

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96%
BENALU ALPUKAT (*Dendrothoe petandra* (L) Miq) DENGAN
CISPLATIN PADA SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

Oleh:

PRASASTI SWARA NURANI

NIM. 14670005



JURUSAN FARMASI

FAKULTAS ILMU KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2018

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96% BENALU
APUKAT (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) DENGAN CISPLATIN PADA
SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

Oleh:

PRASASTI SWARA NURANI

NIM: 14670005

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

Tanggal: 7 Juni 2018

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS ILMU KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2018

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96%
BENALU APUKAT (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) DENGAN
CISPLATIN PADA SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

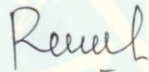
Oleh:

PRASASTI SWARA NURANI

NIM: 14670005

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal 7 Juni 2018**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



drg. Arief Survadinata, Sp.Ort
NIP. 19850720 200912 1 003

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**



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

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96%
BENALU APUKAT (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) DENGAN
CISPLATIN PADA SEL KANKER SERVIKS HELA**

SKRIPSI

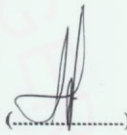
Oleh:

PRASASTI SWARA NURANI

NIM: 14670005

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

Tanggal: 7 Juni 2018

Ketua Penguji : drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort 

NIP. 19850720 200912 1 003

Anggota Penguji 1. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt 

NIP. 19881124 20160801 1 085

2. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt 

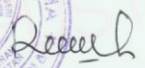
NIP. 19761214 200912 1 002

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

NIP. 19800203 200912 2 003



Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi


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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Prasasti Swara Nurani
NIM : 14670005
Jurusan : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol 96%
Benalu Alpukat (*Dendrothoe petandra* (L)
Miq.) dengan Cisplatin pada Sel Kanker
Serviks HeLa.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Skripsi yang saya tulis ini benar-benar 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 mencantumkan sumber atau cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya akan menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Juli 2018
Yang membuat pernyataan,



Prasasti Swara Nurani
NIM. 14670005

MOTTO

مَنْ خَافَ اللَّهَ مَوْلَاهُ خَافَ مِنْهُ كُلِّ مَا سِوَاهُ

Barang siapa yang jujur tumpuhan hatinya kepada Allah (sidq tawajjuh),

Maka Allah akan memberikan segala yang ia harapkan.

قَلْبُ الْمُؤْمِنِ كَالْمِرْآةِ إِذَا نَظَرَ بِهِ تَجَلَّى رَبُّهُ

Hatinya orang mu'min seperti halnya cermin,

Apabila melihatnya maka akan nampak Tuhan-Nya

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Puji syukur kepada Allah SWT dan Rasulullah SAW sehingga bisa terselesaikannya tulisan sederhana ini. Dengan rasa syukur saya persembahkan kepada:

Kedua orang tuaku, Papa Ir. Sentot Suyono dan Mama Dra Henny Lestari yang selalu mensupport dari segi materil dan non materil sehingga yang menjadikan saya berdiri dan duduk dalam bangku kuliah juga segi non material yang setiap siang dan malam bersimpuh diatas tikar seraya mendoakan demi kelancaran dalam penyusunan skripsi.

Saya ucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Roihatul Mutiah, M.Kes., Apt dan Bapak drg. Arief Suryadinata Sp.Ort selaku pembimbing 1 dan pembimbing 2 yang membimbing dan memberikan semangat.

Karya ini juga juga tidak lepas dari dukungan orang tercinta khususnya Purwadi, S.Pd sebagai laki-laki yang menemani saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Teruntuk sahabatku Kos (Laily Sintania Hartono, Witri Naziah, Maya Nafilatin Pratiwi, Faby Sela). Sahabat seperjuangan proyek anti kanker (M. Firman Amrulloh, Santia Irawati, Alfiyah Laily, Nia Ayu, Jauza Ulfa, Fadhila Isma, Jauhar Maxnun, Fitrotun Nasikhatul), Firsta Roisatul, Aniqotun Nisak, Lulu Nur Afifah, Izza Nailia, Nimas Ekarini serta Platinum Generation Farmasi Angkatan 2014 yang telah mendukung saya sampai sejauh ini.

(Prasasti Swara Nurani/14670005)

KATA PENGANTAR

Rasa syukur dan puji kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan hidayah-Nya kepada kita, sehingga penulis telah mampu menyelesaikan tugas proposal skripsi tepat waktu dengan judul *“Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol 96% Daun Benalu Alpukat (Dendrophthoe pentandra (L) Miq.) dengan Cisplatin pada Sel Kanker Serviks HeLa”*. Tujuan dari penyusunan proposal skripsi ini guna memenuhi salah satu syarat untuk bisa menempuh ujian Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Didalam pengerjaan skripsi ini telah melibatkan banyak pihak yang sangat membantu. Oleh sebab itu, disini penulis sampaikan rasa terimakasih banyak kepada:

1. Allah SWT yang memberikan nikmat kesehatan selama menyusun skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik dan tidak lupa Nabi Muhammad SAW yang memberikan jalan terang iman islam sepenuh alam semesta.
2. Bapak Prof. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Malang yang telah memberikan fasilitas peralatan laboratorium dan gedung yang memadai untuk kenyamanan dan kelancaran kuliah saya selama 4 tahun.
3. Bapak Prof. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp. BP-RE (K) selaku Dekan FKIK UIN Malang yang telah memberikan ijin penelitian.
4. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku Ketua Jurusan Farmasi dan Dosen Pembimbing 1 yang telah menyetujui permohonan penyusunan skripsi serta memberikan masukan pada waktu penyusunan skripsi.
5. Bapak drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort selaku konsultan yang selalu membimbing memberikan masukan dan saran pada penulisan dan penyusunan skripsi.

6. Ir. Sentot Suyono dan Dra. Henny Lestari sebagai orang tua kandung yang selalu mensupport dari segi materil dan non materil sehingga yang menjadikan saya berdiri dan duduk dalam bangku kuliah juga segi non material yang setiap siang dan malam bersimpuh diatas tikar seraya mendoakan demi kelancaran dalam penyusunan skripsi.
7. Patria Inggil Dilaga dan juga Hizbullah Narendra Paripurna sebagai kakak dan adik yang selalu menaburkan senyum dan do'a disaat malam terasa letih.
8. Purwadi,S.Pd sebagai sosok penenang dan penyemangat saat malam sepi dan siang dalam proses terselesaikannya penyusunan skripsi.
9. Anak kos putri sholihah Laily, Witri, dll yang mendukung dan memberikan dukungan yang kuat untuk proses penyusunan skripsi.
10. L7s, D'Rumpik, dan Golonganku selaku sahabat karib tercinta dari SD hingga SMA yang terus menemani dalam setiap aku lelah dan butuh *refreshing*.
11. Segenap pihak yang telah membantu dalam kelancaran proses penyusunan skripsi yang tidak bisa penulis sebutkan semua.

Malang, 6 Juni 2018

Penulis

Prasasti Swara Nurani

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
ABSTRAK	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penggunaan Benalu dalam Prespektif Islam	8
2.2 Klasifikasi Benalu Alpukat	9
2.3 Flavonoid	11
2.4 Peran Flavonoid sebagai Antikanker	12
2.5 Ekstraksi Simplisia Daun Benalu Alpukat.....	13
2.6 Mekanisme Kerja Cisplatin.....	14
2.7 Uji Sitotoksik Kokemoterapi Ekstrak Benalu Alpukat dengan Cisplatin	15
2.8 Kanker Leher Rahim (Kanker Serviks).....	17

2.9 Sel Kanker Leher Rahim (Sel HeLa)	18
2.10 Prinsip Kerja Elisa Reader	20
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	21
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	22
3.3 Hipotesa Penelitian	23
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	24
4.2. Pelaksanaan Penelitian	25
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	25
4.4. Alat dan Bahan	26
4.5. Prosedur Penelitian	27
4.6. Analisis Data	32
4.7. Alur Penelitian	34
4.8. Pemetaan Plate	35
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel	37
5.2 Analisa Pengukuran Kadar Air	38
5.3 Ekstraksi Benalu Alpukat dengan Metode UAE	39
5.4 Analisis Kadar Kuersetin dengan Metode HPLC	41
5.5 Uji Sitotoksik pada Sel HeLa dengan Metode MTT	44
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	58

6.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	64



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L) Miq	10
Gambar 2.2 Struktur senyawa kuersetin	12
Gambar 2.3 Struktur Cisplatin	15
Gambar 2.4 Siklus Kanker Serviks	19
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	23
Gambar 5.1 Hasil Ekstrak Setelah Dioven	44
Gambar 5.2 Hasil Kromatogram HPLC dengan Standart Kuersetin	46
Gambar 5.3 Grafik Linieritas HPLC Kuersetin Standart	47
Gambar 5.4 reaksi MTT untuk Membentuk Serabut Formazan	48
Gambar 5.5 Morfologi sel HeLa setelah <i>Treatment</i>	50
Gambar 5.6 Morfologi sel HeLa Perlakuan Cisplatin dan EBA	51
Gambar 5.7 Kurva Linieritas Ekstrak Etanol Benalu Alpukat	53
Gambar 5.8 Grafik Viabilitas Sel Hidup Ekstrak	54
Gambar 5.9 Kurva Linieritas Cisplatin	54
Gambar 5.10 Grafik Viabilitas Sel Hidup pada Cisplatin	55
Gambar 5.11 Perbandingan Sel Kombinasi Kondisi Sel HeLa setelah MTT	56
Gambar 5.12 Diagram Viabilitas Sel Hidup Kombinasi	57
Gambar 5.13 Diagram Indeks Kombinasi	58

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Pemetaan dosis kombinasi 37	38
Tabel 5.1 Hasil pengujian kadar air simplisia	42
Tabel 5.2 Hasil perhitungan CI	58



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir penelitian	69
Lampiran 2 Skema kerja	70
Lampiran 3 Perhitungan	79
Lampiran 4 Perhitungan kadar air	85
Lampiran 5 Perhitungan rendemen ekstrak	86
Lampiran 6 Hasil analisis uji kadar kuersetin dengan HPLC	86
Lampiran 7 Perhitungan data uji sitotoksik ekstrak etanol benalu alpukat dengan cisplatin	87
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian	98

DAFTAR SINGKATAN

AIDS	= <i>Acquired Immuno Deficiency</i>
Bcl-2	= B-Cell Lymphoma 2
BPOM	= Badan Pengawas Obat dan Makanan
BSC	= <i>Biological Safety Cabinet</i>
CCRC	= <i>Cancer Chemoprevention Research Center</i>
DMSO	= Dimetil Sulfioksida
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EBA	= Ekstrak Benalu Alpukat
EDTA	= <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPV	= <i>Human Pappiloma Virus</i>
LAF	= <i>Laminar Air Flow</i>
MK	= Media Komplit
MTT	= <i>Microculture Tetrazolium Salt</i>
NCI	= <i>National Cancer Institute</i>
NIS	= <i>Neoplasia Intraepitel Serviks</i>
PBS	= <i>Phospat Buffer Saline</i>
Rb	= <i>Retinoblastoma</i>
RNA	= <i>Ribose Nucleic Acid</i>
RPMI	= <i>Rasewell Park Memorial Institute</i>
SDS	= <i>Sodium Dodesil Sulfat</i>
SWT	= Subhanahu wa Ta'ala

TB	= Tuberculosis
TSG	= <i>Tumor Supressor Gen</i>
UAE	= <i>Ultrasonic Assited Extraction</i>
UV- Vis	= <i>Ultraviolet-Visible</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>



ABSTRAK

Nurani, Prasasti Swara. 2018. Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol 96% Benalu Alpukat (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq) dengan Cisplatin pada sel Kanker Serviks HeLa. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt; Pembimbing II: drg Arief Suryadinata, Sp.Ort; Pembimbing Agama: Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt

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

(II) drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort

Benalu alpukat (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) secara empiris telah digunakan sebagai obat antikanker oleh masyarakat Indonesia Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa kuersetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kuersetin dalam ekstrak etanol 96% benalu alpukat dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik kombinasi cisplatin dengan ekstrak etanol 96% benalu alpukat terhadap sel HeLa. Pengukuran kadar kuersetin dengan HPLC menggunakan kolom C-18 dan fase gerak metanol: air (59:41). Metode yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode *MTT Assay*.

Hasil menunjukkan bahwa kadar kuersetin dalam ekstrak etanol 96% benalu alpukat adalah 0,116% b/v atau 0,029 mg/g bahan dengan waktu retensi 6,98 menit. Ekstrak benalu alpukat menunjukkan aktivitas yang lemah terhadap sel HeLa karena memiliki IC_{50} $1.000 \pm 124,6812$ ppm, akan tetapi tidak menutup kemungkinan digunakan sebagai agen ko kemoterapi dengan Cis. Hasil dari kombinasi ini menghasilkan efek sinergis dengan nilai CI (*Combination Index*) 0,31 pada konsentrasi 375 mg/ μ l Ekstrak etanol benalu alpukat dengan 11,9 μ M Cisplatin.

Kata kunci: sitotoksik, benalu alpukat, cisplatin, kanker serviks, HeLa.

ABSTRACT

Nurani, Prasasti Swara. 2018. Cytotoxic Test Combination Ethanol Extract 96% Benalu Avocado (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq) with Cisplatin on Cervical Cancer Cancer cells. Department of Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt; Supervisor II: drg Arief Suryadinata, Sp.Ort; Religious Supervisor: Abdul Hakim, MPI, M.Farm., Apt

Supervisor : (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
(II) drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort

Avocado parasites (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) empirically has been used as an anticancer drug by Indonesian. In previous research it has been reported that the plant contains quercetin compounds. The aim of this study was to find out the quercetin content in 96% ethanol extract of avocado parasite by using HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) and to know cisplatin combination cytotoxic activity with 96% ethanol extract of avocado parasite to HeLa cells. Measurement of quercetin content by HPLC using C-18 column and methanol phase of water: water (59:41). The method used for cytotoxic test is method *MTT Assay*.

The results showed that the level of quercetin in ethanol extracter 96% of avocado parasite was 0.116% w / v or 0.029 mg / g material with retention time of 6.98 min. The avocado parasite extract showed weak activity against HeLa cells because it has $IC_{50} 1,000 \pm 124,6812$ ppm, but did not rule out being used as chemotherapy co-agent with Cis. The results of this combination produced a synergistic effect with a CI (*Combination Index*) value of 0.31 at a concentration of 375 mg / μ l Ethanol extract of avocado parasite with 11.9 μ M Cisplatin.

Keywords: cytotoxic, avocado parasites, cisplatin, cervical cancer, HeLa.

مستخلص البحث

نوران، فراسستي سوارا، اختبار سمية مركب سيسبلاتين مع مخرجات الإيثانول 96% من إيسار الزيدية (*Dendrophthoe Pentandra (L) Miq.*) على خلايا سرطان عنق الرحم (*HeLa*). 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.

الكلمات الرئيسية: سمية الخلايا، إيسار الزيدية، سيسبلاتين، سرطان عنق الرحم، هيللا.

من الناحية العلمية استخدم إيسار الزيدية (*Dendrophthoe Pentandra (L) Miq.*) كأدوية مضادة السرطان لدى المجتمع الإندونيسي. في الدراسة السابقة بينت أن ذلك النبات تحتوي على مركبة كيرسيتين (*Quercetin*). يهدف هذا البحث إلى تحديد مستوى كيرسيتين مع مخرجات الإيثانول 96% من إيسار الزيدية باستخدام الاستشراب السائلي عالي الأداء (*High Performance Liquid Chromatography*) ومعرفة نشاط سمية مركب سيسبلاتين مع مخرجات الإيثانول 96% من إيسار الزيدية على خلايا سرطان عنق الرحم. قياس مستوى كيرسيتين بالاستشراب السائلي عالي الأداء تم باستخدام ج-18 و مكّون متحرك من الميثانول: المياه (59:41). الطريقة المستخدمة في اختبار سمية الخلايا هي طريقة *MTT Assay*.

وأظهرت نتائج هذا البحث أن مستوى كيرسيتين في الإيثانول 96% من إيسار الزيدية هو 0,116% أو 0.029 b/v ملغ/غ لكل مادة ذات الوقت الاحتفاظ 6,98 دقيقة. أشارت مستخرجة إيسار الزيدية إلى نشاط ضعيف في خلايا هيللا، لأنها تملك $IC_{50} 1.000 \pm 124.6812 \text{ ppm}$. لكنها لم يستبعد استخدامها كعامل العلاج الكيميائي مع *Cis*. نتائج هذا المركب تؤدي إلى أثر متناغم بقيمة المؤشر المختلط (*Combination Index*) 0.31 في تركيز 375 ملغ/مل في مستخرجة الإيثانول من إيسار الزيدية بقيمة $11,9 \mu\text{M}$ سيسبلاتين.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah kejadian saat pertumbuhan sel tidak dapat terkontrol dan dapat menginvasi serta bermetastatis dalam jumlah banyak dan dalam waktu singkat. Semakin hari jumlah kematian akibat penyakit kanker semakin bertambah. WHO memperkirakan bahwa angka kematian yang disebabkan oleh kanker lebih tinggi daripada penyakit AIDS, TB, atau malaria. Angka kejadian penyakit, menurut data WHO tahun 2008 tercatat 12 juta kasus baru dengan angka kematian 7,6 juta jiwa. Menurut data kementerian kesehatan tahun 2013 penyakit kanker serviks memiliki jumlah prevalensi tertinggi di Indonesia setelah kanker payudara yaitu sebesar 0,5% dari 220 juta penduduk dengan jumlah angka kejadian sebesar 61.682 jiwa (Kemenkes, 2015). Pada saat ini penyakit kanker merupakan penyakit yang patut diberikan perhatian yang lebih karena merupakan lima penyakit dengan prevalensi yang tinggi di Indonesia. Penyebab kanker di Indonesia karena faktor lingkungan terutama paparan bahan kimiawi pada tempat kerja tertentu, polusi lingkungan, merokok, mengkonsumsi alkohol, infeksi virus atau bakteri, radiasi matahari, radiasi ion, serta diet (Nainggolan dkk., 2009).

Kanker dapat menyerang berbagai organ, salah satu organ yang sering diserang bagi kaum wanita adalah kanker serviks. Kanker serviks adalah kanker terbanyak kelima pada wanita diseluruh dunia. Angka prevalensi di Amerika Latin dan Afrika cenderung lebih banyak daripada di Asia, akan tetapi di Asia terutama pada negara berkembang seperti Indonesia angka kejadian kanker serviks juga besar. Sampai saat ini kanker serviks menjadi problema dikalangan wanita, di dunia tercatat terdapat 500.000 kasus dengan prevalensi kematian sebesar 250.000 akibat *Human Pappiloma Virus (HPV)*. Di Indonesia keturunan Suriname memiliki resiko terkena kanker serviks dibandingkan penduduk asli. Hal ini tidak jauh berbeda dengan negara maju yang mencatat bahwa peringkat kanker serviks menempati urutan keempat setelah kanker payudara, kolorektum, dan endometrium (Rasjidi, 2009).

Alternatif penyembuhan kanker biasanya dilakukan dengan cara kemoterapi, operasi, dan radioterapi, akan tetapi dari semua alternatif obat tersebut masyarakat cenderung memilih kemoterapi karena kemoterapi dinilai lebih efektif dan lebih murah jika dibandingkan dengan opsi terapi yang lain. Namun, kemoterapi memiliki efek yang buruk yaitu kurang spesifik terhadap sel kanker sehingga dapat mematikan sel non target kanker hingga memiliki efek samping yaitu resistensi sel kanker (Mardiyarningsih dkk., 2014). Salah satu bentuk efek samping kemoterapi adalah rontoknya rambut hingga muntah pada pasien. Salah satu pilihan terapi penyakit kanker adalah dengan obat cisplatin.

Cisplatin adalah salah satu jenis obat anti kanker dengan golongan kompleks koordinasi platinum. Mekanisme kerja cisplatin serupa dengan agen pengalkilasi. Pada lingkungan plasma dengan tinggi klorida, cisplatin menetap sebagai agen netral yang memasuki sel dan kehilangan kloridanya dalam lingkungan yang rendah klorida, kemudian cisplatin berikatan dengan N⁷ guanin DNA, membentuk ikatan silang inter dan intra untaian (Harvey *et al.*, 2013). Efek cisplatin yang sinergis dengan agen kemoterapi lain sehingga, pada saat ini para peneliti mulai melakukan pengembangan pengetahuan tentang tumbuhan sebagai alternatif baru pengobatan anti kanker yang diharapkan dapat menjadikan pilihan baru sebagai pengobatan kanker dalam upaya meningkatkan efek dari agen obat kemoterapi dan meminimalisir biaya pengobatan. Penggabungan pengobatan kimia dan tumbuhan ini disebut juga dengan cara pengobatan kokemoterapi.

Tumbuhan benalu dipilih karena benalu biasa dianggap sebagai tanaman parasit sehingga keberadaannya tidak diharapkan. Namun, jika melihat firman Allah dalam surat Shad ayat 27 yang berbunyi:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya: Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada diantara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu, karena mereka akan masuk neraka (QS. Shad ayat 37)

Berdasarkan ayat tersebut, maka sebagai seorang peneliti, hendaknya tidak menganggap benalu yang dimusnahkan dan disia-siakan

oleh masyarakat akan tetapi sebagai peneliti harus memanfaatkan tanaman tersebut sebagai bahan tertentu salah satunya adalah bahan obat herbal.

Pemikiran benalu sebagai tanaman parasit mulai sekarang sudah mulai berubah, masyarakat Indonesia mengenal benalu tidak hanya sebagai tanaman parasit saja. Namun, benalu berpotensi sebagai ramuan-ramuan obat-obatan. Secara tradisional beberapa spesies benalu sejak jaman dahulu telah digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit antara lain sebagai obat batuk, kanker, diuretik, antiradang, antibakteri, luka atau infeksi kapang (Sembiring dkk., 2016).

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan benalu ini adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, saponin, dan alkaloid (Ikawati dkk., 2008). Senyawa yang berperan dalam menghambat proliferasi sel kanker adalah senyawa kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavanol glikosida. Mekanisme kuersetin dalam menghambat sel kanker adalah menghambat terbentuknya enzim DNA topoisomerase pada sel kanker. Selain sebagai agen antikanker benalu juga dapat digunakan sebagai obat campak, dan benalu jeruk nipis juga dapat digunakan sebagai obat penyakit amandel. Ekstrak benalu pada pelarut etanol lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak benalu didalam air. Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa nilai IC_{50} dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) memiliki $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/ml}$ (Ikawati dkk., 2008).

Pengobatan penyakit dengan tumbuhan atau yang dikenal dengan metode pengobatan herbal memiliki toksisitas yang kecil, walaupun memiliki toksisitas yang kecil tetap perlu dilakukan uji secara *in vitro* maupun *in vivo* termasuk saat digunakan sebagai agen kemoterapi. Pengujian toksisitas dapat melalui tahapan uji secara *in vivo* yang dilakukan pada hewan coba dan pengujian secara *in vitro* dengan MTT yang dilakukan terhadap sel HeLa (sel infeksi kanker serviks). Metode MTT ini secara umum digunakan untuk menguji sitotoksik secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan sampel berupa simplisia benalu alpukat. Benalu alpukat digunakan karena menurut penelitian Mardiyansih (2014) ekstrak etanolik daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} sebesar 360 $\mu\text{g/ml}$. Penggunaan benalu dari daun alpukat dimungkinkan meningkatkan efek toksisitas sel kanker dari ekstrak etanol daun alpukat dalam menghambat proliferasi sel kanker serviks HeLa, hal tersebut karena kandungan flavonoid dalam benalu lebih besar daripada inangnya. Benalu tumbuh sebagai parasit yang menyerap hasil fotosintesis sehingga kadar flavonoid atau kuersetin dari benalu lebih tinggi daripada pada daunnya benalu menyerap dari inangnya lalu mengolah dengan metode fotosintesis pada organ daun (Hasanbahri dkk., 2014). Kombinasi dengan cisplatin juga sangat dibutuhkan untuk meminimalisir efek samping dari agen kemoterapi cisplatin.

