,846	1,739
	,800	43,020	1,634
	,850	32,413	1,511
	,900	22,700	1,356
	,910	20,829	1,319
,920	18,970	1,278	
,930	17,118	1,233	
,940	15,262	1,184	
,950	13,389	1,127	
,960	11,481	1,060	
,970	9,503	0,978	
,980	7,391	0,869	
,990	4,974	0,697	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	7799,634	3,892
	,020	4922,314	3,692
	,030	3675,666	3,565
	,040	2950,695	3,470
	,050	2467,824	3,392
	,060	2119,610	3,326
	,070	1854,964	3,268
	,080	1646,171	3,216
	,090	1476,759	3,169
	,100	1336,269	3,126
	,150	883,368	2,946
	,200	635,741	2,803
	,250	479,422	2,681
	,300	372,094	2,571
	,350	294,212	2,469
	,400	235,440	2,372
	,450	189,778	2,278
	,500	153,495	2,186
	,550	124,149	2,094
	,600	100,071	2,000
	,650	80,081	1,904
	,700	63,319	1,802
	,750	49,144	1,691
	,800	37,060	1,569
	,850	26,671	1,426
	,900	17,632	1,246
	,910	15,954	1,203
,920	14,312	1,156	
,930	12,701	1,104	
,940	11,116	1,046	
,950	9,547	0,980	
,960	7,985	0,902	
,970	6,410	0,807	
,980	4,787	0,680	
,990	3,021	0,480	

4. Ekstrak Daun

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,112	0,11	0,11	3,401	3,199	3,199
125	0,706	0,666	0,752	63,401	59,360	68,047
62,5	0,794	0,848	0,854	72,290	77,744	78,350
31,25	0,771	0,788	0,803	69,966	71,684	73,199
15,625	0,94	0,899	0,978	87,037	82,896	90,875

a. Konsentrasi 1000 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,112 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 3,401\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,11 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 3,199\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,11 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 3,199\%$

b. Konsentrasi 125 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,706 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 63,401\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,666 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 59,360\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,752 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 68,047\%$

c. Konsentrasi 62,5

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,794 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 72,290\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,848 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 77,744\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,854 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 78,350\%$

d. Konsentrasi 31,25

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,771 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 69,966\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,788 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 71,684\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,803 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 73,199\%$

e. Konsentrasi 15,625

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,94 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 87,037\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,899 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 82,896\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,978 - 0,078)}{(1,068 - 0,078)} \times 100\% = 90,875\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	5317,144	3,726
	,020	3410,660	3,533
	,030	2573,284	3,410
	,040	2081,843	3,318
	,050	1752,188	3,244
	,060	1513,063	3,180
	,070	1330,405	3,124
	,080	1185,649	3,074
	,090	1067,721	3,028
	,100	969,564	2,987
	,150	650,394	2,813
	,200	473,548	2,675
	,250	360,689	2,557
	,300	282,461	2,451
	,350	225,202	2,353
	,400	181,640	2,259
	,450	147,532	2,169
	,500	120,224	2,080
	,550	97,971	1,991
	,600	79,574	1,901
	,650	64,182	1,807
	,700	51,171	1,709
	,750	40,073	1,603
	,800	30,522	1,485
	,850	22,223	1,347
	,900	14,908	1,173
	,910	13,537	1,132
	,920	12,191	1,086
	,930	10,864	1,036
	,940	9,553	0,980
,950	8,249	0,916	
,960	6,943	0,842	
,970	5,617	0,749	
,980	4,238	0,627	
,990	2,718	0,434	

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	5633,456	3,751
	,020	3584,503	3,554
	,030	2690,628	3,430
	,040	2168,406	3,336
	,050	1819,333	3,260
	,060	1566,858	3,195
	,070	1374,487	3,138
	,080	1222,372	3,087
	,090	1098,696	3,041
	,100	995,944	2,998
	,150	663,258	2,822
	,200	480,136	2,681
	,250	363,902	2,561
	,300	283,713	2,453
	,350	225,270	2,353
	,400	180,986	2,258
	,450	146,446	2,166
	,500	118,896	2,075
	,550	96,529	1,985
	,600	78,106	1,893
	,650	62,752	1,798
	,700	49,826	1,697
	,750	38,846	1,589
	,800	29,442	1,469
	,850	21,313	1,329
	,900	14,194	1,152
	,910	12,866	1,109
	,920	11,565	1,063
	,930	10,285	1,012
	,940	9,022	0,955
,950	7,770	0,890	
,960	6,519	0,814	
,970	5,254	0,720	
,980	3,944	0,596	
,990	2,509	0,400	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	4733,477	3,675
	,020	3136,927	3,497
	,030	2416,241	3,383
	,040	1985,458	3,298
	,050	1692,359	3,228
	,060	1477,234	3,169
	,070	1311,233	3,118
	,080	1178,492	3,071
	,090	1069,473	3,029
	,100	978,059	2,990
	,150	675,618	2,830
	,200	503,513	2,702
	,250	391,259	2,592
	,300	311,952	2,494
	,350	252,887	2,403
	,400	207,217	2,316
	,450	170,896	2,233
	,500	141,373	2,150
	,550	116,951	2,068
	,600	96,452	1,984
	,650	79,033	1,898
	,700	64,069	1,807
	,750	51,082	1,708
	,800	39,694	1,599
	,850	29,582	1,471
	,900	20,435	1,310
	,910	18,688	1,272
	,920	16,959	1,229
	,930	15,242	1,183
	,940	13,530	1,131
,950	11,810	1,072	
,960	10,066	1,003	
,970	8,272	0,918	
,980	6,371	0,804	
,990	4,222	0,626	