Benalu alpukat yang telah dijadikan simplisia selanjutnya dilakukan ekstraksi metode ultrasonik dengan menggunakan pelarut

etanol 96%. Ekstrak etanol 96% daun benalu alpukat dan cisplatin dilakukan uji sitotoksik pada sel HeLa untuk mengetahui indeks kombinasi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah kadar kuersetin dalam ekstrak etanol 96% benalu alpukat?
2. Apakah aktifitas kombinasi dari ekstrak etanol 96% benalu alpukat dan cisplatin memberikan efek yang sinergis terhadap sel kanker HeLa?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui kadar kuersetin dalam ekstrak etanol 96% benalu alpukat
2. Untuk mengetahui aktivitas kombinasi dari ekstrak etanol 96% benalu alpukat dan cisplatin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa.

1.4 Batasan Masalah

1. Proses ekstraksi dengan maserasi ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96%.
2. Pengukuran kadar kuersetin dengan HPLC kolom C-18 dengan fase gerak metanol: air (59:41)

3. Metode pengujian sitotoksik yang dilakukan menggunakan metode MTT pada sel kanker serviks HeLa.
4. Parameter sitotoksik ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang diukur dengan analisis *micorosoft excel*.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang senyawa metabolit sekunder (flavonoid) yang memiliki aktivitas antikanker yang terkandung didalam tumbuhan *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq., sehingga kedepannya dapat dijadikan alternatif kokemoterapi dengan obat kemoterapi (cisplatin) diharapkan dapat meminimalisir efek samping agen kemoterapi secara sinergis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penggunaan Tumbuhan Benalu dalam Perspektif Islam

Bagi sebagian orang tumbuhan benalu dianggap sebagai tumbuhan perusak bahkan harus dihilangkan karena dapat mengambil zat-zat yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk berfotosintesis. Suatu tumbuhan yang dihinggap oleh benalu terlalu lama dapat menyebabkan kematian pada tumbuhan tersebut sehingga para petani menjadikan benalu sebagai tumbuhan perusak, akan tetapi Allah SWT tidak akan menciptakan suatu hal tanpa ada manfaatnya, hal ini dikatakan dalam firman-Nya pada surat Ali Imran ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَفُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Berdasarkan tafsir Ibnu katsir (2003) bahwa Allah SWT menciptakan sesuatu tidak ada yang sia-sia sehingga sebagai seorang peneliti kita harus memikirkan tentang manfaat dari tumbuhan benalu yang dianggap sebagai

tumbuhan parasit. Hal ini karena berfikir tentang kekuasaan Allah SWT adalah salah satu jalan kita menuju surga-Nya.

2.2 Klasifikasi Tumbuhan Benalu Alpukat

Benalu merupakan tumbuhan parasit yang menempel pada pohon sebagai inang. Tumbuh di dataran menengah sampai pegunungan dari ketinggian 800-2300 meter di atas permukaan laut. Berbunga pada bulan Juni-September. Waktu panen pada bulan April-Mei. Bagian yang digunakan adalah daun atau seluruh bagian tumbuhan dalam keadaan segar atau setelah dikeringkan (Hutapea, 1999). Benalu alpukat merupakan semak bercabang, sebagai obligat, tinggi sampai 1 meter. Daun tersebar bertangkai pendek, berbentuk lanset atau bulat memanjang, tebal dan rapuh. Karangan bunga dalam ketiak atau tertumpul lebih dari satu ruas, bunga 2-20, tangkai pendek, bentuk tabung, kelopak silindris sampai bentuk mangkuk, mahkota persegi 5 warna kuning sampai oranye. Kepala putik bentuk tombol tumpul. Buah bentuk telur, panjang sampai 1 cm, warna kuning oranye (Van Steenis, 1975). Tumbuhan benalu alpukat dapat dilihat pada gambar 2.1.

Klasifikasi tumbuhan benalu alpukat adalah sebagai berikut

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>

Bangsa : *Santales*

Suku : *Loranthaceae*

Genus : *Dendrophthoe*

Species : *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.

Nama Daerah : Pasilan, mangandeuh, kemadean, kemladean

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a
23a-1b-2b-3a



Gambar 2.1 *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.

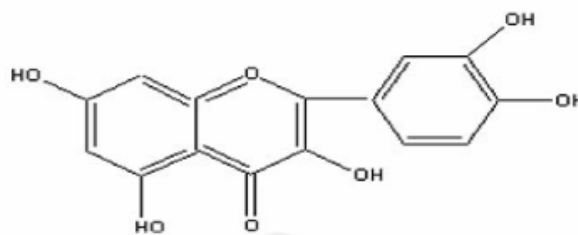
Benalu mengandung senyawa flavonoid yaitu kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tannin. Ranting dan daunnya mengandung *glucoside quercitrin* dan *mellissylalcohol*. Senyawa yang diduga sebagai agen antikanker adalah kuersetin yang merupakan salah satu jenis senyawa marker dari golongan *Loranthaceae*. Spesies benalu sejak zaman dahulu telah digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Benalu digunakan di masyarakat sebagai obat cacar air, diare, cacing tambang dan gabag, selain itu benalu dipakai sebagai obat penyakit hati dan

kanker. Benalu dari spesies *Viscum album* (L) digunakan untuk mengobati sakit pinggang dan jamu pasca melahirkan para ibu di Jepang, *V. album* L digunakan untuk mengobati kanker pada pengobatan TCM (*Traditional Chinese Medicine*). Herba benalu memiliki khasiat antibakteri, antiradang, dan antibengkak. Penelitian lain benalu juga dapat digunakan sebagai obat batuk, diuretik, pemeliharaan kesehatan ibu pasca melahirkan, penghilang rasa nyeri, luka, atau infeksi kapang (Hutapea, 1999).

2.3 Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang sering ditemukan pada setiap jaringan tumbuhan. Flavonoid bermanfaat sebagai antioksidan dengan cara memberikan atom hidrogen melalui kemampuan sebagai agen pengkelat logam yang berada dalam rantai glikosida (dengan rantai samping glukosa) atau dalam bentuk aglikon atau bentuk bebas (Redha, 2010).

Flavonoid mengandung kuersetin yang sangat tinggi. Kuersetin adalah senyawa aglikon yang apabila berikatan dengan glikon berubah menjadi glikosida. Senyawa glikosida berperan dalam regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen tipe 2 dan menghambat kerja enzim tirosin kinase. Kuersetin sebagai antioksidan juga dapat bekerja dengan cara mengikat radikal bebas agar tidak reaktif (Ikawati dkk, 2008). Struktur kuersetin dapat digambarkan pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur senyawa kuersetin (Ikawati dkk., 2008).

2.4 Peran Flavonoid sebagai Agen Antikanker

Menurut Ikawati dkk (2008) peran flavonoid sebagai antioksidan sangat penting karena senyawa kuersetin mampu menghambat proses karsinogenesis pada saat proses inisiasi dan propagasi. Saat inisiasi kuersetin bekerja dengan menstabilkan atau mengikat radikal bebas seperti radikal oksigen, peroksida, dan superoksida. Proses penstabilan radikal bebas tersebut dengan cara hidrogenasi atau pembentukan kompleks, dengan adanya reaksi tersebut membuat radikal lebih stabil sehingga tidak merusak DNA atau sel dan membentuk senyawa karsinogen. Pada tahap propagasi kuersetin bekerja dengan cara mencegah autooksidasi. Autooksidasi adalah proses pembentukan radikal peroksida dengan mengikat radikal tersebut secara cepat agar tidak berikatan dengan oksigen sehingga radikal peroksida tidak dapat terbentuk. Selain melalui penghambatan karsinogenesis kuersetin juga dapat menekan ekspresi mutan protein p53. Protein p53 adalah protein yang memainkan peran dalam masa siklus sel dalam hal proses apoptosis sel, akan tetapi pada kondisi yang tidak normal protein ini justru memacu

pertumbuhan sel pada fase G2 menuju M (pengandaan sel) dan jika terjadi proliferasi tidak terkendali. Selain itu kuersetin juga mampu menghambat produksi HSP (*Heat Shock Protein*), protein ini dapat dibentuk apabila ada mutan p53 berikatan dengan kompleks. Fase target dalam mekanisme ini adalah pada saat fase G₀ (fase istirahat sel). Protein HSP dapat hidup dalam kondisi pasien yang tidak menguntungkan contoh pada saat penderita mengalami sakit demam hingga bergabung dengan penyakit lain, bahkan protein ini juga dapat menjadikan agen kemoterapi menjadi resisten (Ikawati dkk., 2008).

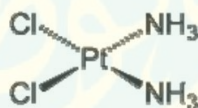
Senyawa kuersetin dapat menghambat proses karsinogenesis dengan cara menghambat pembentukan enzim tirosin kinase sehingga proliferasi dapat dikendalikan. Pada obat antikanker dengan target enzim tirosin kinase memiliki efek selektif jika dibandingkan dengan mekanisme yang lain (Klohs, 1997 dalam Ikawati dkk., 2008). Pada penelitian Hoffman et al., (1990) kuersetin memiliki efek yang sinergis dengan cisplatin baik secara uji *in vitro* maupun *in vivo* jika dibandingkan pada pemberian cisplatin dalam terapi tunggal (dikutip dalam Ikawati dkk., 2008).

2.5 Ekstraksi Simplisia Daun Benalu Alpukat

Sebelum ekstraksi dilakukan daun benalu alpukat dikeringkan untuk menghilangkan kadar airnya untuk menghentikan aktivitas anti mikroba dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga sampel tidak dapat membusuk. Daun yang dikeringkan lalu dipotong untuk memperkecil

ukuran partikel sehingga luas permukaan diperluas dengan tujuan mempermudah pelarut mengambil fragmen-fragmen yang terdapat didalam sel daun. Selanjutnya yaitu simplisia dieskraksi metode ultrasonik dengan pelarut etanol 96%. Metode ultrasonik ini dimaksudkan untuk memaksimalkan proses ekstraksi agar tidak memakan waktu yang lama. Pemakaian pelarut etanol 96% digunakan karena pelarut etanol lebih universal dan dianggap lebih menghasilkan jumlah polifenol yang lebih banyak dibandingkan dengan pelarut air karena mampu menembus dinding sel dan menarik polifenol didalamnya (Patria dkk., 2013). Selanjutnya yaitu diuapkan pelarut agar menjadi ekstrak dengan *rotary evaporator* (Muna, 2013).

2.6 Mekanisme Kerja Cisplatin



Gambar 2.3 Struktur cisplatin (Katzung, 2010)

Cisplatin adalah salah satu jenis obat anti kanker dengan golongan kompleks koordinasi platinum. Cisplatin memiliki toksisitas yang berat sehingga lebih dikembangkan terapi dengan carboplatin. Cisplatin memiliki sitotoksitas sinergistik radiasi dan agen kemoterapi lainnya. Pasien yang mendapat pengobatan dengan cisplatin lebih mudah mengalami disfungsi ginjal atau mengalami nefro atau ototoksitas. Mekanisme kerja cisplatin serupa dengan agen pengalkilasi. Pada

lingkungan plasma dengan tinggi klorida, cisplatin menetap sebagai agen netral yang memasuki sel dan kehilangan kloridanya dalam lingkungan yang rendah klorida, kemudian cisplatin berikatan dengan N⁷ guanin DNA, membentuk ikatan silang inter dan intra untaian. Lesi sitotoksik yang dihasilkan menghambat replikasi DNA dan sintesis RNA. Separuh substansi menggantikan klorida dalam struktur cisplatin dikeluarkan secara hidrolisis membentuk obat yang aktif. Obat ini dapat bekerja pada siklus sel manapun tetapi lebih aktif dalam fase G₁ dan S. Cisplatin juga dapat mengikat protein dan senyawa lain yang mengandung gugus thiol (-SH). Obat ini dapat mengalami resisten bila sel mengalami kenaikan kadar glutathion atau peningkatan perbaikan DNA atau bila metallothionein (protein kaya gugus thiol) diinduksi. Memiliki efek samping berupa mual, muntah, hipomagnesemia, hipokalsemia, penurunan fungsi pendengaran, supresi sumsum tulang ringan, neurotoksisitas, dan reaksi alergi (Harvey *et al.*, 2013).

2.7 Uji Sitotoksik Kokemoterapi Ekstrak Benalu Alpukat dengan Cisplatin

Uji sitotoksik adalah langkah awal sebagai upaya pendeteksian adanya senyawa yang bekerja sebagai antineoplastik pada obat-obatan yang bekerja dengan mekanisme sitotoksik. Metode ini merupakan uji kuantitatif pada kematian sel. Parameter yang dihasilkan pada uji ini yaitu nilai IC₅₀. IC₅₀ memiliki arti nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sebesar 50% atau menyatakan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel semakin kecil nilai IC₅₀ maka toksisitas

semakin poten dan sebaliknya. Uji sitotoksik perlu dilakukan secara *in vivo* untuk mengetahui perubahan fungsi sel secara spesifik (Haryoto dkk., 2013).

Berdasarkan penelitian dari Zulharini dkk., (2013) didapatkan nilai IC₅₀ tunggal cisplatin didapatkan nilai IC₅₀ 18 µM atau 5,4 µg/ml. Nilai ini didapat berdasarkan uji sitotoksik dengan metode MTT pada sel HeLa. Nilai IC₅₀ daun benalu alpukat belum diketahui secara pasti, namun pada penelitian Mardiyahningsih dkk (2014) ekstrak etanol daun alpukat memiliki aktivitas antikanker dengan IC₅₀ 360 µg/ml.

2.7.1 Uji Aktivitas Secara In Vitro

Uji sitotoksik agen kemoterapi berdasarkan dari parameter nilai IC₅₀ yang dihasilkan. Uji sitotoksik yang umum dilakukan dengan metode MTT. Prinsip pengujian MTT adalah enzim reduktase mereduksi garam kuning tetrazolium sehingga menjadi senyawa suksinat tetrazolium yang masuk kedalam mitokondria sel sehingga membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Langkah selanjutnya ditambah reagen stopper yang bersifat detergenik untuk melarutkan kristal berwarna ungu yang selanjutnya dibaca dengan ELISA pada panjang gelombang 595 nm. Langkah selanjutnya yaitu diukur viabilitas sel hidup dengan rumus:

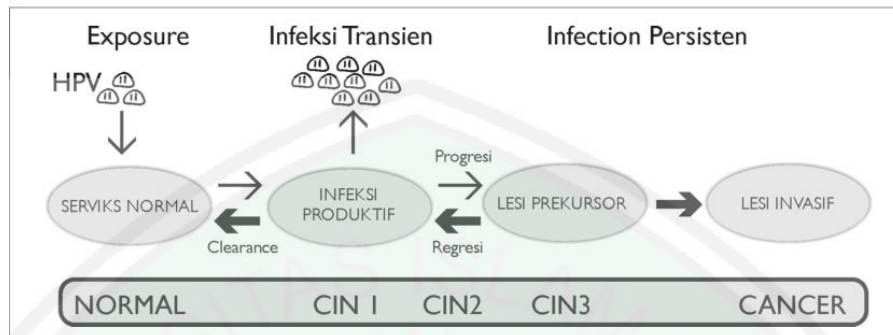
$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi KM}}{\text{absorbansi KS} - \text{absorbansi KM}} \times 100\%$$

Langkah yang terakhir yaitu ditentukan nilai IC₅₀ yang dihasilkan dengan profit SPSS (Arifianti dkk., 2014).

2.8 Kanker Leher Rahim (Kanker Serviks)

Kanker serviks merupakan kanker dengan frekuensi prevalensi kelima terbesar di dunia. Prevalensi terbesar terjadi pada wanita dengan keturunan Eropa atau Amerika. Kanker serviks disebabkan oleh *Human Papiloma Virus (HPV)*, virus ini yang akan menyebabkan proses karsinogenesis atau pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali. Masing-masing HPV memiliki perbedaan tingkat displasia atau perkembangan sel yang berbeda. Pada HPV tipe 6 dan 11 mengalami displasia ringan dengan frekuensi regresi yang sering. Pada HPV tipe 16 dan 18 mengalami displasia berat dengan regresi yang jarang tetapi berprogresif yang akan menjadi karsinoma insitu, pada nantinya akan berkembang menjadi NIS (*Neoplasia Intraepitel Serviks*) yang terbagi dalam beberapa tingkatan yaitu NIS 1, 2, dan 3. Apabila penderita sudah berada pada tingkatan NIS 3 dapat dikatakan bahwa penderita mengalami kanker *invasive* (kanker yang sulit disembuhkan/stadium akhir). Perubahan masa NIS 1 ke NIS 3 membutuhkan waktu 12,7 sampai 15 tahun. Rentang waktu ini dipengaruhi oleh faktor imunologi setiap individu. Pada saat *antigen presenting cell* merespon paparan HPV karena mempengaruhi perubahan genom dari sel sehat menjadi sel infeksi. Onkogen E6 dan E7 dalam HPV mengambil peran dalam degenerasi keganasan. Onkogen E6 mengikat protein p53 sehingga TSG P53 kehilangan fungsinya, apabila hal ini terjadi maka proliferasi sel tidak dapat terkontrol karena induksi apoptosis mengalami kegagalan fungsi. Onkogen E7 mengikat TSG Rb sehingga E2F terlepas yang menyebabkan

proliferasi tidak terkendali (Rasjidi, 2009). Gambar siklus terjadinya pemaparan sampai pada tahapan kanker digambarkan pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Siklus Kanker Serviks (Rasjidi, 2009).

2.9 Sel Kanker Leher Rahim (Sel HeLa)

Kultur sel HeLa merupakan *continuous cell line* yang diturunkan dari epitel kanker leher rahim (serviks) seorang wanita penderita kanker leher rahim bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat kanker tahun 1951. Kultur sel ini memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel kanker dan untuk mempelajari sinyal transduksi seluler. Sel HeLa ini cukup aman dan merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel. HeLa memiliki sifat *immortal* yang tidak dapat mati karena tua dan dapat membelah secara tidak terbatas selama memenuhi kondisi dasar bagi sel untuk tetap hidup selama masih ada. Sel HeLa mengalami transformasi akibat infeksi *Human Papilloma Virus 18* (HPV 18) dan berbeda dengan sel leher rahim yang normal. Sel HeLa dapat tumbuh dalam media kultur. Media yang digunakan adalah media RPMI 1640-serum. Didalamnya mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan

glukosa. Serum yang ditambahkan mengandung hormon-hormon yang mampu memacu pertumbuhan sel. Albumin berfungsi sebagai protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral berfungsi sebagai kofaktor enzim. Sel kanker leher rahim yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 terbukti dapat menyebabkan sifat immortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun tidak bersifat tumorigenik hingga suatu proses genetik terjadi. Jadi, viral onkogen secara tidak langsung menginduksi pembentukan tumor, tetapi menginduksi serangkaian proses yang pada akhirnya dapat menyebabkan sifat kanker. Protein dari E6 dan E7 dari HPV memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel. Protein E6 berikatan dengan tumor supresor protein p53 dan mempercepat degradasi p53 yang diperantarai ubiquitin. Protein E6 juga menstimulasi aktivitas enzim telomerase. Sedangkan protein E7 dapat mengikat bentuk aktif terhipofosforilasi dari p105Rb dan anggota yang lain dari keluarga Rb. Ikatan ini menyebabkan destabilisasi Rb dan pecahnya kompleks Rb/E2F yang berperan menekan transkripsi gen yang diperlukan untuk *cell cycle progression*. Sebagian besar sel kanker termasuk sel HeLa mempunyai gen p53 dan p105Rb dalam bentuk *wild type*, jadi gen pengatur pertumbuhan yang aktif dalam sel normal juga terdapat dalam sel kanker leher rahim. Namun aktivitasnya dihambat oleh protein E6 dan E7 dari HPV (Muti'ah, 2014).

2.10 Prinsip Kerja *ELISA Reader*

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah alat diagnostik klinis yang banyak digunakan untuk mendeteksi beberapa penyakit menular hingga biomarker kanker. Metode ini memiliki beberapa keunggulan yaitu tepat, sensitif, serbaguna, dan memiliki sensitivitas yang tinggi yaitu 98,87%. ELISA juga memiliki beberapa kekurangan yaitu memakan waktu lama, mahal. Alat ini menggunakan prinsip spektrofotometri absorpsi untuk mendeteksi kolorimetri. Deteksi absorbansi didasarkan pada hukum Lambert Beer yaitu:

$$A = -\text{Log}_{10} (I/I_0)$$

Dimana, A = absorbansi sampel

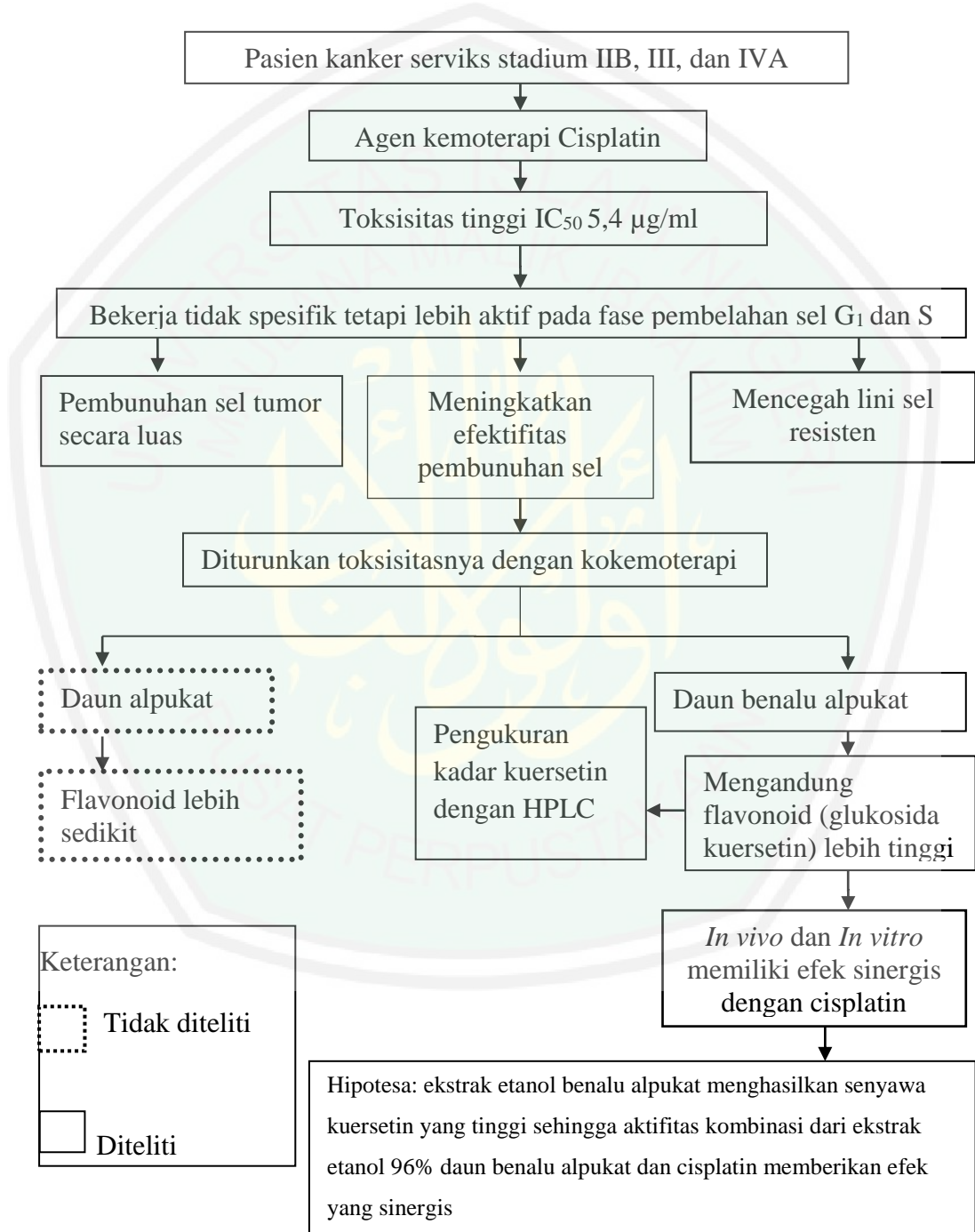
I = Intensitas cahaya yang ditransmisikan

I₀ = Intensitas cahaya asli

Semakin besar konsentrasi antigen/antibodi, semakin banyak cahaya yang akan diserap oleh sampel menghasilkan pembacaan absorbansi yang lebih besar pula. Nilai absorbansi ini kemudian dijadikan untuk menafsirkan hasil diagnosa ELISA. Rentang absorbansi yang dapat direkam adalah 350 nm sampai 700 nm. Biasanya titik absorbansi berada pada rentang 445 nm sampai 455 nm (Thiha *et al.*, 2015).