5. Perhitungan Cisplatin Kontrol Media

1	2	3	Rata-rata
0,074	0,069	0,069	0,071

Kontrol Sel

1	2	3	Rata-rata
0,415	0,431	0,419	0,422

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
200	0,184	0,149	0,218	32,289	22,317	41,975
25	0,288	0,243	0,212	61,918	49,098	40,266
12,5	0,33	0,268	0,263	73,884	56,220	54,796
6,25	0,311	0,343	0,356	68,471	77,588	81,292
3,125	0,385	0,366	0,378	89,554	84,141	87,559

a. Konsentrasi 200 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,184 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 32,289\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,149 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 22,317\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,218 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 41,975\%$

b. Konsentrasi 25

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,288 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 61,918\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,243 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 49,098\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,212 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 40,266\%$

c. Konsentrasi 12,5

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,33 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 73,884\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,268 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 56,220\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,263 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 54,796\%$

d. Konsentrasi 6,25

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,311 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 68,471\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,343 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 77,588\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,356 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 81,292\%$

e. Konsentrasi 3,125

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,385 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 89,554\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,366 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 84,141\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,378 - 0,071)}{(0,422 - 0,071)} \times 100\% = 87,559\%$



Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	70507,226	4,848
	,020	29699,394	4,473
	,030	17159,860	4,235
	,040	11357,943	4,055
	,050	8119,380	3,910
	,060	6101,603	3,785
	,070	4749,533	3,677
	,080	3795,245	3,579
	,090	3094,912	3,491
	,100	2565,073	3,409
	,150	1178,872	3,071
	,200	635,516	2,803
	,250	374,037	2,573
	,300	232,368	2,366
	,350	149,487	2,175
	,400	98,360	1,993
	,450	65,606	1,817
	,500	44,040	1,644
	,550	29,564	1,471
	,600	19,719	1,295
	,650	12,975	1,113
	,700	8,347	0,922
	,750	5,185	0,715
	,800	3,052	0,485
	,850	1,645	0,216
	,900	0,756	-0,121
	,910	0,627	-0,203
	,920	0,511	-0,292
	,930	0,408	-0,389
	,940	0,318	-0,498
,950	0,239	-0,622	
,960	0,171	-0,768	
,970	0,113	-0,947	
,980	0,065	-1,185	
,990	0,028	-1,561	

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	37881,275	4,578
	,020	17615,336	4,246
	,030	10836,998	4,035
	,040	7519,614	3,876
	,050	5585,915	3,747
	,060	4337,195	3,637
	,070	3474,249	3,541
	,080	2848,347	3,455
	,090	2377,582	3,376
	,100	2013,331	3,304
	,150	1011,357	3,005
	,200	585,140	2,767
	,250	365,917	2,563
	,300	240,046	2,380
	,350	162,418	2,211
	,400	112,110	2,050
	,450	78,322	1,894
	,500	55,030	1,741
	,550	38,664	1,587
	,600	27,011	1,432
	,650	18,645	1,271
	,700	12,615	1,101
	,750	8,276	0,918
	,800	5,175	0,714
	,850	2,994	0,476
	,900	1,504	0,177
	,910	1,274	0,105
	,920	1,063	0,027
	,930	0,872	-0,060
	,940	0,698	-0,156
,950	0,542	-0,266	
,960	0,403	-0,395	
,970	0,279	-0,554	
,980	0,172	-0,765	
,990	0,080	-1,097	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for Konsentrasi	
		Estimate	Estimate
PROBIT ^a	,010	6420,857	3,808
	,020	3385,670	3,530
	,030	2255,773	3,353
	,040	1662,014	3,221
	,050	1296,359	3,113
	,060	1049,247	3,021
	,070	871,656	2,940
	,080	738,309	2,868
	,090	634,833	2,803
	,100	552,451	2,742
	,150	310,718	2,492
	,200	196,667	2,294
	,250	132,837	2,123
	,300	93,387	1,970
	,350	67,371	1,828
	,400	49,421	1,694
	,450	36,620	1,564
	,500	27,264	1,436
	,550	20,299	1,307
	,600	15,041	1,177
	,650	11,033	1,043
	,700	7,960	0,901
	,750	5,596	0,748
	,800	3,780	0,577
	,850	2,392	0,379
	,900	1,346	0,129
	,910	1,171	0,069
,920	1,007	0,003	
,930	0,853	-0,069	
,940	0,708	-0,150	
,950	0,573	-0,242	
,960	0,447	-0,349	
,970	0,330	-0,482	
,980	0,220	-0,658	
,990	0,116	-0,936	