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kanker adalah suatu penyakit dimana sel bermetastatis dan berinvansi secara tidak terkendali (Nainggolan dkk., 2009). Opsi terap kanker yang sangat direkomendasi adalah kemoterapi karena biaya yang cenderung lebih murah daripada radiasi dan pembedahan tetapi dapat menghasilkan efek yang maksimal. Pengobatan kemoterapi dilakukan dengan obat-obat sitotoksik. Mekanisme terapi pengobatan sitotoksik terdiri dari 2 macam yaitu bersifat spesifik pada siklus sel tertentu contoh obat dengan mekanisme ini yaitu golongan alkaloid vinca, bleomycin peptide, etoposide, dan antimetabolit. Obat yang tidak bersifat spesifik pada siklus sel tertentu contohnya adalah cisplatin (Katzung, 2010). Obat sitotoksik yang bekerja tidak secara spesifik memiliki toksisitas yang tinggi, hal tersebut dibuktikan dengan IC_{50} cisplatin yang sangat tinggi yaitu $18 \mu\text{M}$ atau $5,4 \mu\text{g/ml}$ sehingga sangat reaktif membunuh sel kanker maupun sel sehat (Zulharini dkk., 2013). Pemberian opsi kokemoterapi diberikan untuk meningkatkan efektifitas pemberian terapi cisplatin sehingga mampu membunuh sel target (sel kanker) dan meminimalisir efek samping akibat agen kemoterapi.

Pemilihan daun benalu alpukat dilakukan karena senyawa kuersetin dalam ekstrak etanol daun alpukat kurang aktif sehingga dipilih daun benalu alpukat untuk meningkatkan kandungan kuersetin dalam daun alpukat. Benalu tumbuh sebagai parasit yang menyerap hasil fotosintesis sehingga kadar flavonoid atau kuersetin dari benalu lebih tinggi daripada pada daunnya (Hasanbahri dkk., 2014). Kombinasi

dengan cisplatin juga sangat dibutuhkan untuk mendapatkan efek yang optimal dengan meminimalisir efek samping.

3.3 Hipotesa Penelitian

Hipotesa pada penelitian ini pemberian kokemoterapi dengan ekstrak etanol 96% daun benalu alpukat dengan agen kemoterapi cisplatin adalah:

- a. Ekstrak Etanol 96% benalu alpukat menghasilkan senyawa kuersetin dengan kadar tinggi.
- b. Aktifitas kombinasi dari ekstrak etanol 96% benalu alpukat dan cisplatin memberikan efek yang sinergis terhadap sel kanker serviks HeLa.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental di Laboratorium. Langkah pertama yaitu di buat ekstrak dari tumbuhan benalu alpukat yang telah dibersihkan lalu digrinding dan dikeringkan menjadi simplisia. Langkah selanjutnya yaitu diukur kadar air dengan *moisture content analyzer*. Apabila simplisia sudah memenuhi standart yaitu <10% maka kadar air simplisia baik. Selanjutnya itu dilakukan proses pembuatan ekstraksi daun benalu alpukat dengan cara ultrasonik. Metode ultrasonik dipilih karena senyawa tumbuhan cenderung rusak pada suhu tinggi dan bantuan ultrasonik digunakan untuk memaksimalkan proses ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik, meminimalisir jumlah pelarut, dan mempercepat waktu ekstraksi. Pelarutnya menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:20 untuk efektifitas dan efisiensi ekstraksi agar jumlah prosentase rendemen tinggi. Penggunaan etanol ini karena etanol bersifat universal, dan dapat menghasilkan jumlah polifenol lebih banyak. Langkah selanjutnya yaitu diuapkan pelarut didalam *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak yang padat. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan uji sitotoksik nilai IC_{50} terhadap ekstrak etanol benalu alpukat dan IC_{50} kombinasi ekstrak etanol 96% benalu alpukat (EBA) dengan cisplatin (Cis) dengan metode *MTT assay* pada sel HeLa untuk melihat jumlah kematian sel karena efek sitotoksik dari kokemoterapi. Nilai IC_{50}

kemudian dianalisis dengan menggunakan *microsoft excel*. Pembacaan warna sel yang masih hidup dengan *Elisa reader* dengan panjang gelombang rentang 500 nm sampai 600 nm.

4.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2018 sampai dengan bulan April 2018 di Laboratorium Fitofarmasi Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan sebagai parameter penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas : konsentrasi ekstrak etanol 96% daun benalu alpukat 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; dan 15,625 ppm
2. Variabel terkontrol:
 - Media berupa RPMI 1640-serum dengan pH 6,7-6,8
 - Sel yang digunakan yaitu sel HeLa
3. Variabel terikat:
 - Efektifitas kombinasi EBA dengan Cis terhadap proliferasi sel HeLa

- Nilai IC₅₀ kombinasi EBA dengan Cis

4.3.2 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol 96% benalu alpukat: Ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi metode ultrasonik daun benalu alpukat dengan pelarut etanol 96%.
2. Kontrol sel: Kontrol yang berisi media RPMI 1640-serum ditambah dengan sel HeLa.
3. Kontrol media: Kontrol yang hanya berisi media RPMI 1640-serum.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya adalah grinding, pisau, ayakan 40 mesh, HPLC, loyang, cawan petri, neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit kayu, gelas arloji, spatula, erlenmeyer 500 ml, aluminium foil, beaker glass 100 ml, kertas saring, botol vial, pipet tetes, *vortex*, *sentrifuge*, mikro pipet 200, 1000 mikrometer, 24 *well plate*, 96 *well plate*, *yellow tip*, *white tip* *blue tip*, tempat buangan media bekas PBS, *culture dish*, *Elisa Reader*, *Moisture content*, *Homositometer*, *sonikator*, *Counter*, *Conical tube*, *BSC*, inkubator CO₂, conical, *ependorf*, *waterbath*, dan mikrotube.

4.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan benalu alpukat, etanol 96%, aquadest, gas N₂, penicillin,

Metanol, Asam asetat, aquabidest, conical steril, media RPMI 1640-serum, DMSO, PBS, tissue makan, reagen MTT, SDS 10% dalam HCl 0,1 N, cisplatin, alumunium foil, tripsin, dan MK RPMI.

4.5 Prosedur Penelitian

Adapun tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Adapun tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

4.5.1 Persiapan sampel

Persiapan sampel dilakukan dengan cara 2 kg daun benalu alpukat segar disortasi berdasarkan kualitas lalu dikeringkan dalam oven bersuhu 50⁰ C selama 3 hari, selanjutnya dilakukan grinding simplisia.

4.5.2 Analisis kadar air

Analisis kadar dilakukan dengan alat *moisture content analyzer*. Analisis kadar air dilakukan dengan cara timbang 0,5 gram simplisia kemudian ditutup dan didapatkan data kadar air. Prinsip kerja alat ini yaitu dengan cara menguapkan air yang terkandung dalam sampel. Hasil penguapan air tersebut diukur sebagai prosentase kadar air.

4.5.2 Ekstraksi simplisia daun benalu alpukat menggunakan metode ekstraksi UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Ekstraksi simplisia daun benalu alpukat dilakukan menggunakan metode UAE dan menggunakan pelarut etanol 96%

dengan perbandingan pelarut 1:20. Perbandingan ini didapat untuk meningkatkan efektifitas dan efisiensi pelarut. 25 gram simplisia dilarutkan dalam 500 ml yang terbagi dalam 3 kali maserasi. Maserasi pertama yaitu 25 gram simplisia dilarutkan dalam 200 ml etanol 96% di UAE selama 3x2 menit lalu disaring filtrat ditampung dan residu diremaserasi menggunakan 150 ml etanol 96% di UAE selama 3x2 menit lalu disaring dan filtrat ditampung lalu diremaserasi kembali residu dengan 150 ml etanol 96% dan diekstraksi dengan UAE selama 3x2 menit lalu filtrat ditampung dan residu dibuang. Setelah filtrat ditampung, dilakukan penguapan filtrat oleh *rotary evaporator*.

4.5.3 Identifikasi dan Pengukuran Kadar Senyawa Kuersetin dalam Ekstrak Etanol 96% Daun Benalu Alpukat dengan HPLC

Pengukuran kadar kuersetin dalam ekstrak ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari EBA dengan menggunakan instrument HPLC. Fase diam yang digunakan adalah kolom C-18 dengan fase gerak berupa metanol: air 59:41. Langkah yang pertama dibuat larutan baku standart kuersetin dengan cara ditimbang 10 mg standart kuersetin lalu dilarutkan dalam labu ukur 10 ml sehingga kadar kuersetin menjadi 1000 µg/ml. Diambil 1 ml dan dilarutkan kedalam 10 ml etanol kedalam labu ukur sehingga konsentrasinya menjadi 100 µg/ml. Dibuat larutan baku standart dengan cara memipet 10, 30, 60, 120, 240, dan 480 µL dan dilarutkan ad 10 ml dengan metanol kedalam labu ukur sehingga

didapatkan konsentrasi larutan standart 0,1; 0,3; 0,6; 1,2; 2,4; dan 4,8. Disaring larutan kedalam membran filter 0,22 μm dan diinjeksikan pada HPLC dengan volume 20 μL . Preparasi sampel dilakukan dengan cara ditimbang 25 mg EBA lalu dilarutkan kedalam ad 10 ml etanol dalam labu ukur kemudian disaring larutan kedalam membran filter 0,22 μm dan diinjeksikan pada HPLC dengan volume 10 μL .

4.5.4 Pengukuran nilai IC_{50} dengan metode *MTT assay*

a. Pemanenan dan perhitungan sel HeLa

Pemanenan dilakukan untuk melepas ikatan antar sel dan ikatan sel dengan matriks tanpa merusak sel tersebut. Cara pemanenan sel adalah diambil sel dari incubator CO_2 lalu diamati kondisi sel jika pada mikroskop interved masih terdapat 80% mitokondria yang hidup, maka sel dapat dilanjutkan dipanen. Lalu dibuang media dengan mikropipet steril, lalu dicuci sel dengan PBS sebanyak 2 kali dengan volume $\frac{1}{2}$ dari volume media awal. Langkah selanjutnya yaitu ditambahkan tripsin EDTA 0,25% secara merata untuk melepaskan sifat aderen pada sel lalu diinkubasi selama 3 menit. Langkah selanjutnya yaitu ditambahkan media kurang lebih 5 ml untuk menginaktivasi tripsin. Lalu diamati dalam mikroskop dan diresuspensi jika masih terdapat sel yang bergerombol. Lalu letakan sel dalam *conical* steril baru.

Perhitungan sel dilakukan untuk mengetahui homogenitas antar kelompok perlakuan. Perhitungan ini dilakukan dengan metode homositemetri dengan alat homositemeter dengan syarat sel harus terpisah dan tidak bergerombol. Langkah-langkah perhitungan yaitu resuspensi sel dalam *conical tube* yang telah dipanen lalu diambil 10 μ l panen lalu dipipet kedalam homositemeter, dihitung sel dengan *counter* dibawah mikroskop *interved*. Perhitungan dilakukan pada sel yang hidup saja ditandai dengan terdapatnya bercak hitam sebagai mitokondria sel. Sisi yang dihitung hanya bagian kanan dan bawah homositemeter saja. Langkah selanjutnya yaitu jika sel yang akan ditanam, maka pindahkan sejumlah sel yang dibutuhkan kedalam *conical* yang lain dan ditambahkan MK sesuai yang diinginkan (CCRC, 2009).

b. Treatment sel

Treatment sel dilakukan pada sel yang tidak mengalami kontaminasi setelah pemanenan dan perhitungan sel. Langkah awal yaitu dibuat *mapping plate* menggunakan 7 konsentrasi ekstrak yaitu 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; 15,625 ppm dibuat 3 kali replikasi lalu ditambah 3 plate untuk kontrol sel dan 3 plate untuk kontrol media. Selanjutnya dilarutkan EBA dalam DMSO dengan perbandingan 1:10. Langkah selanjutnya yaitu dipipet 10 μ l ekstrak kedalam plate dimulai dari konsentrasi terkecil dahulu

yaitu 15,625 ppm hingga 1000 ppm. Diulangi treatment setelah mendapatkan nilai IC_{50} dengan kombinasi Cis pada dosis $1/2$, $3/8$, $1/4$, dan $1/8$ pada masing-masing IC_{50} EBA dengan perbandingan secara gradien (CCRC, 2009).

c. Pewarnaan sel menggunakan MTT

Pewarnaan sel menggunakan reagen MTT bermaksud untuk melihat jumlah sel yang hidup agar mampu dibaca oleh *Elisa Reader* karena pembacaan berdasarkan pewarnaan reagen. Prinsip pewarnaan ini adalah saat sel hidup sel dapat bereaksi dengan MTT membentuk serabut formazan yang berwarna ungu dan apabila dengan sel mati maka MTT tidak dapat bereaksi atau tidak berwarna. Reagen yang digunakan harus baru dibuat. Langkah awal proses ini yaitu dibuat reagen MTT dengan cara mengencerkan MTT dari konsentrasi 5 mg/ml menjadi 0,5 mg/ml dengan MK (Media Komplit). Langkah selanjutnya yaitu dibuang media dalam plate dengan ditap pada tissue. Lalu diisi kontrol medium menggunakan MK RPMI dan kontrol sel menggunakan sel HeLa. Setelah semua plate terisi penuh dengan 7 konsentrasi ekstrak, kontrol sel dan kontrol medium *plate* diinkubasi selama 3-6 jam. Langkah berikutnya yaitu ditambah 100 μ l SDS stop berupa DMSO untuk melarutkan serabut formazan yang tertutup. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu

ruang untuk menunggu reaksi pembentukan serabut formazan (CCRC, 2009).

d. Pembacaan plate dengan *Elisa Reader*

Pembacaan plate menggunakan *Elisa reader* pada prinsipnya dapat mengabsorbansi pewarnaan sel berdasarkan intensitas warna yang dibentuk. Panjang gelombang yang digunakan sekitar 500nm-600nm, tetapi biasanya menggunakan panjang gelombang 595 nm. Absorbansi yang dihasilkan kontrol medium rendah sedangkan pada kontrol sel tinggi karena serabut formazan yang dihasilkan dalam kontrol medium tidak terbentuk sedangkan pada kontrol sel banyak. Langkah selanjutnya yaitu dianalisis hasil absorbansi menggunakan *microsoft excel* untuk mengetahui prosentase sel hidup yang akan dinyatakan sebagai IC_{50} kombinasi EBA dengan Cis.

4.6 Analisis Data

Analisis data dapat dilakukan dengan parameter nilai IC_{50} kombinasi EBA dengan Cis dianalisis dengan perhitungan regresi menggunakan *microsoft excel* berdasarkan parameter tingkat prosentase sel hidup. Parameter efek sinergis dapat diukur menggunakan rumus:

$$CI = (D)_1 / (D_x)_1 + (D)_2 / (D_x)_2$$

CI : Indeks kombinasi yang dinyatakan sebagai sinergis atau antagonis

(D_x) : Konsentrasi tunggal senyawa untuk memberikan efek sebesar kombinasi

(D)₁ dan (D)₂ : Besarnya konsentrasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama

Angka CI atau *Combination Index* yang diperoleh kemudian diinterpretasikan sebagai berikut:

<0,1 : Efek sinergis sangat kuat

0,1-0,3 : Efek sinergis kuat

0,3-0,7 : Efek sinergis

0,7-0,9 : Efek sinergis ringan-sedang

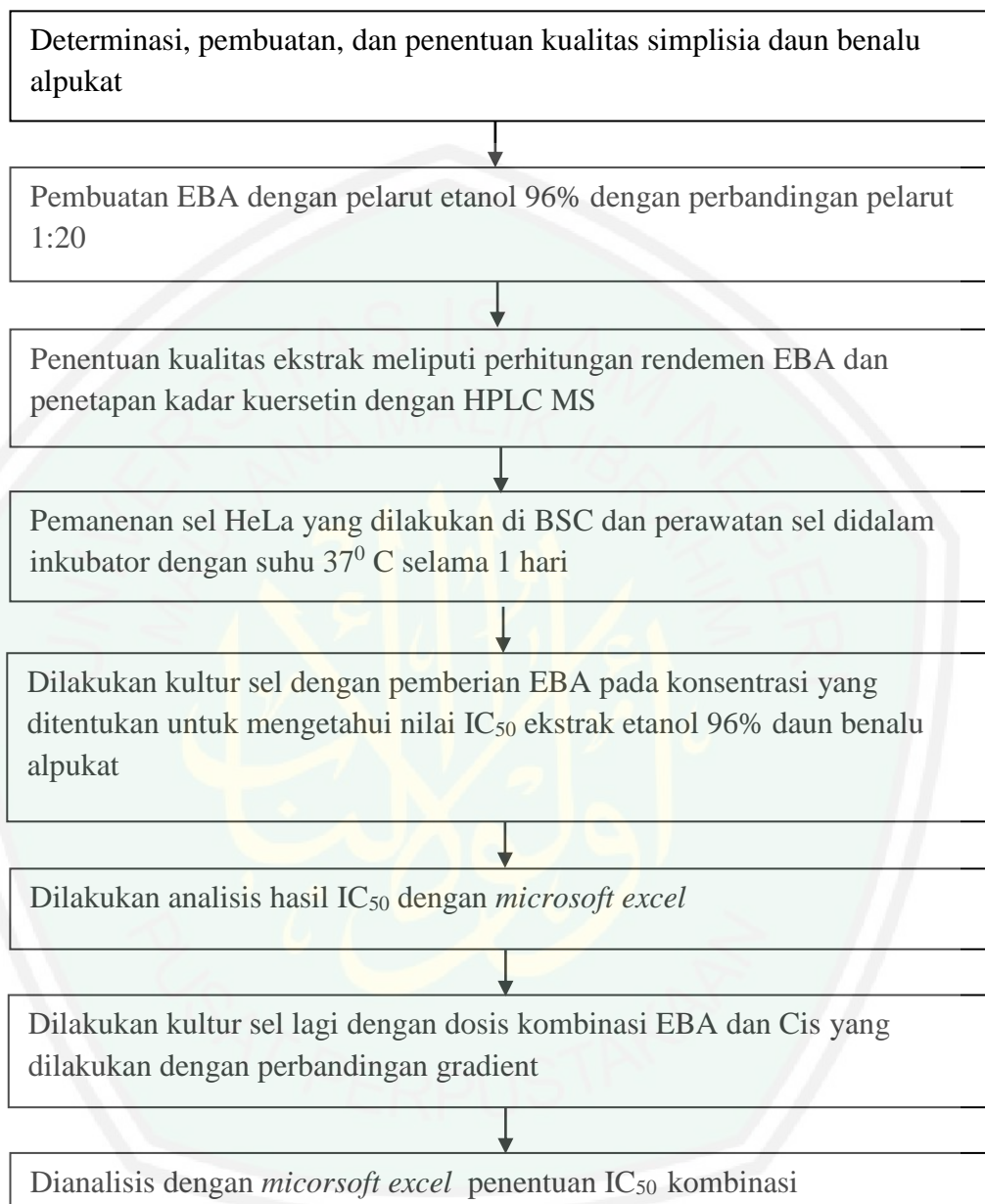
0,9-1,1 : Mendekati aditif

1,1-1,45 : Efek antagonis ringan-sedang

1,45-3,3 : Efek antagonis

>3,3 : Efek antagonis kuat-sangat kuat (Muti'ah, 2014).

4.7 Alur Penelitian



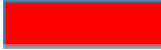

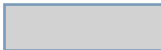



4.8 Pemetaan Plate

4.8.1 Pemetaan plate kombinasi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	$\frac{1}{2}I$ C_{50} Cis	$\frac{1}{2}I$ C_{50} Cis	$\frac{1}{2}I$ C_{50} Cis	$\frac{1}{2}I$ C_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}I$ C_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}
B	$\frac{3}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{3}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{3}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}
C	$\frac{1}{4}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{4}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{4}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}
D	$\frac{1}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{8}$ IC_{50} Cis	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}
E	$\frac{1}{2}I$ C_{50} BA	$\frac{1}{2}I$ C_{50} BA	$\frac{1}{2}I$ C_{50} BA	$\frac{1}{2}I$ C_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	$\frac{1}{2}$ IC_{50}	Kontrol Sel					
F	$\frac{3}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{3}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{3}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	$\frac{3}{8}$ IC_{50}	Kontrol medium					
G	$\frac{1}{4}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{4}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{4}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}	$\frac{1}{4}$ IC_{50}						
H	$\frac{1}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{8}$ IC_{50} BA	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}	$\frac{1}{8}$ IC_{50}						

Keterangan:

-  : IC₅₀ Cis
-  : IC₅₀ EBA
-  : Kombinasi dengan $\frac{1}{2}$ IC₅₀
-  : Kombinasi dengan $\frac{3}{8}$ IC₅₀
-  : Kombinasi dengan $\frac{1}{4}$ IC₅₀
-  : Kombinasi dengan $\frac{1}{8}$ IC₅₀



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik dari kombinasi ekstrak etanol 96% benalu alpukat dengan cisplatin. Penelitian ini dilakukan dalam 5 tahap yaitu pengumpulan dan preparasi sampel, analisa kadar air simplisia benalu alpukat menggunakan *moisture content analyzer*, ekstraksi EBA dengan metode ultrasonik, uji kadar kuersetin dalam ekstrak dengan HPLC, dan uji sitotoksik kombinasi EBA dan Cis tunggal pada sel kanker HeLa dengan metode MTT

5.1 Pengumpulan dan Preparasi Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan untuk mendapatkan sampel yang diinginkan. Sampel dikumpulkan dari daerah Kecamatan Bantur, Kabupaten Malang. Sampel yang akan dikumpulkan memiliki karakteristik seperti semak bercabang, sebagai obligat, tinggi sampai 1 meter. Daun tersebar bertangkai pendek, berbentuk lanset atau bulat memanjang, tebal dan rapuh. Karangan bunga dalam ketiak atau tertumpul lebih dari satu ruas, bunga 2-20, tangkai pendek, bentuk tabung, kelopak silindris sampai bentuk mangkuk, mahkota persegi 5 warna kuning sampai oranye. Kepala putik bentuk tombol tumpul. Buah bentuk telur, panjang sampai 1 cm, warna kuning oranye. Benalu yang diambil berasal dari inang pohon alpukat (*Parsea americana*). Tahapan

selanjutnya yaitu dilakukan determinasi tanaman di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur untuk mengetahui keaslian tanaman dan nama latin tanaman. Preparasi sampel dilakukan di Unit Simplisia Materia Medika, Batu, Jawa Timur. Sebelum dilakukan preparasi daun benalu alpuka dicuci sampai bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada benalu, langkah selanjutnya yaitu dipotong daun kecil-kecil. Daun yang dikeringkan lalu dipotong untuk memperkecil ukuran partikel sehingga luas permukaan diperluas dengan tujuan mempermudah pelarut mengambil fragmen-fragmen yang terdapat didalam sel daun, lalu diletakkan di oven dengan suhu 60° C selama 2-3 hari sehingga menjadi lebih kering, adapun maksud dari pengeringan ini adalah untuk mengurangi kadar air dalam simplisia agar tidak mudah terkena mikroba dan jamur. Simplisia yang dihasilkan dalam proses ini berwarna hijau tua kecokelatan.

5.2 Analisis Pengukuran Kadar Air

Kadar air dalam parameter pengukuran kualitas simplisia merupakan hal yang penting. Tujuan pengukuran kadar ini adalah untuk mengurangi kontaminasi mikroorganisme sampai pada batas dimana mikroorganisme dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan dapat terhenti sehingga waktu simpan simplisia lebih lama (Riansyah dkk., 2013). Secara umum pengukuran kadar air dilakukan dengan berbagai metode seperti metode pengeringan (*termografi*), metode destilasi (*termovolumetri*), metode kimia (*fischer*), dan metode fisik

(Nielsen, 2010). Pengukuran *moisture content analyzer* berdasarkan prinsip termografi dengan menguapkan air dalam serbuk hingga konstan. Pemilihan metode ini didasarkan karena senyawa antioksidan mudah rusak karena suhu tinggi, lebih praktis dan mudah pengoperasionalan alat, serta harga lebih murah. Berdasarkan pengukuran didapatkan hasil kadar air sebesar 9% dengan uraian pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 hasil pengujian kadar air simplisia

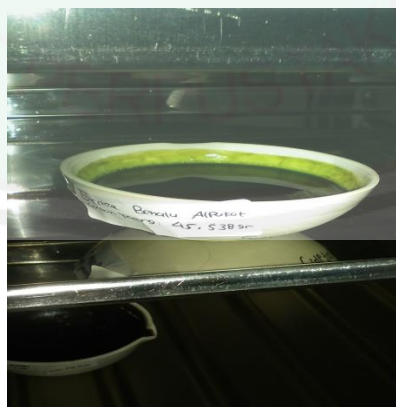
No.	Replikasi	Hasil
1.	Replikasi pertama	9,07%
2.	Replikasi kedua	9,23%
3.	Relikasi ketiga	8,70%
Rata-Rata		9%±0,271846

Berdasarkan pengujian yang dilakukan simplisia didapatkan hasil 9% yang berarti memenuhi standart Materia Medika Indonesia (1978) dimana standart kadar air simplisia maksimal adalah <10%.

5.3 Ekstraksi Benalu Alpukat dengan Metode UAE

Metode ultrasonik dipilih karena senyawa kuersetin tidak tahan terhadap panas dan untuk memaksimalkan proses ekstraksi agar tidak memakan waktu yang lama, hal ini karena gelombang ultrasonik

membantu memecah dinding sel yang akan mempermudah substrat keluar dari dinding sel (Jos dkk., 2011). Keuntungan ekstraksi ultrasonik ini adalah menaikkan kemampuan pelarut untuk merusak dan menembus membran sel sehingga senyawa-senyawa metabolit dalam tumbuhan menjadi tertarik keluar dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat dan rendemen yang dihasilkan sama dengan ekstraksi konvensional (Fuadi, 2012). Kekurangan ekstraksi metode ultrasonik adalah tidak dapat digunakan pada sampel dengan jumlah yang besar sehingga penerapan dalam industri tidak dapat dilakukan atau hanya dalam skala laboratorium. Pemakaian pelarut etanol 96% digunakan karena pelarut etanol lebih universal dan dapat menarik senyawa polifenol lebih banyak. Daun benalu alpukat diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan perbandingan 1:20. (Patria dkk., 2013). Hasil ekstraksi ditampilkan pada gambar 5.1



Gambar 5.1 hasil ekstrak saat dioven

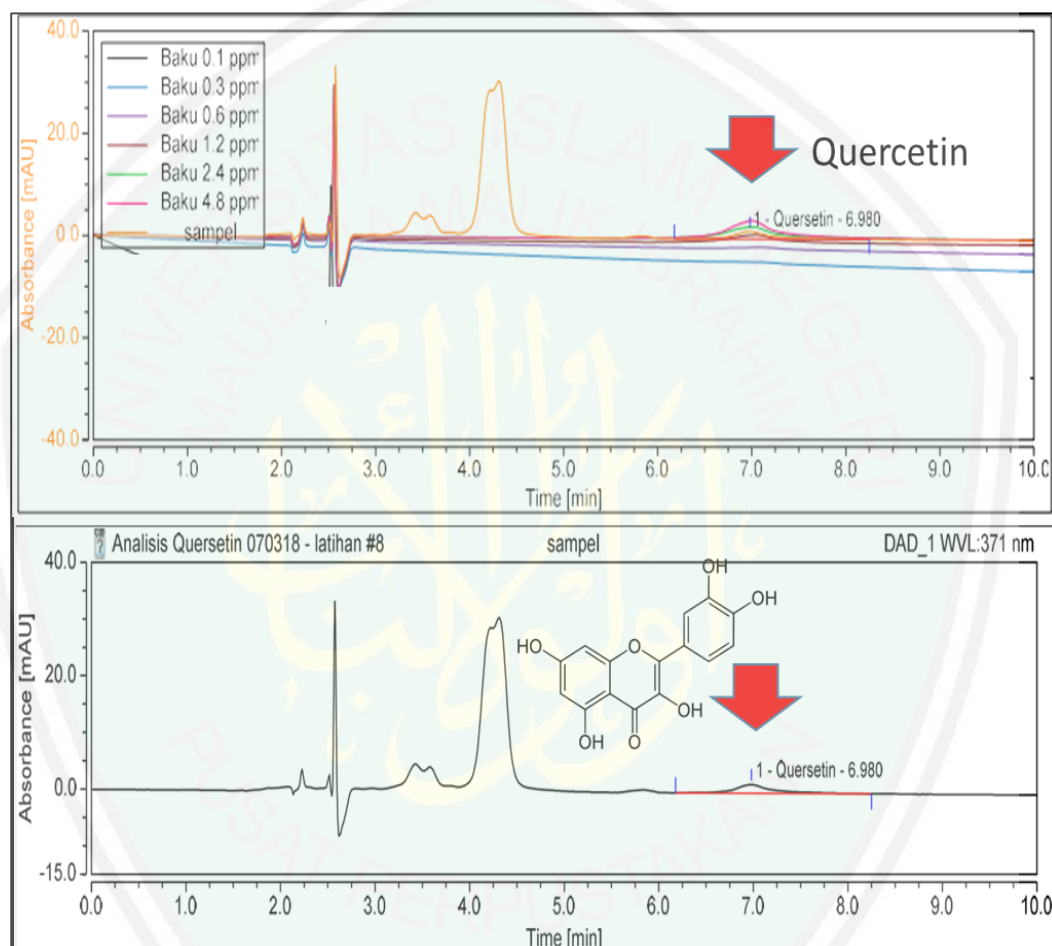
Berdasarkan perhitungan didapatkan hasil rendemen ekstrak sebesar 6,1342%.

5.4 Analisis Kadar Kuersetin dengan Metode HPLC

HPLC adalah salah satu teknik dari kromatografi. Saat ini kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling umum dan sering digunakan dalam bidang analisis farmasetik karena dapat menawarkan tiga fungsi sekaligus yaitu analisis kualitatif, kuantitatif, dan preparatif (Muti'ah, 2014). Pada penelitian ini dilakukan analisis dengan HPLC untuk mengetahui kadar kuersetin dalam EBA. Prinsip pemisahan HPLC sama seperti pada umumnya pemisahan pada kromatografi pada umumnya yaitu adanya distribusi komponen-komponen dalam fase diam dan fase gerak berdasarkan perbedaan sifat fisik komponen yang akan dipisahkan. Ciri utama dalam *instrument* HPLC ini adalah penggunaan tekanan tinggi untuk mengirim fase gerak dalam kolom dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan lebih besar (Ardianingsih, 2009).

HPLC yang digunakan dalam penelitian ini adalah HPLC dengan fase diam kolom C-18. Langkah yang pertama dalam analisis ini adalah dipreparasi larutan baku dengan konsentrasi 0,1; 0,3; 0,6; 1,2; 2,4; dan 4,8 ppm. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol:air 59:41 dengan modifikasi air diberi 2% asam asetat untuk meninggikan peak kromatogram dengan volume injeksi sampel 10 μ l, waktu alir 10 menit dan laju alir 1,2 ml/detik (Nugraha dkk, 2012).

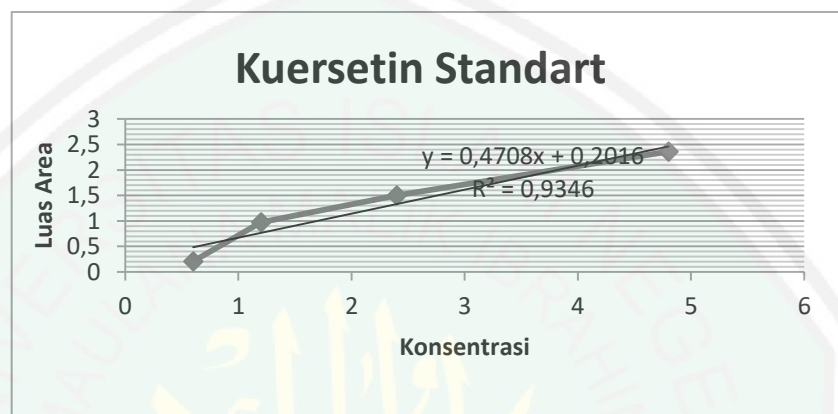
Berdasarkan percobaan yang dilakukan didapatkan waktu retensi 6,98 menit. Hasil kromatogram dapat digambarkan pada gambar 5.2 sebagai berikut:



Gambar 5.2 Hasil kromatogram HPLC analisis kuersetin

Kurva kalibrasi uji linearitas dilakukan pada seri larutan kuersetin konsentrasi 0,6; 1,2; 2,4; 4,8 ppm karena pada konsentrasi 0,1 dan 0,3 ppm hasil tidak diidentifikasi. Hubungan antara kadar kuersetin dengan luas area memberikan persamaan garis $y = 0,470x + 0,201$ dengan koefisien relasi (R^2) 0,934. Hasil ini menunjukkan bahwa larutan baku

yang dibuat memiliki linieritas yang tinggi sehingga validitas juga tinggi untuk mengukur kadar kuersetin dalam EBA. Grafik linieritas kuersetin standart dapat dipaparkan pada gambar 5.3

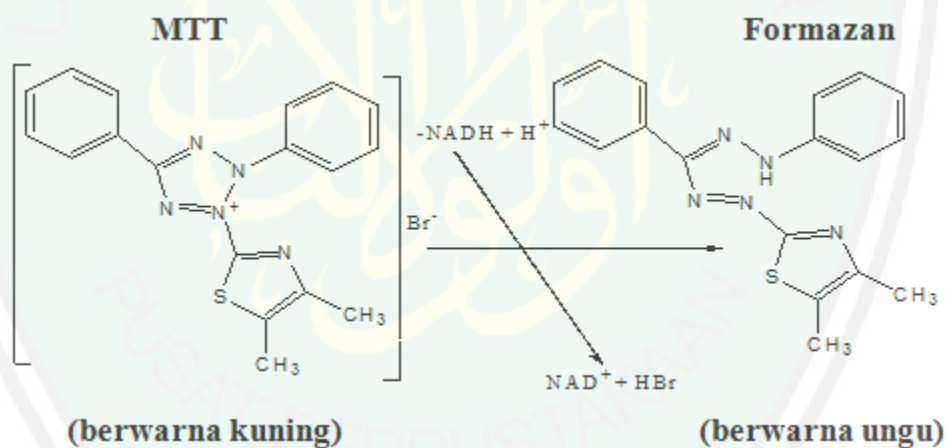


Gambar 5.3 Grafik linieritas HPLC kuersetin standart

Berdasarkan hasil analisis didapatkan kadar kuersetin dalam EBA adalah 1,1625 ppm atau 0,116% b/v jika dikonversikan dalam mg adalah 0,029 mg/g bahan kadar ini relatif lebih kecil jika dibandingkan pada penelitian Dewata dkk., (2017) yang dilakukan pada teh daun alpukat dengan menggunakan metode spektrofotometri UV Vis mendapatkan hasil kadar flavonoid dalam teh daun alpukat dengan suhu 70⁰ C adalah 2,72 mg/g. Perbedaan ini dimungkinkan karena disebabkan berbagai faktor seperti ukuran simplisia, jenis pelarut, tingkat kepolaran pelarut yang menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat terekstrak dari bahan, dan metode ekstraksi (Hidayati dkk, 2017).

5.5 Uji Sitotoksik Pada Sel HeLa dengan Metode MTT Assay

Uji aktivitas antikanker ekstrak etanol 96% benalu alpukat dilakukan dengan metode *in vitro* pada sel kanker serviks HeLa menggunakan metode MTT. Prinsip pengujian MTT adalah enzim reduktase mereduksi garam kuning tetrazolium sehingga menjadi senyawa suksinat tetrazolium yang masuk kedalam mitokondria sel sehingga membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air (Arifianti dkk, 2014). Gambar reaksi pembentukan serabut formazan dapat dijabarkan pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Reaksi MTT untuk membentuk serabut formazan

Pada metode ini digunakan MK RPMI digunakan sebagai media kultur karena RPMI merupakan media terbaik untuk kultur sel kanker dalam jangka waktu pendek. Media RPMI berisi FBS (*Fetal Bovine Serum*) berfungsi sebagai *growth factor*. FBS adalah suplemen peningkatan pertumbuhan yang sering digunakan karena kompleks dan mengandung banyak faktor pertumbuhan, melindungi sel, dan member nutrisi. RPMI

juga ditambahkan antibiotik *penisilin streptomisin* yang tidak bersifat toksik, memiliki spectrum yang luas, dan ekonomis (Zarisman, 2006).



Penelitian ini menggunakan sel HeLa karena sel tersebut cukup aman digunakan untuk kepentingan kultur, bersifat *immortal* atau tidak dapat mati dalam usia tua, dan dapat membelah secara tidak terbatas selama memenuhi kondisi lingkungan yang sesuai (Mutiah, 2014). Pada saat pemanenan sel diberikan tripsin EDTA yang berfungsi untuk melepaskan sifat aderen pada sel. Perhitungan distribusi sel menggunakan alat hemositometer untuk mengetahui distribusi kepadatan sel. Hemositometer adalah alat yang dipakai untuk menghitung jumlah sel. Hemositometer terdiri dari kamar hitung, kaca penutup, dan dua macam pipet (Depkes, 1989). Hasil perhitungan sel digunakan sebagai pedoman pengambilan sel (Gusmita, 2010).

Pada proses *treatment* ekstrak dilarutkan dalam DMSO sepuluh kali berat ekstrak. DMSO adalah *solvent* yang dapat meningkatkan kelarutan sampel. DMSO adalah sebuah pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non polar dan dapat larut dalam pelarut apapun baik organik maupun air (BPOM, 2010). DMSO dalam konsentrasi rendah relatif tidak berpengaruh pada proliferasi sel, tetapi pada konsentrasi tertentu DMSO juga berpengaruh pada aktifitas sitotoksik. DMSO 1,25% digunakan sebagai pelarut tidak berpengaruh ada proliferasi sel HeLa. Uji sitotoksitas menggunakan DMSO 2% beberapa jalur sel tidak memiliki efek pertumbuhan sel. Pada penelitian

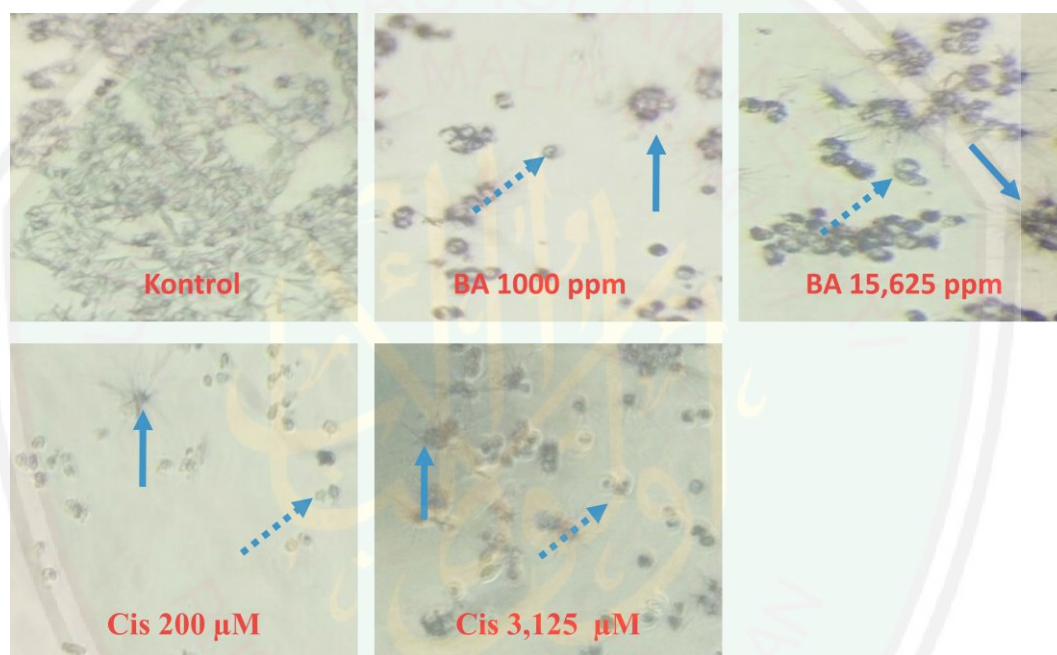
Nurrochamad 2001 pada konsentrasi DMSO 4% tidak berpengaruh pada proliferasi myloma. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0,1% b/v (Mutiah *et al.*, 2016). Bantuan pelarutan dilakukan dengan *vortex* sehingga konsentrasi 100.000 mg/ μ l, kemudian diencerkan dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 ppm. Preparasi Cis dilakukan dengan cara diambil 60 μ l Cis dan ditambahkan sampai tanda batas dengan 940 μ l MK dan konsentrasi *stock* menjadi 200 μ M. Langkah selanjutnya adalah membuat *stock* Cis dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 ppm. Langkah berikutnya yaitu diamati kondisi sel akibat perlakuan. Pada sel yang mengalami kematian sel tidak berwarna sedangkan pada sel hidup berwarna terang. Gambaran mikroskopik sel HeLa setelah diberi *treatment* dapat digambarkan pada gambar 5.



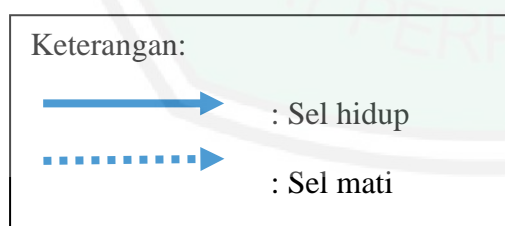
Gambar 5.5 Morfologi sel HeLa setelah *treatment*

Keterangan:	
	: Sel hidup
	: Sel mati

Sel yang hidup ditandai dengan adanya sinar pada mikroskop interved, sedangkan sel yang mengalami kematian tidak berwarna. Proses yang ketiga adalah pemberian reagen MTT 100 μ l pada setiap *well*. Pengaruh pemberian reagen MTT pada Sel HeLa pada perlakuan dan kontrol dapat digambarkan pada gambar 5.6

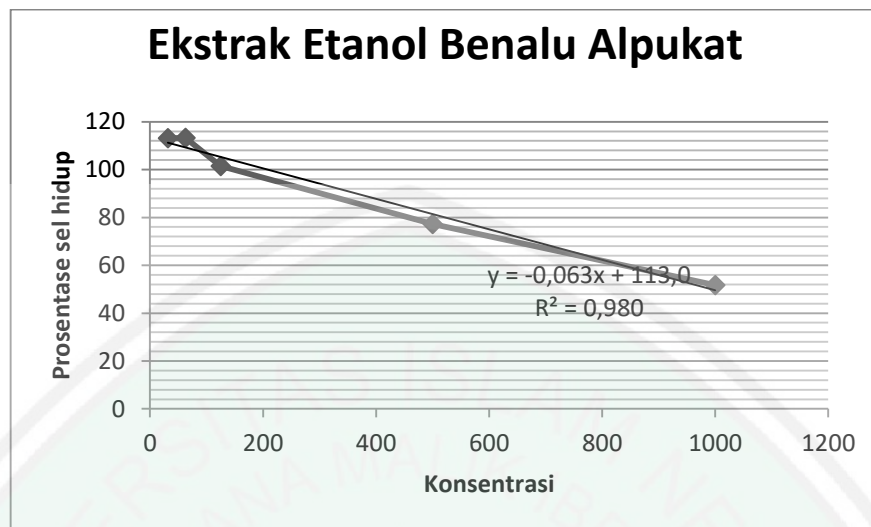


Gambar 5.6 Morfologi Sel HeLa akibat Perlakuan EBA dan Cis



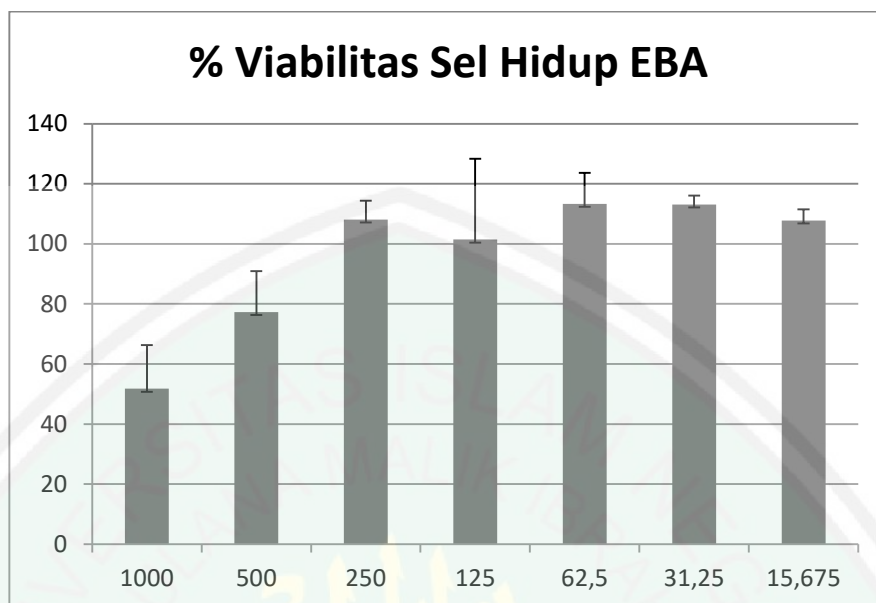
Gambar tersebut memberikan gambaran bahwa pada pada konsentrasi tinggi baik Cis maupun EBA memberikan efek kematian pada sel, hal tersebut ditandai dengan adanya serabut formazan, serabut formazan ini dibentuk karena enzim reduktase mereduksi garam kuning

tetrazolium sehingga menjadi senyawa suksinat tetrazolium yang masuk kedalam mitokondria sel sehingga membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air (Arifianti dkk., 2014) pembentukan kristal formazan ini yang dibentuk pada konsentrasi tinggi lebih sedikit dibandingkan pada pemberian EBA dan Cis pada konsentrasi terendah serta kontrol sel. Langkah terakhir yaitu pemberian SDS stop. SDS stop berfungsi untuk melisiskan membran sel dan mendenaturasi protein yang telah membentuk serabut formazan agar bisa dibaca pada *microplate reader* semakin pekat warna ungu, maka serabut formazan semakin banyak dan menandakan semakin banyak pula sel yang hidup (Maulana dkk., 2010). Berdasarkan perhitungan pada ekstrak tunggal didapatkan nilai $y = -0,063x + 1113,0$. Uji linearitas dilakukan pada konsentrasi ekstrak 1000; 500; 62,5; 31,25; dan 15,625 dengan (R^2) 0,98. Nilai linearitas yang mendekati 1 menandakan bahwa tingkat linearitas hasil sangat tinggi, dengan linearitas yang tinggi maka validitas juga sangat tinggi karena $>0,8$ (Samidi, 2015). Grafik linearitas pengujian EBA tunggal pada sel HeLa dapat disajikan pada gambar 5.7



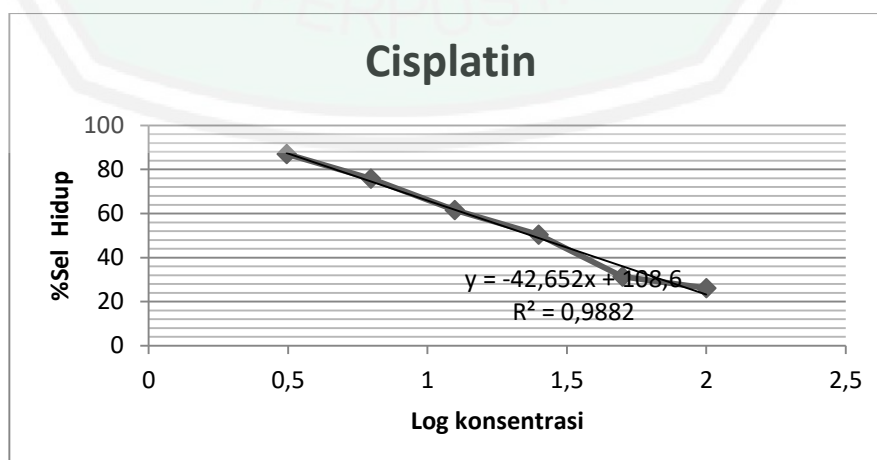
Gambar 5.7 kurva linieritas EBA

Berdasarkan data diatas IC_{50} EBA adalah $1000 \pm 124,6812$ ppm. Menurut Mayer (1982) suatu senyawa dikatakan toksik jika mempunyai harga IC_{50} kurang dari 1.000 mg/ μ l. Berdasarkan data tersebut IC_{50} yang dihasilkan sangat tinggi sehingga potensinya lemah, perlu dilakukan pengembangan untuk meningkatkan potensi dari tanaman benalu alpukat dengan mengembangkan opsi kombinasi agen kemoterapi agar potensitasnya meningkat. Grafik prosentase viabilitas sel hidup akibat perlakuan EBA pada konsentrasi tertentu dapat ditunjukkan pada gambar 5.8