L.4.3 Perhitungan LC_{50} dengan *probit* program SPSS

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,072	0,073	0,073	0,073

Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,784	0,775	0,786	0,782

1. Ekstrak Akar

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,547	0,533	0,577	66,902	64,927	71,133
500	0,712	0,674	0,671	90,174	84,814	84,391
250	0,674	0,682	0,681	84,814	85,943	85,802
31,25	0,722	0,69	0,695	91,584	87,071	87,776
15,625	0,746	0,709	0,719	94,969	89,751	91,161

a. Konsentrasi 1000 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,547 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 66,902\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,533 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 64,927\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,577 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 71,133\%$

b. Konsentrasi 500 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,712 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 90,174\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,674 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 84,814\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,671 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 84,391\%$

c. Konsentrasi 250 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,674 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 84,814\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,682 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 85,943\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,681 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 85,802\%$

d. Konsentrasi 31,25 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,722 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 91,584\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,69 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 88,071\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,695 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 87,776\%$

e. Konsentrasi 15,625 ppm

- i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,746-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 94,969\%$
- ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,709-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 89,751\%$
- iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,719-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 91,161\%$



Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	3798,199
	,020	3527,646
	,030	3355,989
	,040	3226,858
	,050	3121,820
	,060	3032,416
	,070	2954,026
	,080	2883,837
	,090	2820,003
	,100	2761,244
	,150	2517,966
	,200	2324,615
	,250	2158,738
	,300	2009,776
	,350	1871,739
	,400	1740,756
	,450	1614,029
	,500	1489,311
	,550	1364,592
	,600	1237,865
	,650	1106,882
	,700	968,846
	,750	819,883
	,800	654,006
	,850	460,656
	,900	217,377
	,910	158,618
	,920	94,784
	,930	24,596
	,940	-53,794
	,950	-143,198
	,960	-248,236
	,970	-377,367
	,980	-549,025
	,990	-819,578

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for konsentrasi
		Estimate
PROBIT	,010	4349,406
	,020	4020,067
	,030	3811,113
	,040	3653,924
	,050	3526,064
	,060	3417,234
	,070	3321,812
	,080	3236,373
	,090	3158,670
	,100	3087,143
	,150	2791,006
	,200	2555,645
	,250	2353,727
	,300	2172,397
	,350	2004,369
	,400	1844,926
	,450	1690,664
	,500	1538,847
	,550	1387,030
	,600	1232,768
	,650	1073,325
	,700	905,297
	,750	723,968
	,800	522,049
	,850	286,688
	,900	-9,449
	,910	-80,975
	,920	-158,679
	,930	-244,118
	,940	-339,540
,950	-448,370	
,960	-576,230	
,970	-733,419	
,980	-942,373	
,990	-1271,711	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT	,010	5162,943
	,020	4772,666
	,030	4525,049
	,040	4338,775
	,050	4187,256
	,060	4058,290
	,070	3945,212
	,080	3843,964
	,090	3751,882
	,100	3667,122
	,150	3316,189
	,200	3037,279
	,250	2797,999
	,300	2583,118
	,350	2383,999
	,400	2195,055
	,450	2012,249
	,500	1832,341
	,550	1652,433
	,600	1469,627
	,650	1280,683
	,700	1081,564
	,750	866,683
	,800	627,403
	,850	348,493
	,900	-2,440
	,910	-87,201
,920	-179,282	
,930	-280,530	
,940	-393,608	
,950	-522,575	
,960	-674,093	
,970	-860,367	
,980	-1107,985	
,990	-1498,261	