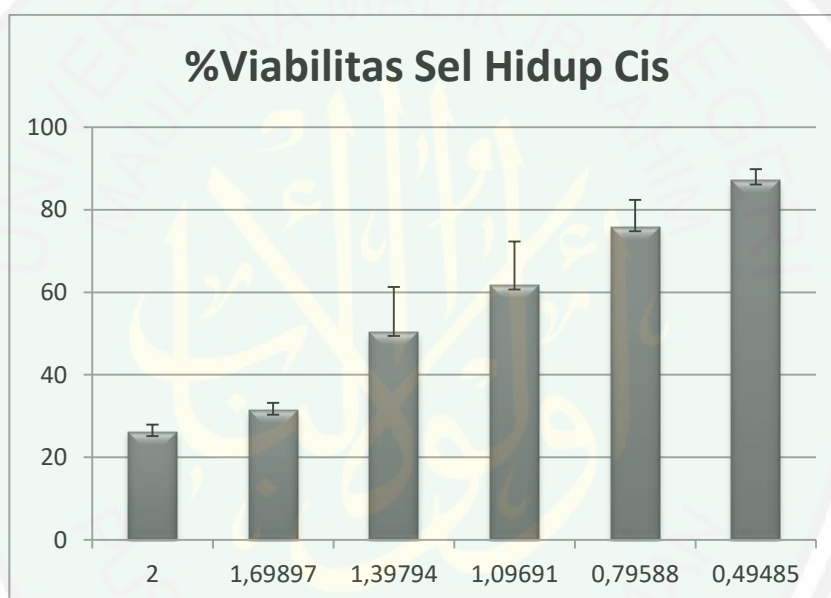
Gambar 5.8 Grafik viabilitas sel hidup ekstrak

Sedangkan pada Cis didapatkan nilai $y = -42.65x + 108.6$. Uji linearitas dilakukan pada konsentrasi 100 ; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,124 μM dengan nilai R^2 0.988. Nilai R mendekati satu berarti validitas pengujian tersebut tinggi pula (Samidi,2015). Grafik linieritas pengujian cis dapat digambarkan pada gambar 5.9



Gambar 5.9 Kurva linieritas cisplatin

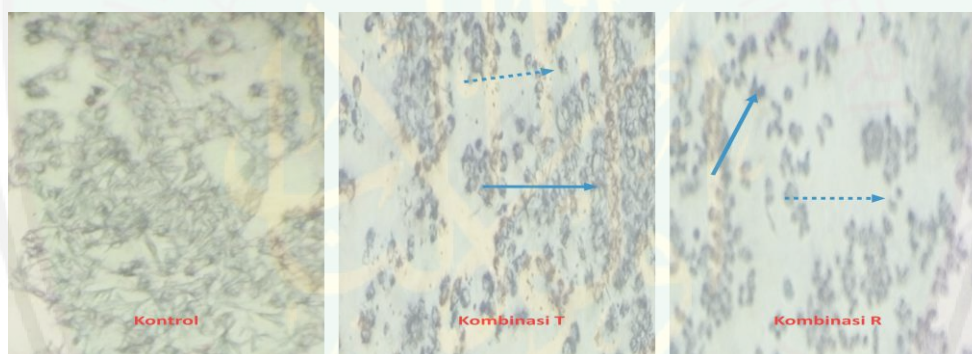
Berdasarkan perhitungan didapatkan hasil IC_{50} pada cisplatin tunggal adalah $23,8165965 \mu M \pm 1,46363$ menurut NCI (*National Cancer Institute*) tahun 2012 senyawa tersebut memiliki potensitas sebagai obat anti kanker terutama pada kanker serviks karena IC_{50} bernilai kurang dari 30 mg/ μ l. Gambaran viabilitas sel akibat perlakuan cis pada konsentrasi tertentu dapat dilihat pada gambar 5.10



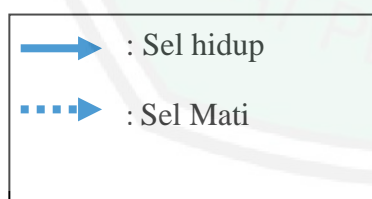
Gambar 5.10 grafik viabilitas sel hidup pada cisplatin

Pengujian yang terakhir dilakukan adalah uji kombinasi untuk mengetahui efek kombinasi dari dua terapi obat. Kombinasi terapi (kemoterapi) bertujuan untuk meningkatkan efektifitas pengobatan dan menurunkan efek samping dari agen kemoterapi. Idealnya obat yang dikombinasikan mempunyai efek yang sinergis melawan sel kanker namun toksisitasnya dapat ditoleransi sehingga secara klinik lebih efisien dibandingkan dengan agen tunggal sehingga diperoleh manfaat yang lebih

optimal (Muti'ah, 2014). Uji kombinasi dilakukan setelah didapatkan nilai IC_{50} dari tunggal digunakan sebagai pedoman dalam membuat preparasi larutan $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{8}$, $\frac{1}{4}$, dan $\frac{1}{8}$ pada EBA maupun Cis. Dosis kombinasi ini digunakan dibawah dosis IC_{50} untuk memperoleh efek antikanker yang tinggi pada dosis rendah sehingga diharapkan dapat mengurangi efek samping pada penggunaan kombinasi tersebut (Mutiah dkk., 2017). Hasil pengamatan kondisi sel akibat perlakuan dari cisplatin dan ekstrak seperti gambar 5.11

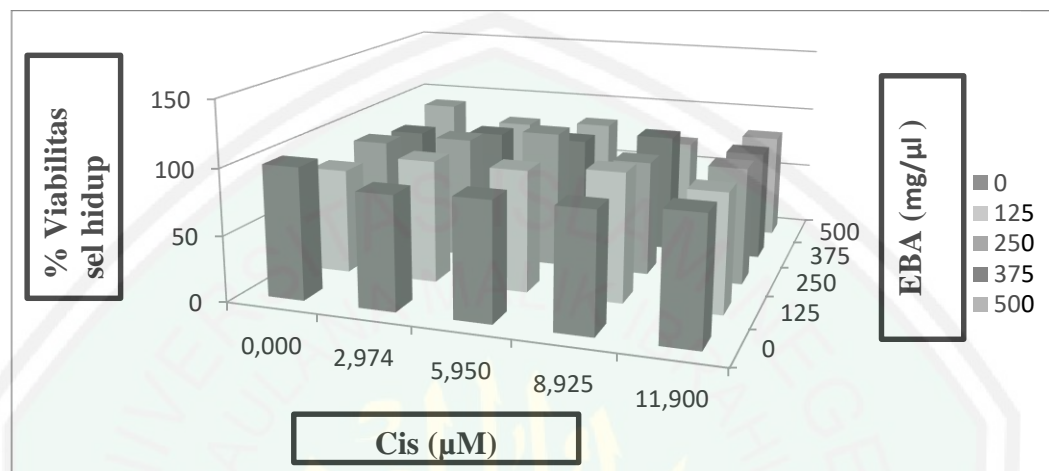


Gambar 5.11 Perbandingan Sel Kombinasi Kondisi Sel HeLa setelah MTT pada konsentrasi tinggi (a) Konsentrasi sel HeLa setelah MTT pada konsentrasi rendah (b)



Gambar diatas terlihat bahwa dengan perbandingan konsentrasi yang tinggi jumlah sel hidup juga tinggi, sedangkan pada konsentrasi rendah jumlah sel hidup cenderung mengalami kematian hal ini karena serabut formazan yang dibentuk dari sel hidup lebih banyak dibentuk pada konsentrasi yang tinggi. Gambaran jumlah viabilitas sel hidup akibat

perlakuan kombinasi EBA dengan Cis dapat dipaparkan pada gambar 5.12

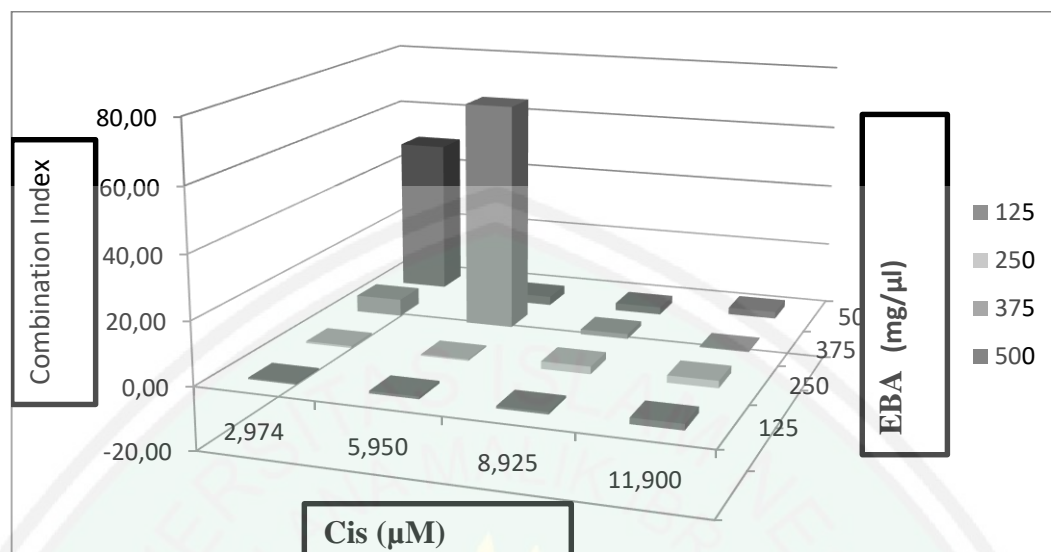


Gambar 5.12 Diagram Viabilitas Sel Hidup Kombinasi

Viabilitas sel adalah jumlah sel yang hidup pada setiap kombinasi. Viabilitas sel kombinasi yang paling kecil terdapat pada kombinasi konsentrasi ekstrak benalu alpukat 500 mg/µl dan 8,925 µM cisplatin. Viabilitas terbesar sel hidup terdapat pada kombinasi ekstrak benalu alpukat 125 mg/µl dengan 5,95 µM cisplatin. Viabilitas sel digunakan sebagai dasar dalam perhitungan *Combination Index*. *Combination Index* adalah metode yang digunakan untuk mengevaluasi kombinasi obat-obatan (Muti'ah, 2014). Hasil perhitungan Indeks Kombinasi atau *Combination Index (CI)* dapat dipaparkan pada tabel 5.2 dan grafik pada gambar 5.13

Tabel 5.2 Hasil perhitungan CI

No	Kombinasi		% Viabilitas sel hidup	CI	Kategori Efek
	EBA	Cis			
1.	125	2,974	93,62±5,5156	0,46	Sinergis
2.	125	5,95	92,85±2,1539	0,77	Sinergis ringan-sedang
3.	125	8,925	97,70±1,4464	0,70	Sinergis
4.	125	11,9	89,86±5,1161	1,92	Antagonis
5.	250	2,974	94,63±3,2123	0,62	Sinergis
6.	250	5,95	104,85±18,0661	0,47	Sinergis
7.	250	8,925	88,16±1,1246	2,38	Antagonis
8.	250	11,9	89,66±3,496	2,27	Antagonis
9.	375	2,974	84,53±2,0322	5,45	Antagonis kuat-sangat kuat
10.	375	5,95	83,96±1,4029	72,20	Antagonis kuat-sangat kuat
11.	375	8,925	92,36±4,7261	1,55	Antagonis
12.	375	11,9	84,61±2,5436	0,31	Sinergis
13.	500	2,974	78,87±2,0747	49,78	Antagonis kuat-sangat kuat
14.	500	5,95	83,03±0,73	2,87	Antagonis
15.	500	8,925	71,76±15,2567	2,43	Antagonis
16.	500	11,9	82,22±4,6385	2,18	Antagonis



Gambar 5.13 Diagram Indeks Kombinasi

Berdasarkan tabel dan diagram yang telah dipaparkan beberapa kombinasi menghasilkan efek yang sinergis yaitu kombinasi 125 ppm EBA + 2,974 μM Cis, 125 ppm EBA + 5,95 Cis, 125 ppm EBA + 8,925 Cis μM , 250 ppm EBA + 2,97 Cis μM , 250 ppm EBA + 5,95 μM Cis, 375 ppm EBA dengan 8,295 Cis μM . Mekanisme kuersetin dalam menghasilkan efek yang sinergis adalah menghambat proses karsinogenesis dengan cara menghambat pembentukan enzim tirosin kinase sehingga proliferasi dapat dikendalikan. Pada obat antikanker dengan target enzim tirosin kinase memiliki efek selektif jika dibandingkan dengan mekanisme yang lain (Klohs, 1997 dalam Ikawati dkk., 2008). Pada penelitian Hoffman *et al.*, (1990) kuersetin memiliki efek yang sinergis dengan cisplatin baik secara uji *in vitro* maupun *in vivo* jika dibandingkan pada pemberian cisplatin dalam terapi tunggal (dikutip dalam Ikawati dkk., 2008). Efek sinergis cenderung didapatkan pada konsentrasi

yang rendah dibandingkan pada konsentrasi yang tinggi. Efek antagonis timbul karena pada dosis tinggi cisplatin dapat menyebabkan resistensi pada sel. Mekanisme efek antagonis karena pada dosis tinggi cisplatin mengalami resistensi. Pada sel yang resisten, cisplatin tidak berhasil menyebabkan kerusakan DNA sehingga p53 tidak dapat diaktifkan, dimana protein p53 sangat penting untuk proses pemacuan apoptosis. Sel kanker yang tumbuh sebagai parasit dianggap oleh tubuh sebagai sel sehat sehingga tubuh berkompensasi untuk melindungi sel kanker dari proses apoptosis dengan meningkatkan produksi protein Bcl-2 dan dampaknya adalah tidak terjadi apoptosis dan sel menjadi *immortal* (Pemaroon, 2012). Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) diproduksi oleh sel neuron yang masih *intak* (utuh) disekitar neuron yang rusak. Mekanisme terbentuknya protein Bcl-2 adalah mencegah pelepasan *cytochrome C* dari mitokondria sehingga mencegah aktivasi dari casepase 3 yang dikenal sebagai salah satu enzim vital dalam proses apoptosis (Wang *et al*, 2011). Fungsi dari Bcl-2 adalah sebagai antiapoptosis akan memblock program kematian sel dan memperpanjang umur sel, ekspresi berlebih Bcl-2 melindungi limfosit dari apoptosis yang menyebabkan sel itu bertahan dalam waktu yang lama (Paulus dkk., 2008). Belum diketahui secara jelas batas konsentrasi cisplatin sehingga menyebabkan pengobatan menjadi resisten.

Berdasarkan uji korelasi pearson dapat diketahui bahwa antara konsentrasi EBA (X_1) terhadap konsentrasi Cis (X_2) memiliki makna tidak ada korelasi signifikan 2 variabel, akan tetapi Sedangkan pada

konsentrasi EBA (X_1) dengan nilai viabilitas sel hidup (Y) memiliki nilai korelasi sangat kuat tidak sinergis karena nilainya -0,75. Nilai korelasi antara konsentrasi Cis (X_2) dengan viabilitas sel hidup (Y) berkorelasi sangat lemah tidak signifikan (Sani, 2016).

Benalu yang biasanya dianggap sebagai tanaman parasit ternyata dapat digunakan sebagai agen ko kemoterapi dengan cisplatin, hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat Ali Imran ayat 191

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطِلًا مُّبْحٰثًا فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Berdasarkan tafsir Ibnu katsir (2003) bahwa Allah SWT menciptakan sesuatu tidak ada yang sia-sia sehingga sebagai seorang peneliti kita harus memikirkan tentang manfaat dari tumbuhan benalu yang dianggap sebagai tumbuhan parasit. Hal ini karena berfikir tentang kekuasaan Allah SWT adalah salah satu jalan kita menuju surga-Nya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil analisis menggunakan HPLC kadar kuersetin dalam EBA adalah 0,029 mg/g atau 0,116%.
2. Kombinasi menghasilkan efek yang sinergis yaitu kombinasi 125 ppm EBA + 2,974 μ M Cis, 125 ppm EBA + 5,95 Cis, 125 ppm EBA + 8,925 Cis μ M, 250 ppm EBA + 2,97 Cis μ M, 250 ppm EBA + 5,95 μ M Cis, 375 ppm EBA dengan 8,295 Cis μ M..

6.2 Saran

1. Hasil IC_{50} tunggal EBA sangat tinggi sehingga diperlukan pengembangan ekstrak menjadi fraksi untuk meningkatkan potensitas benalu alpukat sebagai agen antikanker
2. Uji kombinasi perlu dilakukan secara *in vivo* untuk mengetahui potensi ketoksikan pada ginjal hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardianingsih, Retno. 2009. *Penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dalam Proses Deteksi Ion*. Jakarta: LAPAN. Volume 10, Nomor 4: 102-104
- Arifianti, Lusiana, Sukardiman, Herra Studiawan, dan Lulus Megawati. 2014. *Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Sel Kanker Mamalia secara In Vitro*. Surabaya: Universitas Airlangga. Volume 1, Nomor 2: 64
- BPOM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal Volume 5 Edisi I*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan
- CCRC (Cancer Cemporevention Riset Center). 2009. *Prosedur Tetap Kerja In Vitro*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM
- Depkes RI. 1978. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan
- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan
- Dewata, I Putu, Putu Ari Sandhi Wipradnyadewi, dan I Wayan Rai Widarta. 2017. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyeduhan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Teh Herbal Daun Alpukat (Parsea Americana Mill.)*. Denpasar: Jurnal ITEPA. Volume 6, Nomor 2: 30-39
- Fuadi, Anwar. 2012. *Ultrasonik sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe*. Aceh: Jurnal Teknologi Volume 2, Nomor 1:14-17
- Gusmita, D. 2010. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Spons Callispongia sp. dan Fraksi-Fraksinya terhadap Sel Lestari Tumor HeLa*. Skripsi. Bogor: Universitas Pancasila
- Handayani, Hana, Feronika Heppy Sriherfyna dan Yunianta. 2016. *Antioxidant Extraction of Soursop Leaf with Ultrasonic Bath (Study of Material: Solvent Ratio and Extraction Time)*. Malang: Jurnal Pangan dan Agroindustri. Volume 4, Nomor 1: 263-269
- Harvey, Richard A. and Panella C. Champe. 2013. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 4*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG

- Haryoto, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tantri Azizah, dan Andi Suhendi. 2013. *Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (Cynometramiflora L) terhadap Sel HeLa, T47D, dan WiDR*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. Volume 18, Nomor 2: 23
- Hasanbahri, Soewarno. 2014. *Serangan Benalu pada Beberapa Kelas Umur Tumbuhan Jati Di Wilayah Hutan BKPH Begal, KPH Ngawi Jawa Timur*. Yogyakarta: Jurnal Manusia dan Lingkungan. Volume 21, Nomor 2: 196
- Hidayati, Fatin, Y.S Darmanto, dan Romadhon.2017. *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Sargasum sp. dan Lama Penyimpanan terhadap Oksidasi Lemak pada Fillet Ikan Patin (Pangasius sp.)*. Semarang: Jurnal Ilmu Lingkungan. Volume 15: 66
- Hutapea, J.R. 1999. *Inventaris Tumbuhan Obat Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Ikawati, Muthi, Andy Eko Wibowo, Octa, N S, dan Adelina R. 2008. *Pemanfaatan Benalu sebagai Anti Kanker*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Jos, Bakti, Bambang Pramudono, dan Aprianto.2011. *Ekstraksi Oleoresin dari Kayu Manis Berbantu Ultrasonik dengan Menggunakan Pelarut Alkohol*. Semarang: Reaktor. Volume 13 Nomor 4: 232
- Katsir, Ibnu. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1-7*. Bogor: Pustaka Imam Syafi'I
- Katzung, Bertram G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG
- Kemenkes RI. 2013. *Data Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Pusdatin Kemenkes RI
- Mardiyaningsih, Ana dan Nur Ismiyati. 2014 *Cytotoxic Activity of Ethanolic of Parsea americana Mill. Leaves on HeLa Cervical Cancer Cell*. Yogyakarta: Trad.Med.J. Volume 19(1): 24

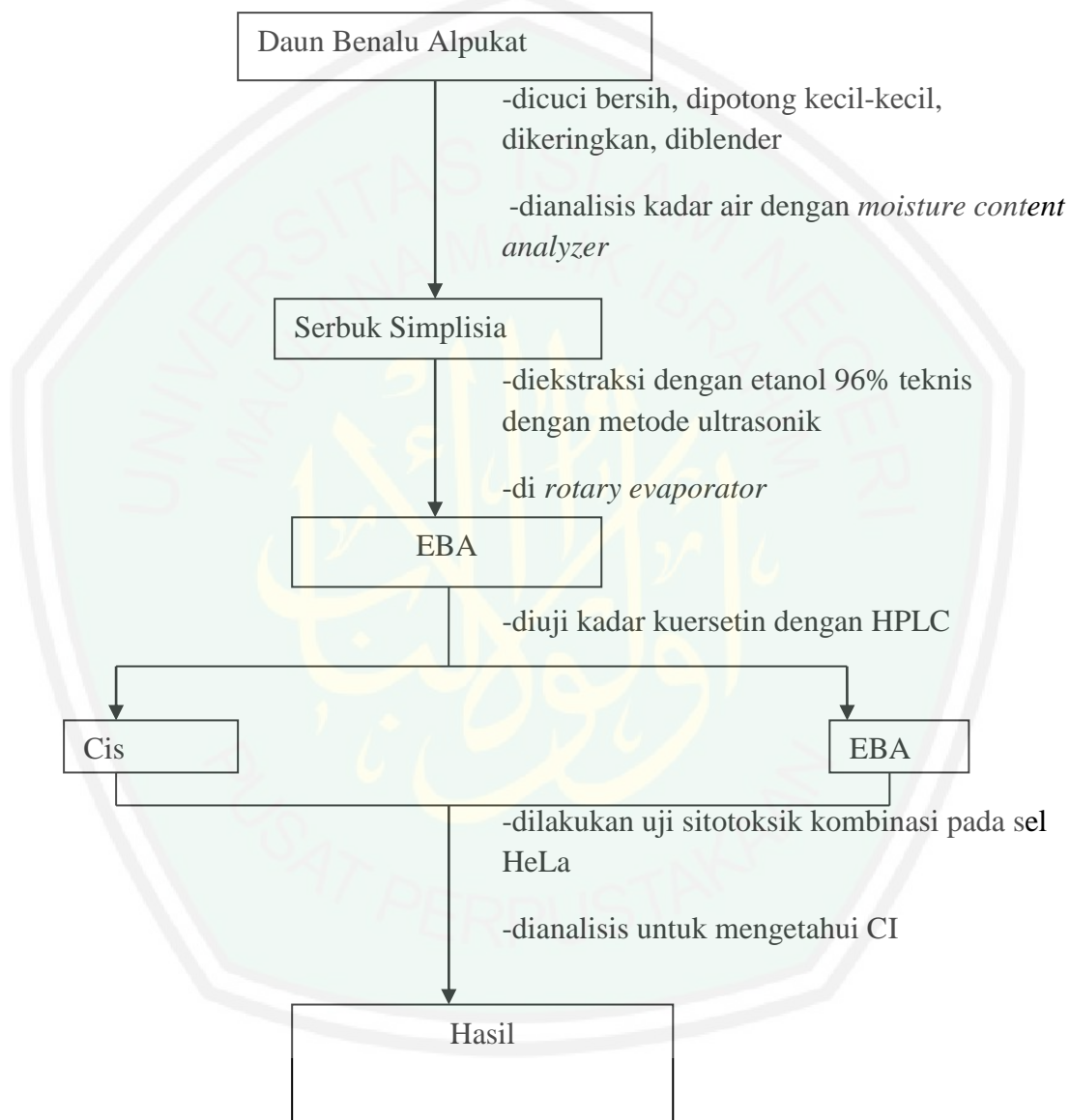
- Maulana, R. Ardiyana. Hafida, E. Putri J.K. Noviyanti, F Murti, S.R. dan Zetina Z. 2010. *Isolasi DNA Tanaman dan Elektroforesis DNA*. Jakarta: UPI.
- Mayer, B.N. Ferrigini, Putnam, J.E. Jacobsen, L.B. Nichols, Mclaughin. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents*. *Planta Medica*. 45: 31-34
- Muna, Ayu Nala El. 2013. *Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak n-Heksana Daun Benalu Kelor (*Helxanthera sessiliflora* (Merr.) Denser) terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D*. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
- Mutiah, Roihatul, Sukardiman, Aty Widyawaruyanti, dan Siti Zulaikah. 2016. *Comparison of Ethanol Extract from Roots, Leaves, and Flowers of Calatropis gigantea as Anticancer on T47D Breast Cancer Cell Lines*. Malang: Alchemy. Volume 5, Nomor 1: 1-4
- Mutiah, Roihatul, Anik Listyana, dan Arief Suryadinata. 2017. *Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (*Macrosolen cochinchinensis*) dan Baang Sabrang (*Eleutherin palmifolia* (L) Merr.) Pada Sel Kanker Serviks (Sel HeLa)*. Malang: Trad Med. Volume 22, Nomer 3: 151
- Muti'ah, Roihatul. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka Antikanker "Panduan Teknik Pengembangan Obat Herbal Indonesia Menjadi Fitofarmaka*. Malang. UIN Maliki Press
- Nainggolan, Olwin, Anna Maria S., Marice, S. 2009. *Faktor-Faktor Berhubungan dengan Tumor/Kanker Saluran Cerna Berdasarkan Survey Kesehatan Nasional*. Jakarta: Manajemen Kedokteran Indonesia. Volume 59 Nomer 11: 511-513
- NCI. 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment.html> (11 Februari 2012)
- Nielsen, S. 2010. *Food Analysis: Laboratory Manual 2nd Edition*. Hal: 17-18. USA: Springer
- Ningrum, Ika Wati. 2011. *Sitotoksitas Ekstrak Spons Laut *Aaptosuberitoides* Terhadap Siklus Sel Kanker HeLa*. Surabaya: ITS.