2. Ekstrak Batang

Konsentrasi	Absrbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,678	0,635	0,672	85,378	79,314	84,532
500	0,68	0,673	0,67	85,661	84,673	84,250
250	0,659	0,632	0,662	82,699	78,890	83,122
31,25	0,706	0,704	0,766	89,328	89,046	97,790
15,625	0,759	0,714	0,694	96,803	90,456	87,635

a. Konsentrasi 1000 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,678-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 85,378\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,635-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 79,314\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,672-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 84,532\%$

b. Konsentrasi 500 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,68-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 85,661\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,673-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 84,673\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,67-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 84,250\%$

c. Konsentrasi 250 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,659-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 82,699\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,632-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 78,890\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,662-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 83,122\%$

d. Konsentrasi 31,25 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,706-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 89,328\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,704-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 89,046\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,766-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 97,790\%$

e. Konsentrasi 15,625 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,759-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 96,803\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,714-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 90,456\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,694-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 87,635\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for konsentrasi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	10159,053
	,020	9398,028
	,030	8915,181
	,040	8551,954
	,050	8256,498
	,060	8005,017
	,070	7784,519
	,080	7587,088
	,090	7407,533
	,100	7242,252
	,150	6557,946
	,200	6014,081
	,250	5547,493
	,300	5128,482
	,350	4740,207
	,400	4371,771
	,450	4015,306
	,500	3664,492
	,550	3313,678
	,600	2957,212
	,650	2588,777
	,700	2200,501
	,750	1781,491
	,800	1314,903
	,850	771,038
	,900	86,731
	,910	-78,550
	,920	-258,105
	,930	-455,535
	,940	-676,034
	,950	-927,514
	,960	-1222,971
	,970	-1586,198
	,980	-2069,044
	,990	-2830,070

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	9201,104
	,020	8481,699
	,030	8025,260
	,040	7681,898
	,050	7402,600
	,060	7164,874
	,070	6956,434
	,080	6769,801
	,090	6600,066
	,100	6443,825
	,150	5796,943
	,200	5282,822
	,250	4841,753
	,300	4445,658
	,350	4078,618
	,400	3730,332
	,450	3393,362
	,500	3061,734
	,550	2730,106
	,600	2393,136
	,650	2044,851
	,700	1677,810
	,750	1281,716
	,800	840,646
	,850	326,525
	,900	-320,356
	,910	-476,598
	,920	-646,333
	,930	-832,966
	,940	-1041,405
,950	-1279,132	
,960	-1558,430	
,970	-1901,791	
,980	-2358,231	
,990	-3077,635	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	9632,783
	,020	8907,629
	,030	8447,543
	,040	8101,437
	,050	7819,907
	,060	7580,281
	,070	7370,176
	,080	7182,052
	,090	7010,960
	,100	6853,470
	,150	6201,420
	,200	5683,191
	,250	5238,596
	,300	4839,337
	,350	4469,364
	,400	4118,295
	,450	3778,632
	,500	3444,354
	,550	3110,077
	,600	2770,414
	,650	2419,345
	,700	2049,372
	,750	1650,112
	,800	1205,518
	,850	687,289
	,900	35,238
	,910	-122,252
	,920	-293,343
	,930	-481,467
	,940	-691,573
,950	-931,199	
,960	-1212,729	
,970	-1558,834	
,980	-2018,921	
,990	-2744,074	

3. Ekstrak Biji

Konsentrasi	Absorbansi			% sel hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,095	0,098	0,098	3,150	3,573	3,573
500	0,66	0,62	0,64	82,840	77,198	80,019
250	0,657	0,649	0,624	82,417	81,288	77,762
31,25	0,703	0,669	0,71	88,905	84,109	89,892
15,625	0,696	0,773	0,737	87,917	98,778	93,700

a. Konsentrasi 1000 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,095-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 3,150\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,098-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 3,573\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,098-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 3,573\%$

b. Konsentrasi 500 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,66-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 82,840\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,62-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 77,198\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,64-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 80,019\%$

c. Konsentrasi 250 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,657-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 82,417\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,649-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 81,288\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,624-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 77,762\%$

d. Konsentrasi 31,25 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,703-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 88,905\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,669-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 84,109\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,71-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 89,892\%$

e. Konsentrasi 15,625 ppm

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,693-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 87,917\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,773-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 98,778\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,737-0,073)}{(0,782-0,073)} \times 100\% = 93,700\%$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1454,617
	,020	1352,793
	,030	1288,189
	,040	1239,590
	,050	1200,058
	,060	1166,410
	,070	1136,908
	,080	1110,492
	,090	1086,468
	,100	1064,354
	,150	972,794
	,200	900,026
	,250	837,597
	,300	781,534
	,350	729,583
	,400	680,287
	,450	632,593
	,500	585,654
	,550	538,716
	,600	491,021
	,650	441,725
	,700	389,775
	,750	333,712
	,800	271,283
	,850	198,514
	,900	106,955
	,910	84,841
	,920	60,817
	,930	34,401
	,940	4,898
	,950	-28,749
	,960	-68,281
	,970	-116,880
	,980	-181,484
	,990	-283,309

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1370,400
	,020	1277,107
	,030	1217,915
	,040	1173,388
	,050	1137,168
	,060	1106,339
	,070	1079,309
	,080	1055,106
	,090	1033,094
	,100	1012,833
	,150	928,944
	,200	862,272
	,250	805,074
	,300	753,708
	,350	706,110
	,400	660,943
	,450	617,245
	,500	574,239
	,550	531,233
	,600	487,534
	,650	442,368
	,700	394,770
	,750	343,404
	,800	286,205
	,850	219,533
	,900	135,645
	,910	115,383
	,920	93,372
	,930	69,169
	,940	42,138
	,950	11,310
	,960	-24,910
	,970	-69,438
	,980	-128,629
	,990	-221,923

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1387,395
	,020	1292,401
	,030	1232,131
	,040	1186,792
	,050	1149,912
	,060	1118,522
	,070	1090,999
	,080	1066,355
	,090	1043,942
	,100	1023,312
	,150	937,895
	,200	870,008
	,250	811,767
	,300	759,465
	,350	710,999
	,400	665,010
	,450	620,515
	,500	576,726
	,550	532,936
	,600	488,441
	,650	442,452
	,700	393,986
	,750	341,684
	,800	283,444
	,850	215,557
	,900	130,140
	,910	109,509
	,920	87,097
	,930	62,453
	,940	34,929
	,950	3,539
	,960	-33,341
	,970	-78,680
	,980	-138,950
	,990	-233,943

4. Ekstrak Daun

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,095	0,095	0,095	3,150	3,150	3,150
500	0,536	0,527	0,546	65,350	64,081	66,761
250	0,645	0,651	0,637	80,724	81,570	79,596
31,25	0,738	0,741	0,733	93,841	94,264	93,136
15,625	0,708	0,788	0,737	89,610	100,893	93,700

a. Konsentrasi 1000 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,095 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 3,150\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,095 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 3,150\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,095 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 3,150\%$$

b. Konsentrasi 500 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,536 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 65,350\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,527 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 64,081\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,546 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 66,761\%$$

c. Konsentrasi 250 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,645 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 80,724\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,651 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 81,570\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,637 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 79,596\%$$

d. Konsentrasi 31,25 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,738 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 93,841\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,741 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 94,264\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,733 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 93,136\%$$

e. Konsentrasi 15,625 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,708 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 89,610\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,788 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 100,893\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,737 - 0,073)}{(0,782 - 0,073)} \times 100\% = 93,700\%$$

Replikasi 1

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1293,208
	,020	1203,984
	,030	1147,374
	,040	1104,788
	,050	1070,148
	,060	1040,664
	,070	1014,813
	,080	991,665
	,090	970,614
	,100	951,236
	,150	871,006
	,200	807,242
	,250	752,539
	,300	703,413
	,350	657,891
	,400	614,694
	,450	572,902
	,500	531,771
	,550	490,641
	,600	448,848
	,650	405,652
	,700	360,130
	,750	311,004
	,800	256,300
	,850	192,536
	,900	112,307
	,910	92,929
	,920	71,877
	,930	48,730
	,940	22,878
	,950	-6,606
	,960	-41,246
	,970	-83,831
	,980	-140,441
	,990	-229,666

Replikasi 2

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1220,973
	,020	1141,244
	,030	1090,658
	,040	1052,604
	,050	1021,650
	,060	995,304
	,070	972,203
	,080	951,519
	,090	932,708
	,100	915,392
	,150	843,700
	,200	786,722
	,250	737,839
	,300	693,941
	,350	653,263
	,400	614,664
	,450	577,318
	,500	540,565
	,550	503,812
	,600	466,466
	,650	427,867
	,700	387,189
	,750	343,291
	,800	294,408
	,850	237,430
	,900	165,738
	,910	148,422
	,920	129,611
	,930	108,927
	,940	85,826
,950	59,480	
,960	28,526	
,970	-9,528	
,980	-60,114	
,990	-139,843	

Replikasi 3

Probability		95% Confidence Limits for konsentrsi
		Estimate
PROBIT ^a	,010	1271,934
	,020	1186,024
	,030	1131,517
	,040	1090,514
	,050	1057,161
	,060	1028,772
	,070	1003,881
	,080	981,594
	,090	961,325
	,100	942,667
	,150	865,418
	,200	804,023
	,250	751,352
	,300	704,051
	,350	660,220
	,400	618,629
	,450	578,389
	,500	538,787
	,550	499,184
	,600	458,944
	,650	417,353
	,700	373,522
	,750	326,221
	,800	273,550
	,850	212,155
	,900	134,906
	,910	116,248
	,920	95,979
	,930	73,692
	,940	48,801
	,950	20,412
	,960	-12,941
	,970	-53,944
	,980	-108,451
	,990	-194,361