- Nugraha, Andika dan Ghozali. Penetapan Kadar Flavonoid Kuersetin Ekstrak Kulit Buah Apel Hijau (*Pyrus malus* L) dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Yogyakarta: UMY
- Patria, Willigis Danu dan C.J. Soegihardjo. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrasil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* L. Miq) yang Tumbuh di Pohon Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl) Hook f.). Yogyakarta: Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas. Volume 10, Nomor 1: 51-60
- Paulus, Laurens David, Budi Santoso, dan Widjiati. 2008. Rasio Ekspresi Protein Bcl-2/Bax dan Perubahan Kelenjar Endometrium *Rattus novergicus* sebagai Model SOPK dengan Terapi Flutamide dan Edroxyprogesteron Asetat. Surabaya: Majalah Obstetri dan Ginekologi
- Pemaron, Ida Bagus Upadana. 2012. Peran Protein Bcl-2 pada Resistensi Kemoterapi Golongan Cisplatin pada Kanker Ovarium. Denpasar: UNUD
- Rasjidi, Imam. 2009. Epidemiologi Kanker Serviks. Tangerang: Indonesian Journal of Cancer. Volume 3, Nomor 3: 103-108
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur Sifat Antioksidatif, dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Pontianak: Jurnal Belian. Volume 9, Nomor 2: 196-202
- Riansyah, Angga, Agus Supriadi, dan Rodiana Nopianti. 2013. Pengaruh Perbedaan Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Karakteristik Ikan Asin Sepat Salam (*Trichogasterpeccoralis*) dengan Menggunakan Oven. Oganilir: Fishtech. Volume 2, Nomor 1: 53-54
- Samidi. 2015. Pengaruh Strategi Pembelajaran Student Team Heroic Leadership terhadap Kreativitas Belajar Matematika pada Siswa SMP 29 Medan T.P 2013/ 2014. Medan: Jurnal Edutech. Volume 1, Nomor 2
- Sani K, Fathur. 2016. Buku Metodologi Penelitian Farmasi Komunitas dan Ekperimental. Yogyakarta: Deepublish

- Sembiring, Helmina Br., Sovia Lenny, dan Lemek Marpaung. 2016. *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (Dendrophthoe petandra (L) Miq.)*. Medan: Chimica et Natura Acta. Volume 4, Nomor 3: 117-122
- Shabiri dan Dadan Rohdiana. 2016. *Optimization and Characterization of Green Tea Polyphenol Extract from Various Solvent*. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan GAMBUNG. Volume 19, Nomor 1: 57-66
- Thiha, Aung and Fatimah Ibrahim. 2015. *A Colorimetric Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Detection Platform for a Point-of-Care Dengue Detection System on Lab-on-Compact-Disc*. Kuala Lumpur: Sensors. Volume 15: 11432-11440
- Van Steenis, C. G.G.J. 1975. *Flora Voor de Scholen in Indonesie* Diterjemahkan oleh Sorjowinoto Edisi ke VI. Jakarta: Pradnya Paramitha
- Wang, Ying, Zhi-yang Sun, Kui-ming Zhang, Guo Kiang Xu, and Guang Li. 2011. *Bcl-2 in Suppressing Neuronal Apoptosis After Spinal Cord Injury*. Shanghai: World Journal of Emergency Medicine. Volume 2, Nomor 1: 38-44
- Wikata, Thamrin, Mahanie Rasyidin, Lestari Rahuyu, dan Asri Pratitis. 2012. *Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis dari Ekstrak Etil Asetat Ulvafasciata Delilele terhadap Sel CaSki dan Sel MCF-7*. Jakarta: JPB Perikanan. Volume 7, Nomor 2: 87-96
- Zarisman, S.Z. 2006. *Potensi Ilmu Nomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak sebagai Produk Substandar Secara In Vitro pada Sel Limfosit Manusia*. Skripsi. Bogor: IPB
- Zulharini, Melrizky S., Annishfia L.R, Siti Nurul Hidayah, dan Naisbitt Iman. 2013. *Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa) sebagai Antinefrotoksisitas "Dewa Penyelamat" dalam Penurunan Efek Samping Cisplatin*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

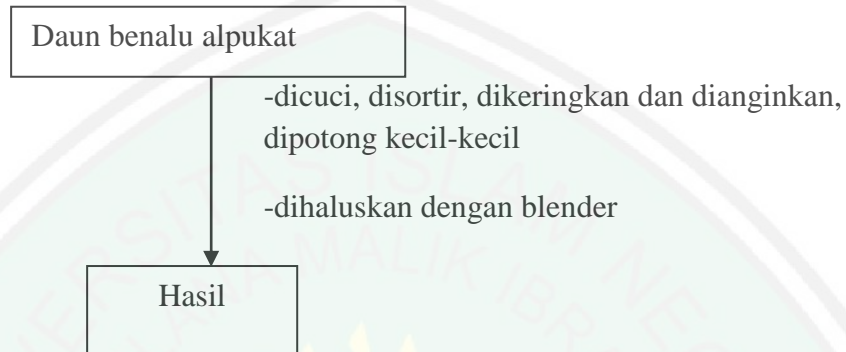
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