5. Perhitungan LC₅₀ Cisplatin

Kontrol Media

1	2	3	Rata-rata
0,080	0,064	0,062	0,069

Kontrol Sel

1	2	3	Rata-rata
0,782	0,774	0,79	0,782

Konsentrasi	Absorbansi			% Sel hidup		
	1	2	3	1	2	3
250	0,401	0,406	0,421	46,589	47,290	49,393
125	0,486	0,477	0,471	58,505	57,243	56,402
62,5	0,541	0,472	0,497	66,215	56,542	60,047
31,25	0,541	0,573	0,561	66,215	70,701	69,019
15,625	0,619	0,611	0,673	77,150	76,028	84,720

a. Konsentrasi 250 ppm

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,401 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 46,589\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,406 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 47,290\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,421 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 49,393\%$$

b. Konsentrasi 125

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,486 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 58,505\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,477 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 57,243\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,471 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 56,402\%$$

c. Konsentrasi 62,5

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 66,215\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,472 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 56,542\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,497 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 60,047\%$$

d. Konsentrasi 31,25

$$\text{i. Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 66,215\%$$

$$\text{ii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,573 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 70,701\%$$

$$\text{iii. Presentase sel hidup} = \frac{(0,561 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 69,019\%$$

e. Konsetrasi 15,625

i. Presentase sel hidup = $\frac{(0,619 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 77,150\%$

ii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,611 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 76,028\%$

iii. Presentase sel hidup = $\frac{(0,673 - 0,069)}{(0,782 - 0,069)} \times 100\% = 84,720\%$

L.5 Analisis Data

L.5.1 Analisis Data IC₅₀

Tests of Normality							
bagian		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC	AKAR	0,225	3		0,984	3	0,758
	BATANG	0,366	3		0,795	3	0,102
	BIJI	0,180	3		0,999	3	0,944
	DAUN	0,366	3		0,794	3	0,101
	cisplatin	0,222	3		0,986	3	0,771

Test Statistics ^{a,b}	
	IC
Kruskal-Wallis H	13,500
df	4
Asymp. Sig.	0,009

L.5.2 Analisis Data LC₅₀

Tests of Normality							
bagain		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
L C	Akar	0,336	3		0,856	3	0,256
	batang	0,237	3		0,976	3	0,705
	biji	0,306	3		0,904	3	0,399
	daun	0,202	3		0,994	3	0,853
	cisplatin	0,302	3		0,911	3	0,421

Test Statistics ^{a,b}	
	LC
Kruskal-Wallis H	13,500
df	4
Asymp. Sig.	,009
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: bagain	

L.5.3 Analisis Data SI

Tests of Normality							
Bagian		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SI	Akar	0,360	3		0,808	3	0,133
	Batang	0,363	3		0,803	3	0,121
	Biji	0,192	3		0,997	3	0,893
	Daun	0,342	3		0,844	3	0,225
	Cisplatin	0,290	3		0,925	3	0,472

Test Statistics ^{a,b}	
	SI
Kruskal-Wallis H	11,933
df	4
Asymp. Sig.	,018
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: Bagian	





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No 87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/106/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Bunga Matahari

Memenuhi permohonan saudara :

FAUZA ULFAH
14670033
JURUSAN FARMASI, FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bunga matahari
- | | |
|-------------------|--|
| Kingdom | : Plantae (Tumbuhan) |
| Subkingdom | : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) |
| Super Divisi | : Spermatophyta (Menghasilkan biji) |
| Divisi | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Bangsa | : Asterales |
| Suku | : Asteraceae |
| Marga | : Helianthus |
| Jenis | : <i>Helianthus annuus L.</i> |
| Nama Umum | : Bunga matahari, sunflower, mirasol, xiang ri kui, lumawari, koujitsuki |
| Kunci Determinasi | : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a |

Morfologi : Habitus: Terna semusim, tinggi 3-5 m tergantung varietasnya. Batang: Ditumbuhi rambut kasar, tegak, jarang bercabang. Daun: Tunggal, lebar, hijau. Bunga: Majemuk, terdapat dua tipe dan bunga tabung yang membawa satu kelopak besar berwarna kuning cerah dan steril, dalam satu tandan bunga. Buah: Buah kurung (achene), buah kering berdinding agak keras dan tak terlalu tebal ini sering disangka 'biji' bunga. Biji: Biji yang sesungguhnya terletak di dalam, terlindung oleh buah yang serupa tempurung. Akar: Tunggang, putih kotor.

NamaSimplisia : *Helianthii annii* Herba / Herba Bunga Matahari.
Kandungan kimia : Saponin dan tannin.
Pergunaan : Penelitian.