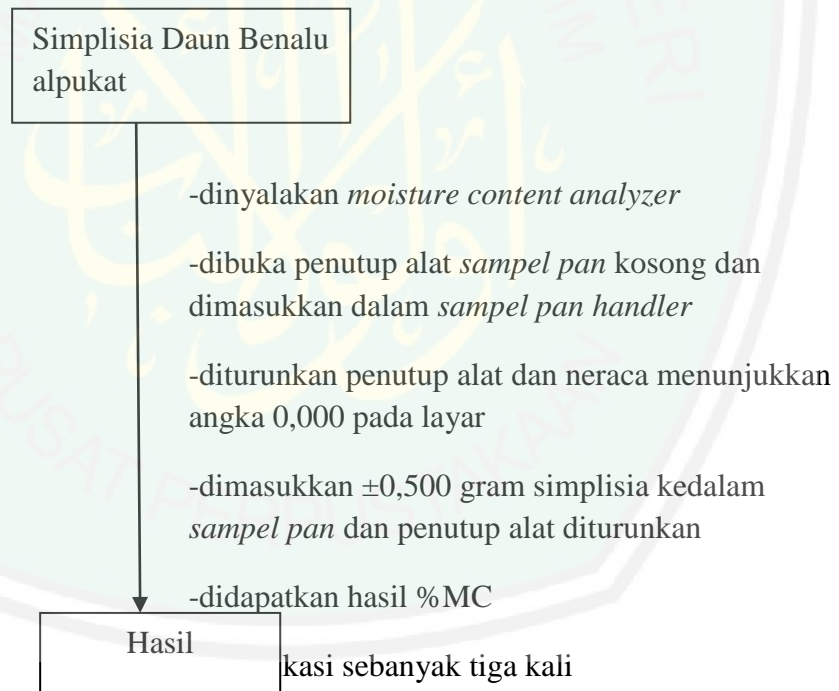


Lampiran 2. Skema Kerja

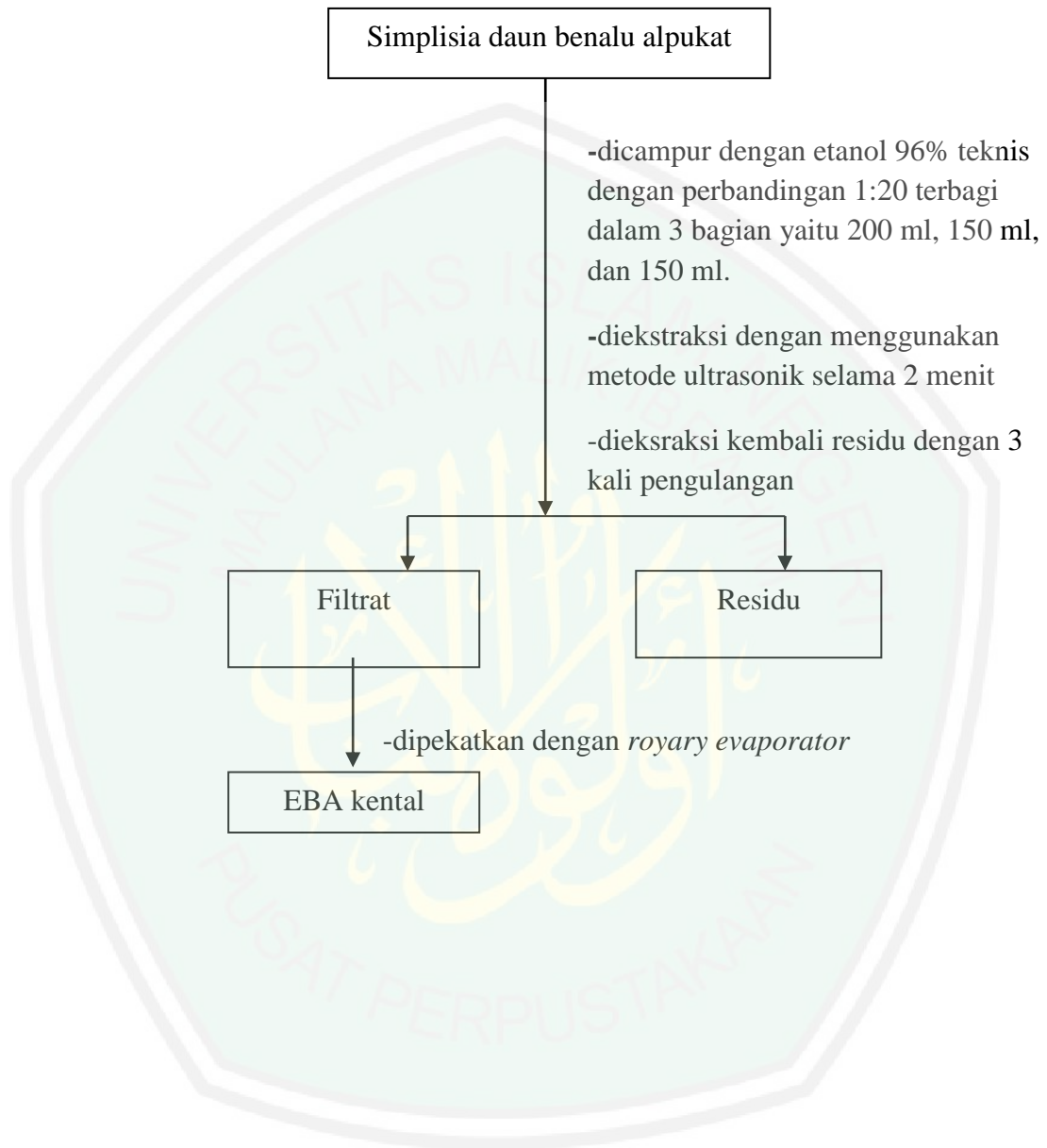
1.2.1 Pembuatan simplisa



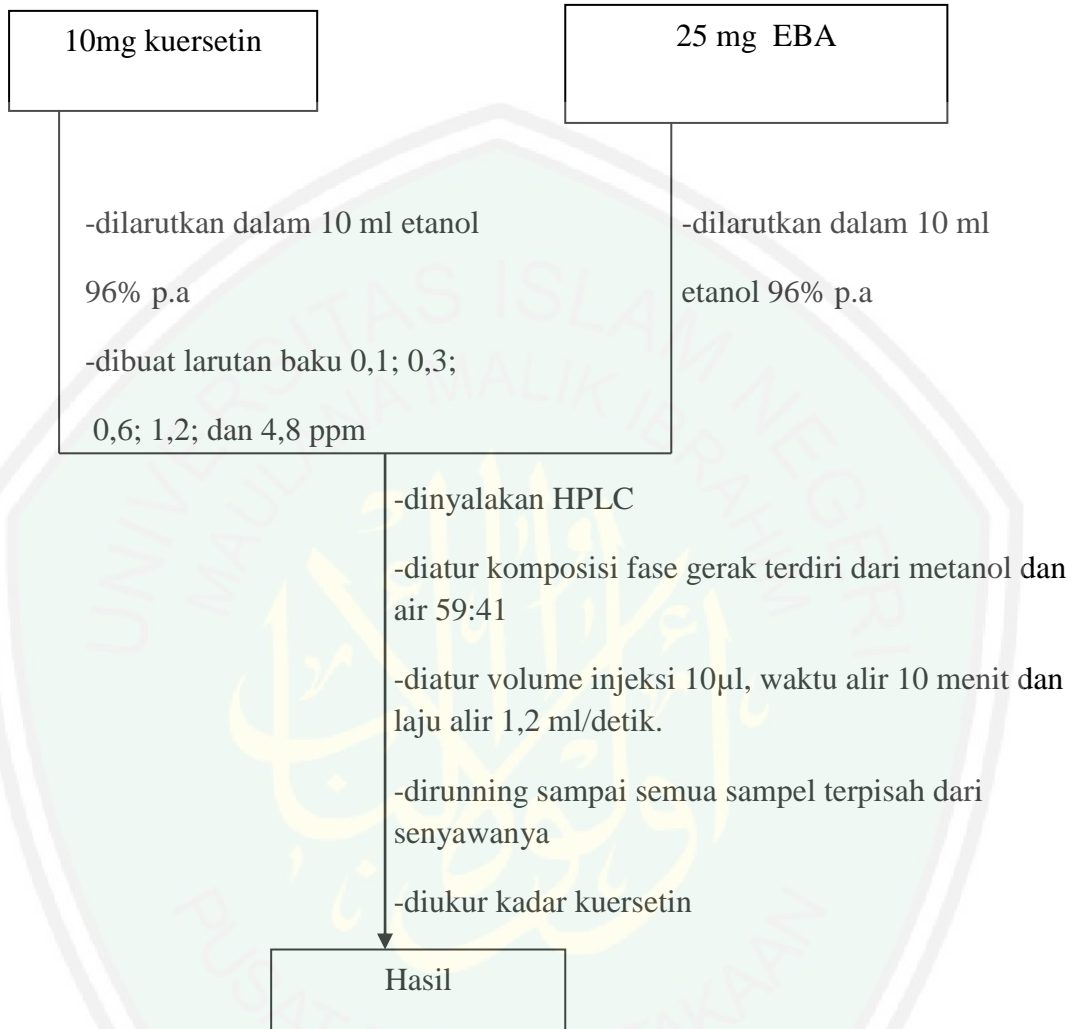
1.2.2 Analisa kadar air



1.2.3 Ekstraksi Serbuk Daun Benalu Alpukat

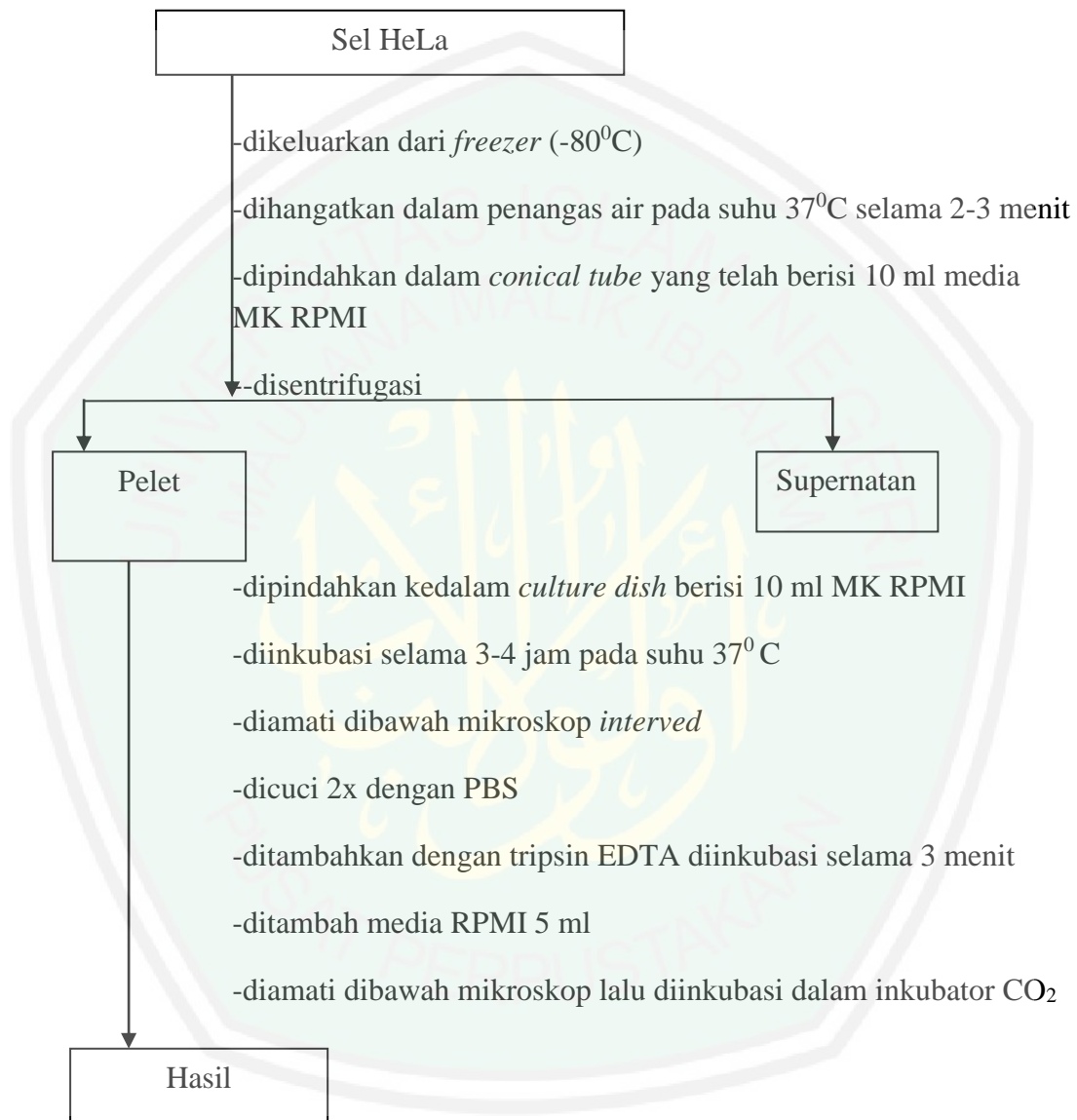


1.2.4 Analisis Kadar Kuersetin dengan HPLC

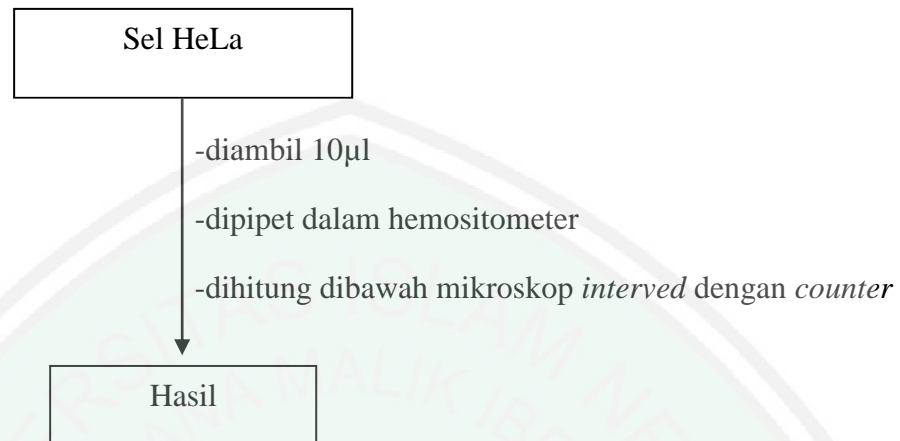


1.2.5 Uji Sitotoksik Metode MTT

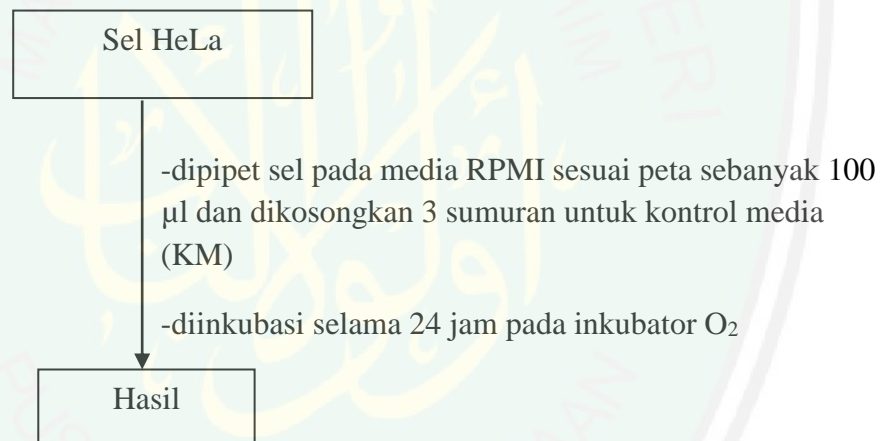
1.2.5.1 Penyiapan sel



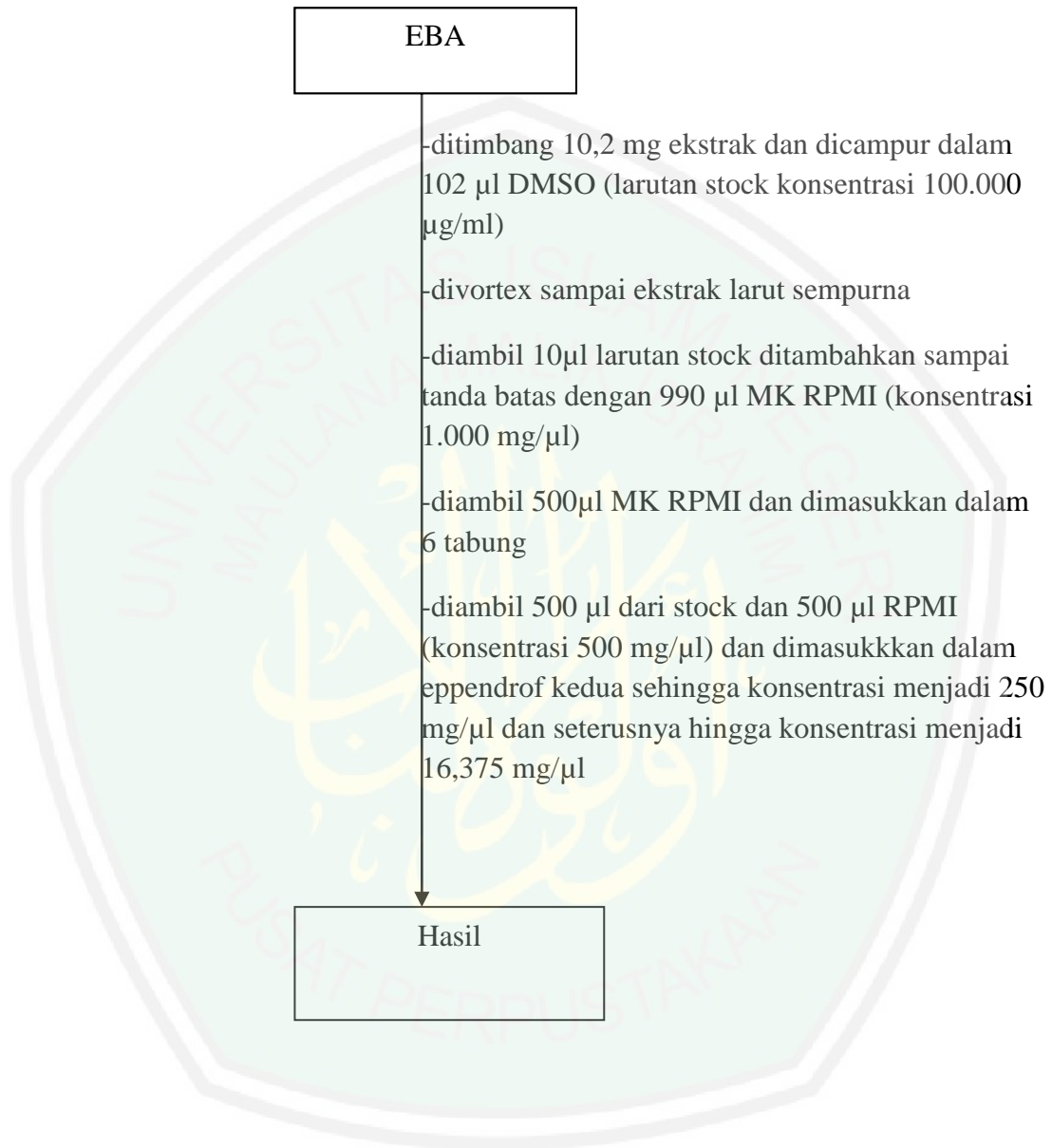
1.2.5.2 Perhitungan Sel HeLa

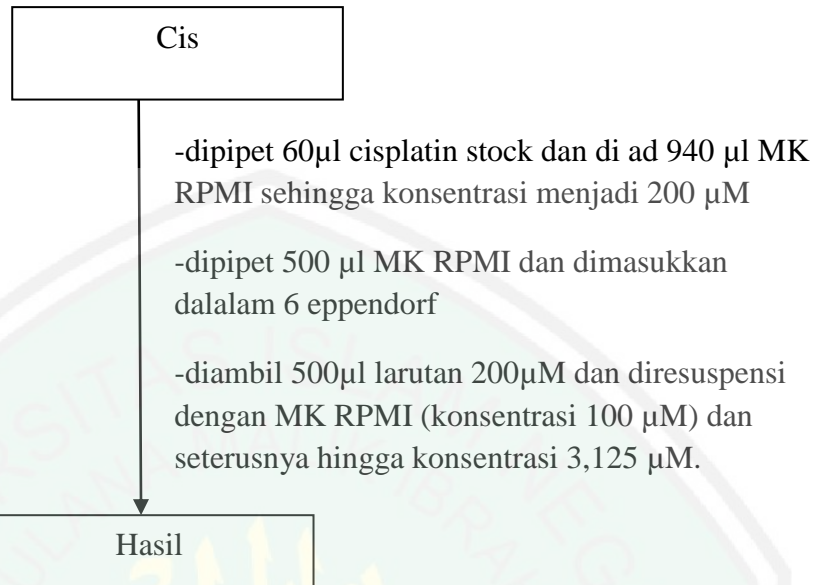


1.2.5.3 Peletakkan Sel HeLa pada *Plate*

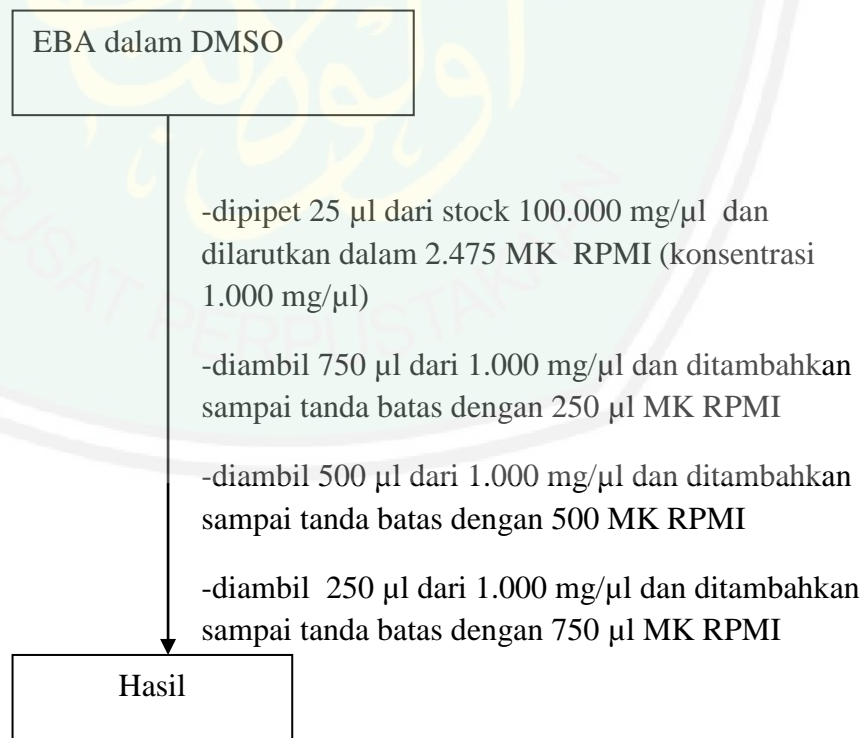


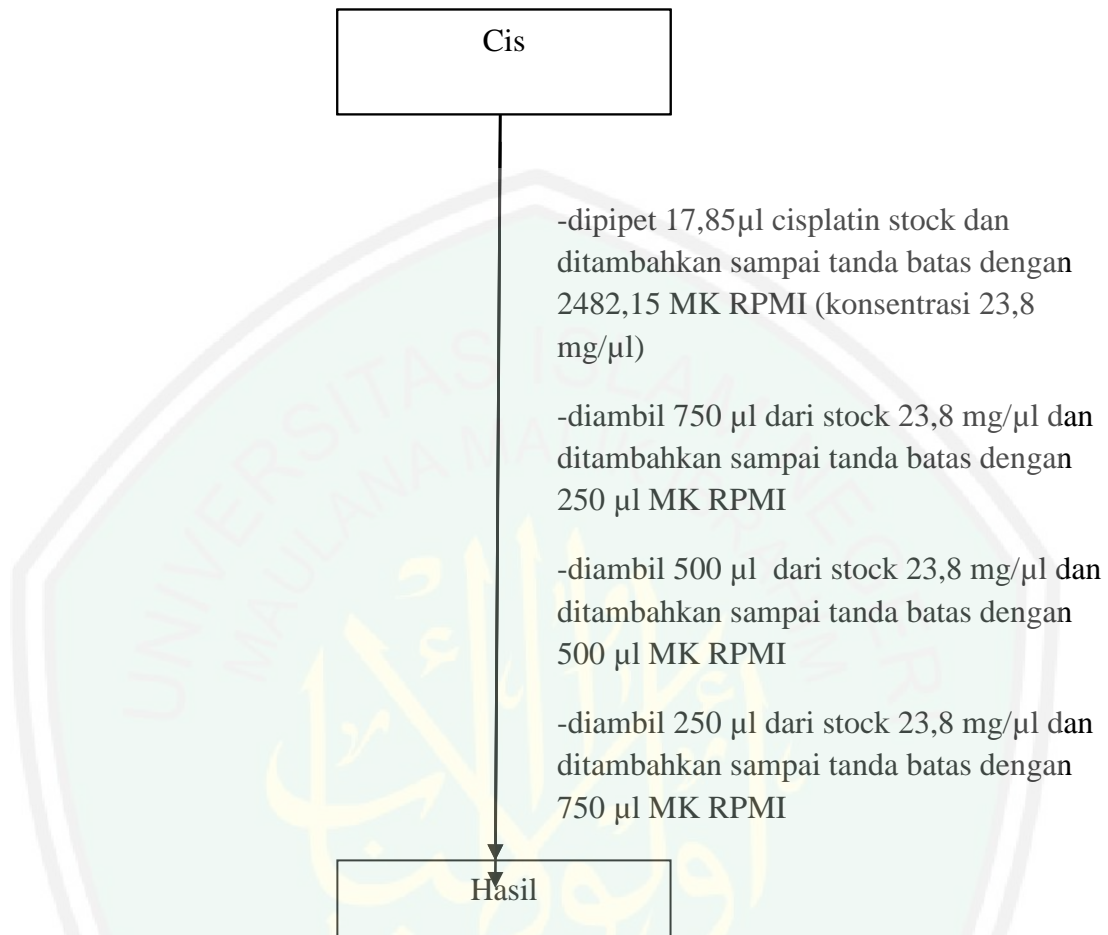
1.2.5.4 Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel dan Cisplatin Tunggal



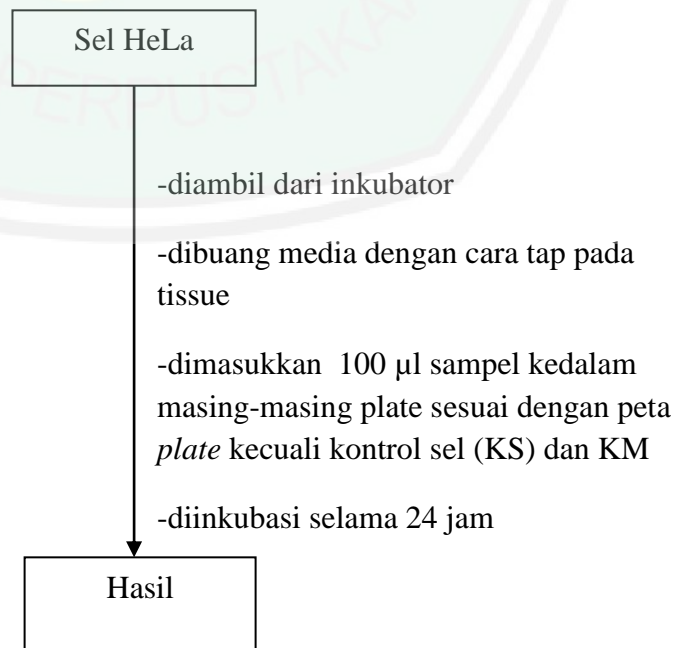


1.2.5.5 Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel dan Cisplatin Kombinasi





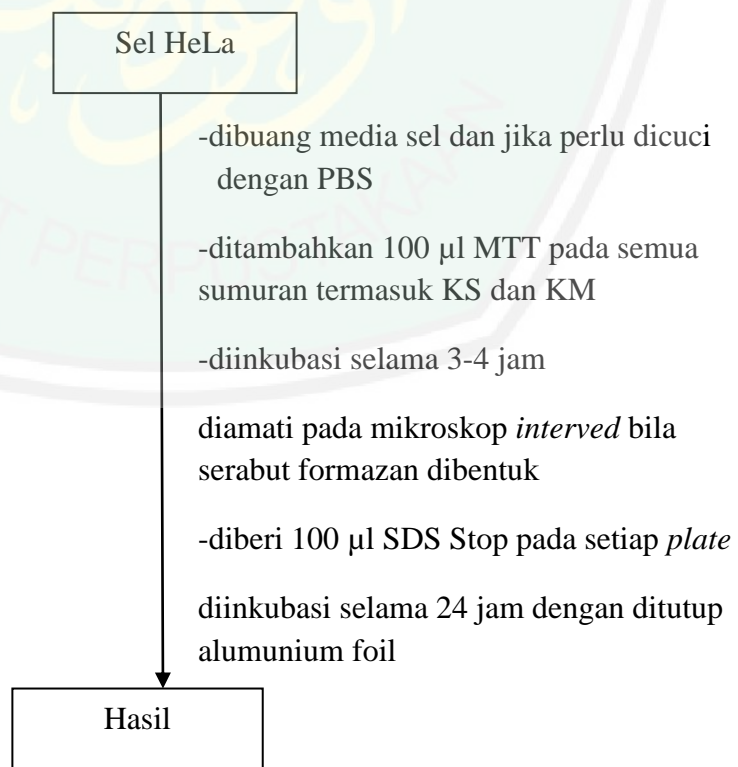
1.2.5.6 Penambahan Larutan Sampel pada Ekstrak dan Cisplatin Tunggal



1.2.5.7 Penambahan Larutan Sampel pada Ekstrak dan Cisplatin Kombinasi



1.2.5.8 Pemberian Larutan MTT



Lampiran 3. Perhitungan

1.3.1 Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

a. 1.000 ppm

$$\frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = \frac{x}{1000 \text{ ml}}$$

$$10x = 10 \times 1000$$

$$10x = 10.000$$

$$X = \frac{10.000}{10} = 1.000 \text{ ppm}$$

Cara membuatnya yaitu ditimbang 10 mg baku kuersetin dan ditambahkan sampai tanda batas dengan etanol 96% p.a sebanyak 10 ml lalu dihomogenkan

b. 100 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000} = 1 \text{ ml}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 1 ml dari larutan stock 1.000 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96 p.a dan dihomogenkan.

c. 0,1 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1}{100} = 0,01 \text{ ml} = 10 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 10 μl bakukuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan.

d. 0,3 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 0,3 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{3}{100} = 0,03 \text{ ml} = 30 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 30 μl bakukuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan.

e. 0,6 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 0,6 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{6}{100} = 0,06 \text{ ml} = 60 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 60 μl bakukuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan.

f. 1,2 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 1,2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{12}{100} = 0,12 \text{ ml} = 120 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 120 μl bakukuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan.

g. 2,4 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 2,4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{24}{100} = 0,24 \text{ ml} = 240 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 240 μl baku kuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan

h. 4,8 ppm

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

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 4,8 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{48}{100} = 0,48 \text{ ml} = 480 \mu\text{l}$$

Cara membuatnya yaitu diambil 480 μl bakukuersetin dari stock 100 ppm kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% p.a dan dihomogenkan.

1.3.2 Perhitungan Kadar Kuersetin

$$\frac{1,1625 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,116\%$$

$$\frac{0,116}{100} \times 25 \text{ mg} = 0,029 \text{ mg}$$

1.3.3 Pembuatan Reagen MTT

Dipipet 1.500 μl reagen MTT lalu ditambahkan MK RPMI sebanyak 15 ml.

1.3.4 Pembuatan Larutan Stock Ekstrak dengan Cisplatin Tunggal

a. Cisplatin

Diketahui:

BM Cisplatin $300,01 \text{ gr/mol}$

$$M = \frac{0,001}{300,01} \times \frac{1000}{v}$$

$$M = 3,333 \text{ mM} = 3333 \text{ } \mu\text{M}$$

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

$$V_1 \times 3333 \text{ } \mu\text{M} = 1.000 \text{ } \mu\text{l} \times 200 \text{ } \mu\text{M}$$

$$V_1 = \frac{200.000}{3333} = 60,006 \mu\text{l}$$

b. Ekstrak BA

$$\frac{10,2 \text{ mg}}{102 \mu\text{l}} = 100.000 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

a. 1.000 mg/ μl

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

$$V_1 \times 100.000 \text{ mg}/\mu\text{l} = 1.000 \mu\text{l} \times 1.000 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{1.000.000}{100.000} = 10 \mu\text{l}$$

Caranya diambil 10 μl dari stock 100.000 mg/ μl lalu ditambahkan 990 μl MK RPMI dan dihomogenkan.

1.3.5 Pembuatan Larutan Stock Ekstrak dengan Cisplatin Kombinasi

a. Cisplatin

Kombinasi	Dosis akhir (μM)	Dosis yang dibuat (μM)
$\frac{1}{2}$	11,9	23,8
$\frac{3}{8}$	8,925	17,85
$\frac{1}{4}$	5,95	11,9
$\frac{1}{8}$	2,975	5,95

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

$$V_1 \times 3333 \mu\text{M} = 2.500 \mu\text{l} \times 23,8 \mu\text{M}$$

$$V_1 = \frac{59.500}{3.333} = 17,85 \mu\text{l}$$

Cara pembuatan larutan kombinasi menghasilkan efek yang sinergis yaitu kombinasi 125 ppm EBA + 2,974 μM Cis, 125 ppm EBA + 5,95 Cis, 125 ppm EBA + 8,925 Cis μM , 250 ppm EBA + 2,97 Cis μM , 250 ppm EBA + 5,95 μM Cis, 375 ppm EBA dengan 8,295 Cis μM . dipipet sebanyak 17,85 μl dan ditambah 2.482,15 μl MK RPMI kemudian dihomogenkan.

b. EBA

Kombinasi	Dosis akhir $\mu\text{g/ml}$	Dosis yang dibuat $\mu\text{g/ml}$
$\frac{1}{2}$	500	1.000
$\frac{3}{8}$	375	750
$\frac{1}{4}$	250	500
$\frac{1}{8}$	125	250

$$\frac{10,2 \text{ mg}}{102 \mu\text{l}} = 100.000 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

a. 1.000 mg/μl

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

$$V_1 \times 100.000 \text{ mg}/\mu\text{l} = 1.000 \mu\text{l} \times 1.000 \text{ mg}/\mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{1.000.000}{100.000} = 10 \mu\text{l}$$

Caranya diambil 10 μl dari stock 100.000 mg/μl lalu ditambahkan 990 μl MK RPMI dan dihomogenkan.

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air

No	Replikasi	Hasil
1.	Replikasi pertama	9,07%
2.	Replikasi kedua	9,23%
3.	Relikasi ketiga	8,70%
Rata-Rata		9%±0,271846

Lampiran 5. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak

Berat wadah (gram)	Berat wadah dengan ekstrak pekat (gram)	Berat Ekstrak Pekat (gram)
45,5381	48,6012	3,0631

Simplisia dan Etanol yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna Ekstrak pekat	Berat Ekstrak pekat (gram)	% Rendemen (b/b)
50 gram dengan etanol 1 liter	Hijau daun	Hijau tua	3,0631	6,1342

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat cawan ekstrak} - \text{berat cawan kosong}}{\text{jumlah simplisia}} \times 100\% = 6,1342\%$$

Lampiran 6. Hasil Analisis Uji Kadar Kuersetin dengan HPLC

$$\text{Persamaan } y = 0,470x + 0,201$$

$$R^2 = 0,934$$

Kadar (ppm)	Luas Area
0,6	0,2067
1,2	0,9765
2,4	1,5071
4,8	2,583

Lampiran 7. Perhitungan Data Uji Sitotoksik Kombinasi Benalu Alpukat dengan Cisplatin

Lampiran 7.1 Perhitungan Konsetrasi Sel

Kamar A= 227

Kamar B= 228

Kamar C= 179

Kamar D= 262

Σ sel yang dihitung=

$$\frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 = 224 \times 10^4$$

$$\Sigma \text{ sel yang diambil} = \frac{100 \times 10.0000}{2.240.000} = 0,4464 \text{ ml}$$

Pemanenan sel dilakukan dengan cara diambil 0,4464 ml sel HeLa kemudian ditambahkan MK RPMI, lalu ditransfer kedalam *well* sebanyak 100 μ l/ *well*.

Lampiran 7.2 Perhitungan IC₅₀ tunggal BA dan cisplatin dengan *Microsoft Excel*

Presentase sel hidup =

$$\frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100 \%$$

Kontrol sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
0,415	0,431	0,419	0,4217±0,0083

Kontrol media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
0,074	0,069	0,069	0,07067±0,0026

Ekstrak Benalu Alpukat

Konsentrasi μg/ml	Absorbansi			Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1000	0,296	0,196	0,265	0,25233
500	0,288	0,359	0,379	0,342
250	0,427	0,471	0,452	0,45
125	0,487	0,475	0,318	0,42667
62,5	0,502	0,43	0,473	0,46833
31,25	0,468	0,478	0,457	0,46767
15,625	0,442	0,441	0,464	0,499

Rata-Rata % Viabilitas sel hidup

a. Konsentrasi 1000μg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,25333 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 51,756885\%$$

b. Konsentrasi 500μg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,342 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 77,302944\%$$

c. Konsentrasi 250 μ g/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,45 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 108,07217 \%$$

d. Konsentrasi 125 μ g/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,42667 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 101,4245 \%$$

e. Konsentrasi 62,5 μ g/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,46833 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 113,29535 \%$$

d. Konsentrasi 31,25 μ g/ml

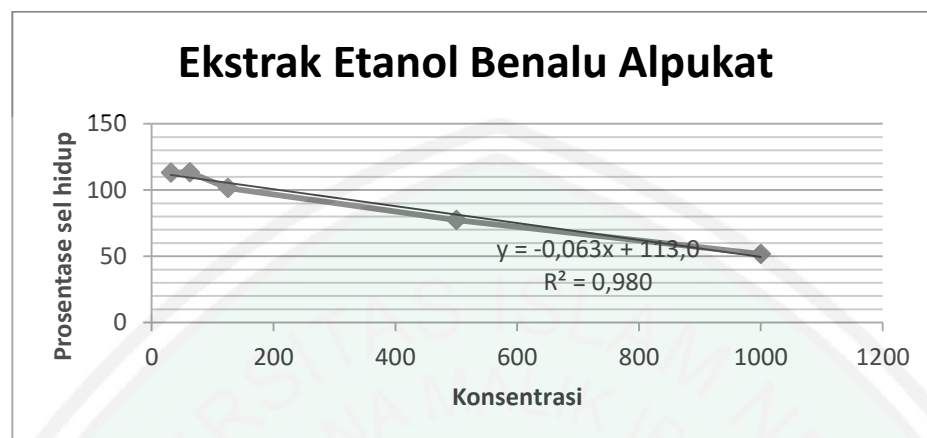
$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,46767 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 113,10541 \%$$

d. Konsentrasi 15,625 μ g/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,449 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 107,78727 \%$$

Konsentrasi μ g/ml	Rata-Rata Persentase Viabilitas sel hidup (%)
1000	51,756885
500	77,302944
125	101,4245
62,5	113,29535
31,25	113,10541

Dihitung persamaan regresi



Dihitung IC₅₀ dari persamaan regresi

$$IC_{50} = \frac{50 - 113,0}{-0,063} = 1.000 \mu\text{g/ml} \pm 124,61$$

Cisplatin

Konsentrasi mg/μl	Absorbansi			Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
200	0,184	0,149	0,218	0,18367
100	0,156	0,169	0,162	0,16233
50	0,188	0,175	0,179	0,18067
25	0,288	0,243	0,212	0,24767
12,5	0,33	0,268	0,263	0,287
6,25	0,311	0,343	0,356	0,33667
3,125	0,385	0,366	0,378	0,37633

Rata-Rata % Viabilitas sel hidup

a. Konsentrasi 200 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,183667 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 32,192732 \%$$

b. Konsentrasi 100 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,16233 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 26,115859 \%$$

c. Konsentrasi 50 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,18067 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 31,339031 \%$$

d. Konsentrasi 25 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,24767 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 50,42735 \%$$

e. Konsentrasi 12,5 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,287 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 61,633428 \%$$

f. Konsentrasi 6,25 µg/ml

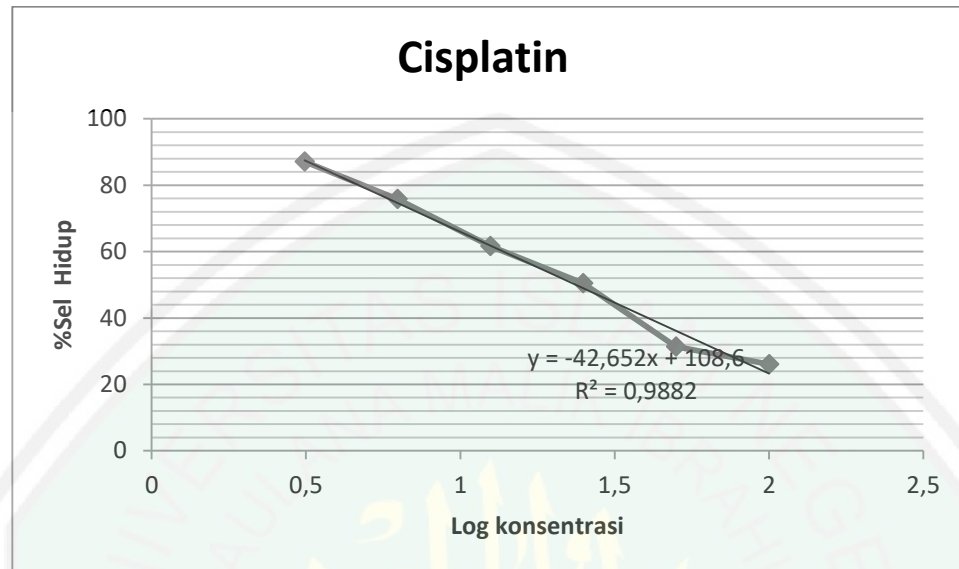
$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,33667 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 75,783476 \%$$

g. Konsentrasi 3,125 µg/ml

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{0,37633 - 0,07067}{0,4217 - 0,07067} \times 100\% = 87,08452\%$$