- Daftar Pustaka
- Anonim. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=661>, diakses 11 Desember 2010.
 - Syamsudinidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Untuk keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

Batu, 13 November 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu
Hattalini
Dr. Husin, S.S., Drs., Apt., M Kes.
DINAS KESEHATAN
1001102 199103 1 003

METTLER TOLEDO

Moisture determination

Method name

WEKA

Date & Time

23.01.2018 / 10:23

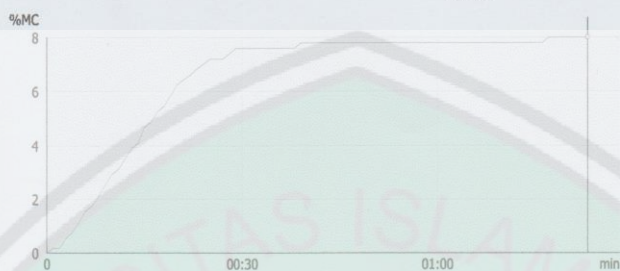
Measured values and drying curve

End result

7.98%MC

Duration

01:23 min



Comment: DAUN BM 3

Start weight	0.514 g
Dry Weight	0.473 g
Moisture Content	0.041 g

Method parameters and instrument data

Main parameter		Workflow handling	
Drying program	Standard	Start mode	Automatic
Drying temperature	105 °C		
Switch-off criterion	3(1mg/50s)		

Result and value handling

Instrument data			
Type	HC103/01		
SNR (Drying unit)	B624595599	SNR (Terminal)	B624595599
SW (Drying unit)	1.20	SW (Terminal)	1.31
Last weight adjustment	14.06.2016 09:33	Last temperature adjustment	16.06.2016 11:44

Comment

Date / Signature

Review date / Signature

METTLER TOLEDO

Moisture determination

Method name

PRAKTIKUM

Date & Time

22.11.2017 / 10:43

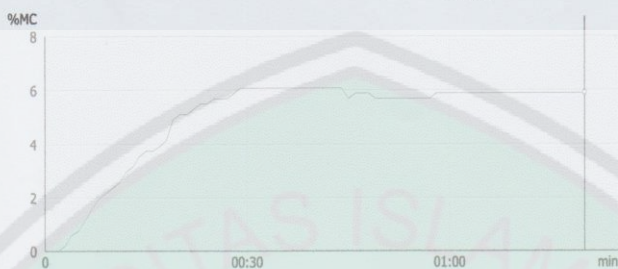
Measured values and drying curve

End result

5.87%MC

Duration

01:20 min



Comment:

Start weight 0.511 g
Dry Weight 0.481 g
Moisture Content 0.03 g

Method parameters and instrument data

Main parameter

Drying program Standard
Drying temperature 105 °C
Switch-off criterion 3(1mg/50s)

Workflow handling

Start mode Automatic

Result and value handling

Instrument data

Type HC103/01
SNR (Drying unit) B624595599
SW (Drying unit) 1.20
Last weight adjustment 14.06.2016 09:33
SNR (Terminal) B624595599
SW (Terminal) 1.31
Last temperature adjustment 16.06.2016 11:44

Comment

Date / Signature

Review date / Signature

METTLER TOLEDO

Moisture determination

Method name

PRAKTIKUM

Date & Time

22.11.2017 / 10:51

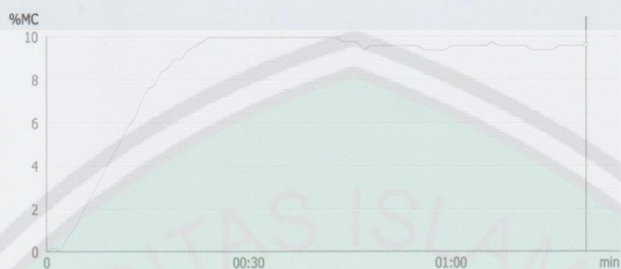
Measured values and drying curve

End result

9.54%MC

Duration

01:20 min



Comment:

Start weight 0.503 g
Dry Weight 0.455 g
Moisture Content 0.048 g

Method parameters and instrument data

Main parameter

Drying program Standard
Drying temperature 105 °C
Switch-off criterion 3(1mg/50s)

Workflow handling

Start mode Automatic

Result and value handling

Instrument data

Type HC103/01
SNR (Drying unit) B624595599
SW (Drying unit) 1.20
Last weight adjustment 14.06.2016 09:33
SNR (Terminal) B624595599
SW (Terminal) 1.31
Last temperature adjustment 16.06.2016 11:44

Comment

Date / Signature

Review date / Signature

METTLER TOLEDO

Moisture determination

Method name

PRAKTIKUM

Date & Time

22.11.2017 / 10:36

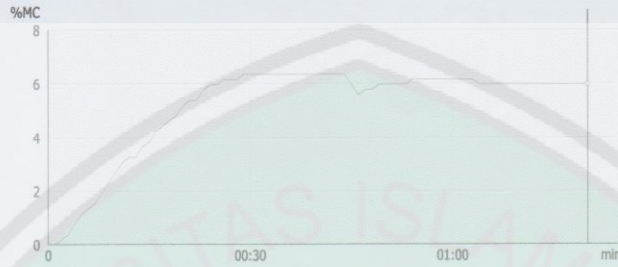
Measured values and drying curve

End result

5.95%MC

Duration

01:20 min



Comment:

Start weight 0.521 g
Dry Weight 0.490 g
Moisture Content 0.031 g

Method parameters and instrument data

Main parameter

Drying program Standard
Drying temperature 105 °C
Switch-off criterion 3(1mg/50s)

Workflow handling

Start mode Automatic

Result and value handling

Instrument data

Type HC103/01
SNR (Drying unit) B624595599
SW (Drying unit) 1.20
Last weight adjustment 14.06.2016 09:33
SNR (Terminal) B624595599
SW (Terminal) 1.31
Last temperature adjustment 16.06.2016 11:44

Comment

Date / Signature

Review date / Signature



FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Gedung Klinik UMMI I 2
Jalan Cajayana No. 50, Dincyo, Kee Lowokwaru, Kota Malang
E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : <http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id>

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(ETHICAL CLEARANCE)
No. 002/EC/KEPK-FKIK/2018**

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul Aktivitas Anti Kanker pada sel kanker serviks (HeLa) dan Toksisitas sel normal Vero dari bagian akar, biji, batang, dan daun (*Helianthus annuus*)
Sub Judul Aktivitas Anti Kanker pada sel kanker serviks (HeLa) dan Toksisitas sel normal Vero dari bagian akar, biji, batang, dan daun (*Helianthus annuus*)
Peneliti Mochamad Firman Amrulloh
 Jauza Ulfah
 dr. Ana Rahmawati, MBIomed
Unit / Lembaga Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM
 Laboratorium Farmasi UGM

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Mengetahui
Dekan ~~KEPK~~ Maulana Malik Ibrahim Malang



Malang, 25 APR 2018
Ketua

Prof. Dr. H. Bambang Pardjianto, SpB, SpBP-RE(K)
NIP. 20161201 1 515

dr. Avin Ainur F, MBIomed
NIP. 19800203 200912 2 002

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT,
DAN KEPERAWATAN
DEPARTEMEN PARASITOLOGI

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/121/M/04/03/03.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Kepala Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

Nama : JAUZA ULFAH
Instansi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang
NIM. : 14670033

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FK. UGM dengan judul :

“AKTIVITAS ANTIKANKER PADA SEL KANKER SERVIK (HeLa) DAN
TOKSISITAS SEL NORMAL VERO DARI BAGIAN AKAR, BATANG, DAUN DAN
BIJI (*Heliantus annuus* L.)”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 19 Maret 2018 sampai dengan 27 Maret 2018

Urusan administrasi telah diselesaikan oleh yang bersangkutan dan fasilitas laboratorium
yang dipakai telah dikembalikan, dengan demikian dinyatakan **bebas laboratorium**.

Surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 28 Maret 2018
a.n. Kepala,
Sekretaris

Dr. Budi Mulyaningsih, Apt, MS..
NIP. 19560912 198303 2 002.

SERTIFIKAT

Diberikan kepada

Jauzah Ulfah

Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

sebagai

Peserta

Kursus Singkat Kultur Jaringan yang diselenggarakan pada tanggal 12 – 15 Maret 2018
di Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Yogyakarta, 15 Maret 2018
Penyelenggara
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada



Prof. dr. Supargiyono, DTM&H, SU., Ph.D., SpPark.
NIP. 195309111978031001



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033
Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id> E-mail: fkik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI)
SKRIPSI

Naskah Skripsi Penelitian yang disusun oleh:

Nama : Jauza Ulfah

NIM : 14670033

Judul : Aktivitas Antikanker pada Sel Kanker Servik (Hela) dan Toksisitas Sel Normal Vero dari Bagian Akar, Batang, Daun dan Biji Tanaman Bunga Matahari (*Heliantus Annuus L.*)

Tanggal : 6 Juni 2018

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

NO	NAMA DOSEN	TANGGAL REVISI	TANDA TANGAN
	Burhan Ma'arif, M.Farm., Apt	25 Juni 2018	
	Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm, Apt	27 Juni 2018	
	Drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort	8 Juni 2018	
	Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt	8 Juni 2018	

Catatan :

- Batas waktu maksimum melakukan revisi
Proposal : 2 Minggu jika tidak selesai, mahasiswa HARUS ujian ulang
Skripsi : 2 Minggu jika tidak selesai, mahasiswa HARUS ujian ulang
- Lembar revisi dilampirkan dalam naskah proposal skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Proposal



Malang, 8 Juni 2018

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
19800203 200912 2 003