Log Konsentrasi (µM)	Rata-Rata Viabilitas sel hidup (%)
2	26,115859
1,69897	31,339031
1,39794	50,42735
1,09691	61,633428
0,79588	75,783476
0,49485	87,08452

Dihitung persamaan regresi



$$\text{Dihitung IC}_{50} = \frac{50 - 108,6}{-42,65} = 1,376879699$$

$$\text{Antilog} = 23,8165965 \mu\text{M}$$

Lampiran 7.2 Perhitungan IC₅₀ Kombinasi BA dengan Cisplatin menggunakan microsoft excel

Presentase sel hidup =

$$\frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100 \%$$

Kontrol sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
0,979	0,885	0,863	0,909±0,06161

Kontrol media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
0,078	0,08	0,094	0,084±0,008178

Dosis Kombinasi Tunggal Ekstrak BA

Konsentrasi (µg/ml)	% Viabilitas sel hidup			Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
125	74,42	80,24	86,67	80,44
250	88,73	86,67	85,21	86,87
375	82,30	74,79	83,76	80,28
500	89,33	93,94	88,24	90,51

Dosis Kombinasi Tunggal Cisplatin

Konsentrasi (µM)	% Viabilitas sel hidup			Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
2,975	80,97	85,45	92,61	86,34
5,95	79,76	95,15	93,70	89,54
8,925	86,91	95,64	86,91	89,82
11,9	93,45	98,91	90,91	94,42

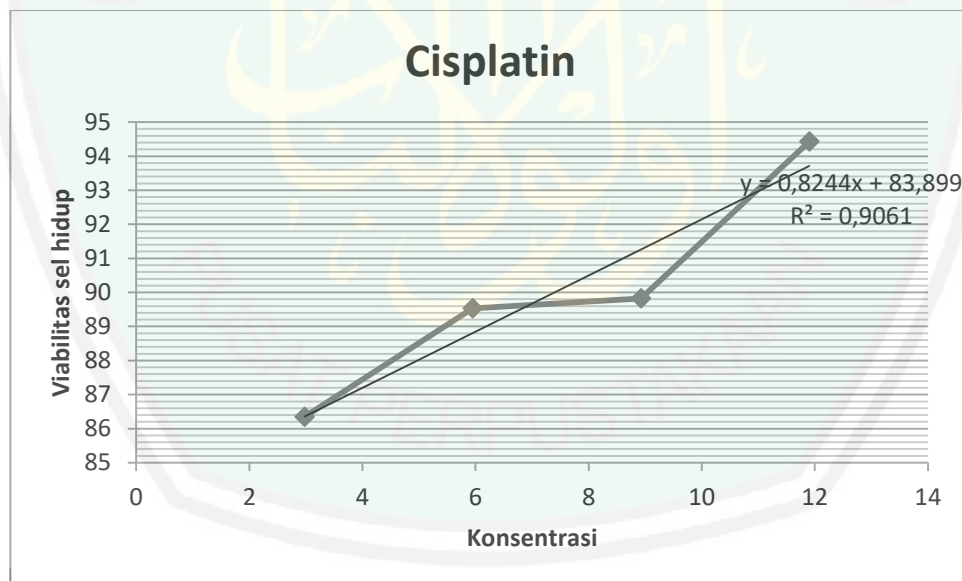
% Viabilitas Kombinasi

No.	Kombinasi		% Viabilitas sel hidup
	BA	Cisplatin	
1.	125	2,974	93,62
2.	125	5,95	92,85
3.	125	8,925	97,70
4.	125	11,9	89,86
5.	250	2,974	94,63
6.	250	5,95	104,85
7.	250	8,925	88,16
8.	250	11,9	89,66
9.	375	2,974	84,53
10.	375	5,95	83,96
11.	375	8,925	92,36
12.	375	11,9	84,61
13.	500	2,974	78,87
14.	500	5,95	83,03
15.	500	8,925	71,76
16.	500	11,9	82,22

Perhitungan pada aplikasi tunggal

Perhitungan Regresi Cisplatin

Konsentrasi (μM)	Viabilitas sel Hidup (%)
11,9	94,42424
8,925	89,81818
5,95	89,53535
2,974	86,34343



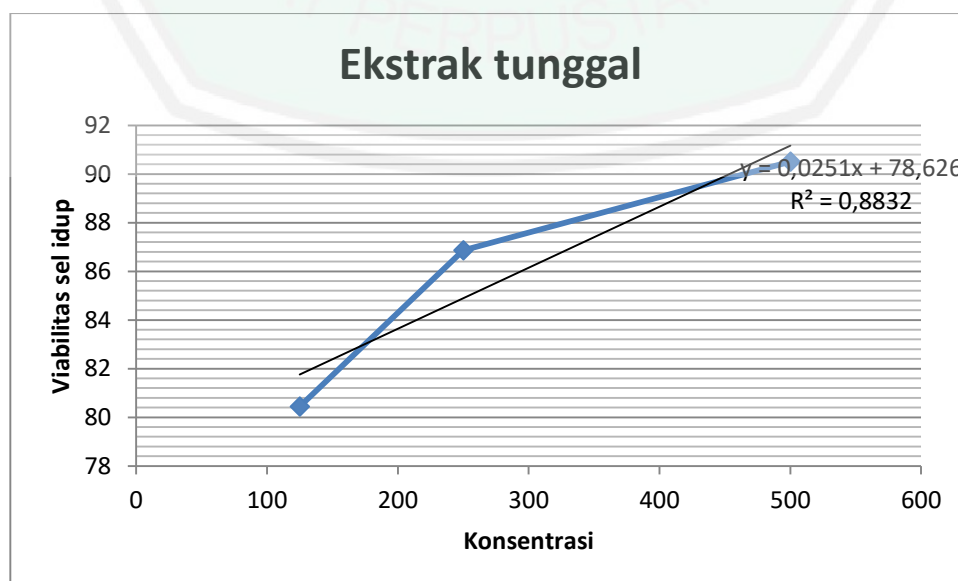
$$y = 0,824x + 83,89$$

$$R^2 = 0,906$$

Cis	2,974	5,95	8,925	11,9
125	11,8	10,87	16,76	7,24
250	13,03	25,44	5,18	7,00
375	0,77	0,08	10,28	-6,34
500	-6,09	-1,04	-14,72	-9,23

Perhitungan persamaan regresi ekstrak BA

Konsentrasi	% Viabilitas sel Hidup
500	90,50505
250	86,86869
125	80,44444



$$y = 0,025x + 78,62$$

$$R^2=0,883$$

BA	2,974	5,95	8,925	11,9
125	599,85	569,14	763,08	449,54
250	640,25	1049,14	381,66	441,46
375	236,21	213,58	549,75	239,44
500	9,95	176,41	-274,5	144,09

Perhitungan CI per titik

BA	Cisplatin			
	2,974	5,95	8,925	11,9
125	0,46	0,77	0,7	1,92
250	0,62	0,47	2,38	2,27
375	5,47	72,70	1,55	0,31
500	49,78	2,87	2,43	2,18

Hasil Uji Korelasi Konsentrasi Ekstrak BA, Cis, dan CI dengan SPSS

Correlations

		EBA	CIS	VIABILITY
EBA	Pearson Correlation	1	.000	-.750**
	Sig. (2-tailed)		1.000	.001
	N	16	16	16
CIS	Pearson Correlation	.000	1	-.111
	Sig. (2-tailed)	1.000		.681
	N	16	16	16
VIABILITY	Pearson Correlation	-.750**	-.111	1
	Sig. (2-tailed)	.001	.681	
	N	16	16	16

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian

1.8.1 Analisis Kadar Air dengan *Moisture Content Analyzer*



Penimbangan simplisia

Ulangan pertama



Ulangan kedua

Ulangan ketiga

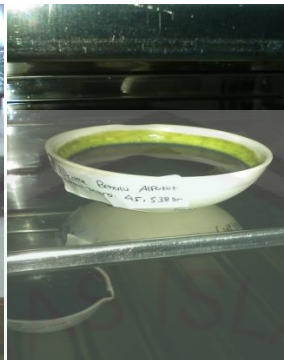
1.8.2 Proses Ekstraksi Simplisia daun Benalu Alpukat



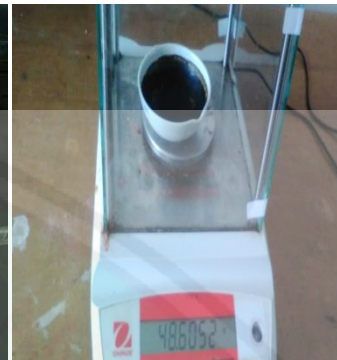
Penimbangan simplisia



Sonikator



Penimbangan cawan kosong



Filtrasi ekstrak

Pengovenan ekstrak

Ekstrak kental

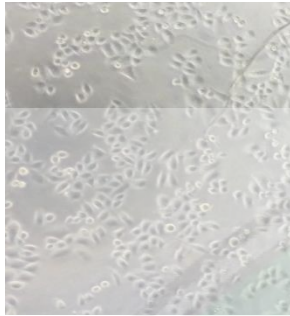
1.8.3 Analisis Kadar Kuersetin dengan HPLC



Larutan baku kuersetin

Preparasi ekstrak analisis HPLC

1.8.4 Uji Sitotoksik Kombinasi metode MTT



Sel HeLa (Sel Kanker Serviks)



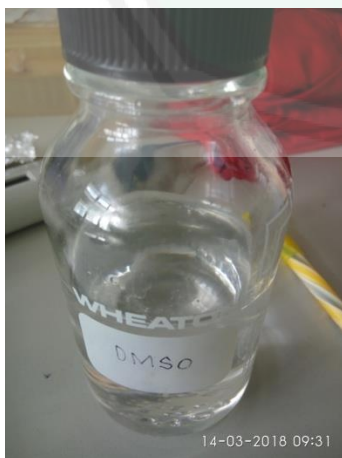
Penimbangan ekstrak untuk MTT



MK RPMI



Plate kombinasi setelah MTT



Pelarut DMSO

Well	1	2	3	4	5	6
1	0.751	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
2	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
3	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
4	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
5	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
6	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
7	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
8	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
9	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
10	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
11	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750
12	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750

Hasil microplate reader



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

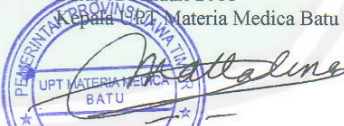
Nomor : 074/01A/102.7/2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Benalu Alpukat**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : PRASASTI SWARA NURANI
 NIM : 14670005
 Fakultas : JURUSAN FARMASI, FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman benalu alpukat
 - Divisi : Spermatophyta
 - Sub divisi : Angiospermae
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Santalales
 - Suku : Loranthaceae
 - Marga : Dendrothoe
 - Jenis : *Dendrothoe pentandra* (L) Miq.
 - Nama Daerah : Pasilan, mangandeh, kemadean, kemladean.
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243a-1b-2b-3a.
2. Morfologi : Semak bercabang, sebagai parasit obligat, tinggi sampai 1 m. Daun tersebar bertangkai pendek, berbentuk lanset atau bulat memanjang, tebal dan rapuh. Karangan bunga dalam ketiak atau terkumpul lebih dari satu ruas, bunga 2-20, tangkai pendek, bentuk tabung, kelopak silindris sampai bentuk mangkuk, mahkota persegi 5 warna kuning sampai oranye. Kepala putih bentuk tombol tumpul. Buah bentuk telur, panjang sampai 1 cm, warna kuning oranye.
3. Nama Simplisia : *Dendrothoe pentandrae* Folium/ Daun benalu alpukat.
4. Kandungan : Benalu mengandung senyawa flavonoid, yaitu kuersetin, meso-inositol, rutin, dan tanin. Ranting dan daunnya mengandung *glucoside quercitrin* dan *mellissyl alcohol*.
5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/kemladean>, diakses tanggal 3 Mei 2007.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

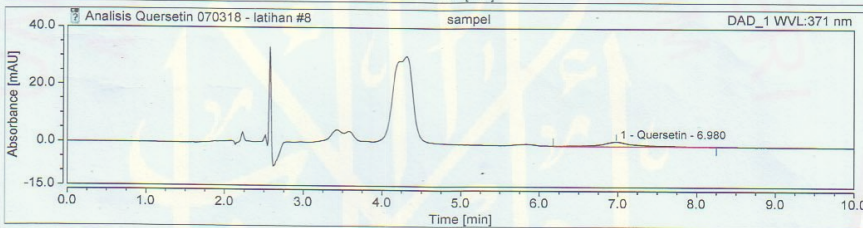
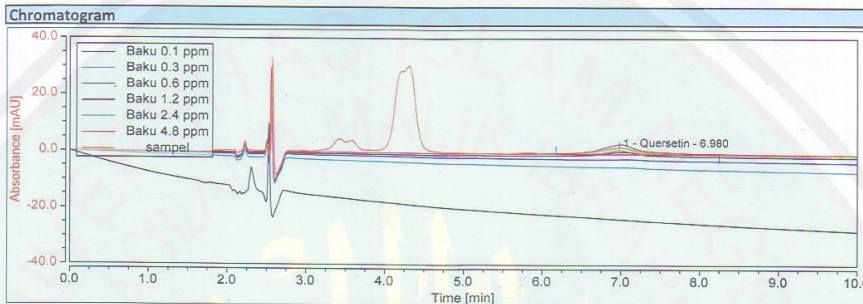
Bat, 02 Januari 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 UPT MATERIA MEDICA BATU
 Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
 NIP. 196111021991031003



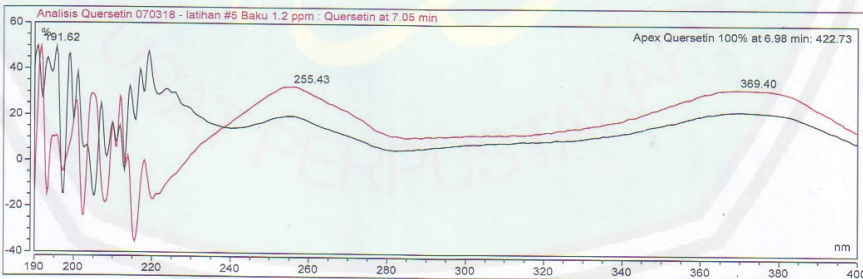
LABORATORIUM INSTRUMENTASI FARMASI
 FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN (FKIK)
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM - MALANG

Chromatogram and Results

Injection Details		
Injection Name:	sampel	Run Time (min): 10.00
Vial Number:	GA8	Injection Volume: 10.00
Injection Type:	Unknown	Channel: DAD_1
Calibration Level:		Wavelength: 371
Instrument Method:	Analisis Simplitisia 2	Bandwidth: 4
Processing Method:	Analisis Quersetin	Dilution Factor: 1.0000
Injection Date/Time:	08/Mar/18 14:56	Sample Weight: 1.0000



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1	Quersetin	6.980	0.736	1.525	100.00	100.00	1.1625
Total:			0.736	1.525	100.00	100.00	



PRINTOUT FARMASI/Integration

Chromeleon (c) Dionex
 Version 7.2.5.9507

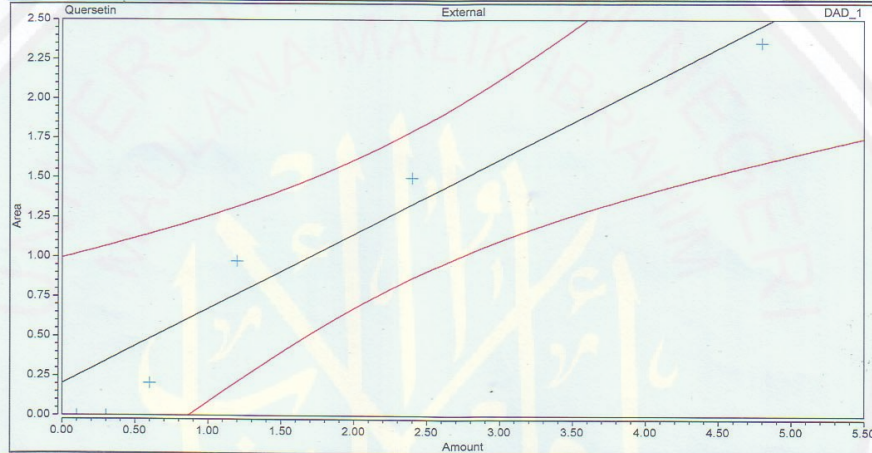


**LABORATORIUM INSTRUMENTASI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN (FKIK)
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM - MALANG**

Calibration

Calibration Details		Quersetin	
Calibration Type	Lin, WithOffset	Offset (C0)	0.2015
Evaluation Type	Area	Slope (C1)	0.4708
Number of Calibration Points	4	Curve (C2)	0.0000
Number of disabled Calibration Points	0	R-Square	0.9346

Calibration Plot



Calibration Results

Calibration Results		Quersetin					
No.	Injection Name	Calibration Level	X Value	Y Value	Y Value	Area mAU*min	Height mAU
			DAD_1 Quersetin	DAD_1 Quersetin	DAD_1 Quersetin	DAD_1 Quersetin	DAD_1 Quersetin
2	Baku 0.1 ppm	1	0.1000	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
3	Baku 0.3 ppm	2	0.3000	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4	Baku 0.6 ppm	3	0.6000	0.2067	0.2067	0.207	0.342
5	Baku 1.2 ppm	4	1.2000	0.9765	0.9765	0.976	1.534
6	Baku 2.4 ppm	5	2.4000	1.5017	1.5017	1.502	2.230
7	Baku 4.8 ppm	6	4.8000	2.3583	2.3583	2.358	3.507



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

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/126/M/04/03/04.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : PRASASTI SWARA NURANI
 Instansi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
 Malang
 NIM. : 14670005

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

“UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN BENALU
 ALPUKAT (*Dendrophoe petandra* (L) Miq) DENGAN CISPLATIN PADA SEL
 KANKER SERVIKS HeLa”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
 Waktu Penelitian: 13 Maret 2018 sampai dengan 23 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, 2 April 2018

Kepala,

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



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

Nomor : UGM/KU/Prst/164/M/05/07/03.18
Hal : Ijin Penelitian.

15 Maret 2018

Kepada Yth.
PRASASTI SWARA NURANI
NIM: 14670005
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

Dengan hormat,
Menanggapi surat saudara tertanggal 12 Maret 2018 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“UJI SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN BENALU ALPUKAT (*Dendrothoe petandra* (L) Miq) DENGAN CISPLATIN PADA SEL KANKER SERVIKS HeLa”

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

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

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Kepala,


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

Tembusan Yth. :

1. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
2. Juanna Nursanthi
3. Arsip

Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281
Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkgm@yahoo.com

Heja ^{Esok + Capitan}
Tunsoi

Absorbance Report
Sinsle Wavelensth
Mes= F3, 595nm
Incubation= OFF

Blank Mean 0.000
Std. Dev. 0.000

	1	2	3
A	0.769	0.748	0.792
B	0.800	0.820	0.802
C	0.571	0.727	0.779
D	0.637	0.675	0.772
E	0.628	0.564	0.609
F	0.548	0.592	0.710
G	0.629	0.578	0.637
H	0.478	0.512	0.501

	4	5	6
A	0.847	0.809	0.832
B	0.842	0.833	0.946
C	0.827	0.824	0.894
D	0.763	0.780	0.826
E	0.774	0.767	0.869
F	0.774	0.589	0.710
G	0.618	0.793	0.827
H	0.490	0.643	0.442

	7	8	9
A	0.684	0.736	0.496
B	0.748	0.728	0.611
C	0.788	0.874	0.787
D	0.866	0.854	0.890
E	0.069	1.036	0.797
F	0.067	0.095	0.071
G	0.068	0.030	0.029
H	0.034	0.026	0.032

	10	11	12
A	0.511	0.370	0.258
B	0.752	0.114	0.072
C	0.804	0.721	0.520
D	0.785	0.638	0.513
E	0.701	0.031	0.028
F	0.073	0.034	0.037
G	0.033	0.030	0.030
H	0.028	0.027	0.029

Absorbance Report
Sinsle Wavelensth
Mes= F3, 595nm
Incubation= OFF

Blank Mean 0.000
Std. Dev. 0.000

	1	2	3
A	0.018	0.296	0.196
B	0.031	0.288	0.359
C	0.032	0.427	0.471
D	0.032	0.487	0.475
E	0.033	0.502	0.430
F	0.033	0.468	0.478
G	0.031	0.442	0.441
H	0.025	0.415	0.431

	4	5	6
A	0.265	0.031	0.184
B	0.379	0.036	0.156
C	0.452	0.032	0.188
D	0.318	0.030	0.228
E	0.473	0.030	0.330
F	0.457	0.035	0.311
G	0.464	0.033	0.385
H	0.419	0.031	0.074

	7	8	9
A	0.149	0.218	0.024
B	0.169	0.162	0.034
C	0.175	0.179	0.036
D	0.243	0.212	0.039
E	0.268	0.263	0.033
F	0.343	0.356	0.031
G	0.366	0.378	0.029
H	0.069	0.069	0.032

	10	11	12
A	0.031	0.030	0.033
B	0.034	0.033	0.032
C	0.032	0.032	0.034
D	0.029	0.031	0.033
E	0.030	0.030	0.031
F	0.035	0.034	0.035
G	0.032	0.033	0.032
H	0.030	0.029	0.031

Kombinasi

Absorbance Report
Sinsle Wavelensth
Mes= F3, 595nm
Incubation= OFF


Blank Mean 0.000
Std. Dev. 1.120

	1	2	3
A	0.781	0.738	0.768
B	0.542	0.694	0.792
C	0.769	0.775	0.763
D	0.715	0.743	0.746
E	0.821	0.859	0.812
F	0.763	0.701	0.775
G	0.816	0.799	0.787
H	0.698	0.746	0.799

	4	5	6
A	0.774	0.790	0.782
B	0.801	0.870	0.867
C	0.770	0.790	0.770
D	0.762	0.791	0.791
E	0.855	0.900	0.834
F	0.801	0.873	0.801
G	0.742	0.869	0.857
H	0.752	0.789	0.848

	7	8	9
A	0.855	0.817	0.799
B	0.814	0.801	0.819
C	0.867	1.121	0.859
D	0.846	0.853	0.895
E	0.833	0.979	0.885
F	0.026	0.078	0.080
G	0.030	0.029	0.031
H	0.033	0.033	0.032

	10	11	12
A	0.859	0.839	0.778
B	0.883	0.904	0.883
C	0.870	0.844	0.836
D	0.843	0.907	0.819
E	0.863	0.838	0.834
F	0.094	0.039	0.038
G	0.035	0.036	0.036
H	0.030	0.043	0.033

	<p style="text-align: center;">FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</p> <p style="text-align: center;">Gedung Klinik UMMI It 2 Jalan Cajayana No. 50, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p>
	<p style="text-align: center;">KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 005/EC/KEPK-FKIK/2018</p>

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 Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Ethanol 96% Benalu Alpukat (*Dendrothone ptandra (L)*) Miq dengan Cisplatin pada sel Kanker Servik HeLa

Sub Judul Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Ethanol 96% Benalu Alpukat (*Dendrothone ptandra (L)*) Miq dengan Cisplatin pada sel Kanker Servik HeLa

Peneliti Prasasti Swara Nurani
 drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort

Unit / Lembaga Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

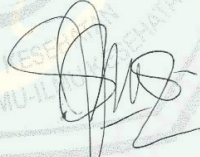
Tempat Penelitian Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM
 Laboratorium Farmasi UGM

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

Mengetahui,
 Dekan FKIK-UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Malang,
 Ketua


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


 dr. Avin Amur 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).